

В. И. Говалло

ИММУНОЛОГИЯ  
РЕПРОДУКЦИИ

В. И. Говалло

# ИММУНОЛОГИЯ РЕПРОДУКЦИИ



Москва  
„Медицина“  
1987

616.013.11/2

ББК 52.5  
Г 57  
УДК 612.6.017.1

180307

Уз. С.Р. ғар. тилида  
Медицинский институт  
Библиотечка

Рецензенты:

Н. В. СТРИЖОВА, проф.,  
И. Н. ГОЛОВИСТИКОВ, д. б. н.

ADTI  
AXB. REZERS MARKAZI  
7371

IMMUNOLOGY OF REPRODUCTION  
By V. I. Govallo

M.: Meditsina, 1987, 304 pp., ill.  
Readership: obstetricians, gynecologists, immunologists

The book: covers problems of reproduction — from gametogenesis to the neonate period. Characterizes immune status of the reproductive system, immunosuppressive effect in pregnancy and their connection with antigens of histocompatibility. Pathology of pregnancy is considered with due regard to advances in immunology.

Contents: Preface. Immune system. Immunobiology of spermatozooids. Immunobiology of the ovum. Local immunity of the reproductive tract. Immunobiology of the placenta. Suppressor immunity in pregnancy. Immunologic recognition by mother of fetus antigens. Immunobiology of lactation. Immunity of the newborn. Conclusion. References.

616.013.2 + 612.51

Говалло В. И.

Г 57 Иммунология репродукции. — М.: Медицина, 1987. — 304 с., ил.

В книге освещены вопросы репродукции — от гаметогенеза и до периода новорожденности. Охарактеризован иммунный статус репродуктивного аппарата, иммуносупрессорные воздействия при беременности и их связь с антигенами гистосовместимости и белками трофобласта. Патология беременности рассмотрена с учетом достижений иммунологии.

Книга предназначена для врачей-акушеров, гинекологов и иммунологов.

Г 4106000000—139 103—87 ББК 52.5  
039(01)—87

© Издательство «Медицина», Москва, 1987

## ПРЕДИСЛОВИЕ

Прогресс в области иммунологии, которым отмечены два последних десятилетия, привел к формированию новых направлений в биологии и медицине. Одним из них является иммунология репродукции, изучающая роль иммунных факторов и иммунологических механизмов в процессе полового размножения. И это связано не только с фундаментальной ролью иммунных механизмов в развитии большинства физиологических и патологических процессов. Беременность является уникальной моделью изучения становления иммунитета и естественного парабриоза между двумя генетически отличающимися организмами. При беременности можно проследить самый «экономный» иммунный ответ на наиболее близкие в филогенетическом отношении аллоантигены — дифференцировочные и антигены тканевой совместимости гамет и эмбриона. Именно беременность является удивительным примером гармонического сочетания распознавания иммунной системой чужих антигенов и естественного подавления деятельности эффекторных клеток, оказывающих обычно литическое действие на антиген.

Если иммунологические процессы стоят у истоков зарождения жизни, то в этом скрыта важная сторона биологического значения иммунитета в целом. Следовательно, можно проследить эволюцию не только защитных, но и созидательных, формообразующих процессов. Очевидны преимущества полового размножения перед бесполом — лучшее выживание и биологическое совершенство гетерозигот перед гомозиготами, не только в постнатальном, но и в эмбриональном периоде, сопровождающееся мобилизацией, а не устранением иммунологических реакций. При отсутствии выраженного антигенного полиморфизма гамет не происходит полноценного развития эмбриона, имплантации зародыша или даже оплодотворения. Различия сливающихся гамет начинают слаженное иммунологическое обеспече-

ние процесса размножения. Раннее развитие у эмбриона элементов иммунной системы указывает на то, что эта система находится в авангарде процессов гистогенеза и органогенеза. Это новое и не до конца изученное предназначение иммунитета, оберегающее главное биологическое достояние вида — способность к самовоспроизведению, может послужить основой для новых исследований.

Невосприимчивость организма к веществам иного генетического происхождения — только одна сторона иммунитета, исторически изученная раньше остальных. Еще недавно иммунология базировалась на том постулате, что иммунный ответ сопровождается элиминацией, устранением тех продуктов, по отношению к которым этот ответ сформировался. При этом проводилась четкая дискриминация между «своим» и «не своим». Новые теории иммунитета, в частности, идиотип-антиидиотипической регуляции, не отвергают такой формы ответа, но при этом допускают иммунологическое узнавание «своего». Узнавание может сопровождаться устранением, но может вести и к обратному процессу — к принятию, а не устранению. Иначе, реакции «на себя» и на «не себя» отличаются не принципиально, скорее всего это единая реакция. Центральная недостаточность иммунитета, из которой исходили начальные построения теории иммунологической толерантности, уступила место более гибким и сбалансированным формулировкам состояния активного иммунитета без реакций несовместимости. Большую роль в осознании этого сыграло изучение иммунологических взаимоотношений мать — плод.

Вполне возможно, что совершенствование иммунной системы у позвоночных животных явилось отражением развития процессов репродукции. Совершенствование течения беременности и развитие иммунной системы протекали параллельно в процессе эволюции [Говалло В. И., 1979]. При усложнении организмов развитие способов вынашивания потомства происходило в сторону уменьшения числа потомков, увеличения срока их вынашивания, развития внезародышевых органов, эволюции плаценты. Развитие иммунитета складывалось из все большей дифференцировки иммунокомпетентных клеток, их рецепторов и способов взаимодействия, согласования прямых и обратных (отрицательных) связей между составными элементами системы.

Разработка многих медицинских проблем (онкология, трансплантология, ревматология, аллергология и т. д.) зависит сейчас от решения иммунологических вопросов. В связи с этим можно надеяться, что тщательное изучение именно физиологической модели — беременности приблизит исследователей к пониманию того, каким биологическим путем можно избежать реакции отторжения или, наоборот, усилить ее, от чего зависит состояние локальной иммунологической привилегированности и как его устранить? Столетняя история иммунологии была связана с эффективным изучением антибактериального иммунитета и позже — иммунитета трансплантационного, в то время как феномены естественного или физиологического иммунитета были исследованы недостаточно. То же относится и к методам стимуляции или подавления (супрессии) иммунитета, которые преследовали цель решения ближайшей и достаточно драматической ситуации (лечение или профилактики инфекционного заболевания, предупреждения отторжения трансплантата). При всей их немедленной эффективности эти методы не исходят пока из физиологических закономерностей, а потому имеют ближайшие или последующие очевидные недостатки. Анализ иммунологических закономерностей при беременности может внести неопределимый вклад в практику рациональной иммунотерапии. Излишне говорить о том, что он необходим прежде всего для оказания действенной помощи при нередких формах акушерской патологии.

Вместе с тем не является оправданным отождествление плода с искусственно пересаженным аллотрансплантатом, а механизма родов — с моделью противоопухолевой терапии. Развитие аллогенного плода в утробе матери обеспечивается слаженной деятельностью гормонов репродуктивного назначения и одновременно иммуномодулирующего действия, а также факторов супрессорного иммунитета, которые обеспечивают сугубо локальный иммунологический комфорт плоду. Наконец, и эмбрион воздвигает вокруг себя иммунофильтрационные и детоксикационные приспособления, которые не могут иметь искусственных аналогов. Но проникновение в сущность физиологической модуляции иммунитета при беременности позволяет более правильно оценивать патологические реакции (так, еще недавно некоторые формы акушерской патологии неправильно считали результатом усиленного, а не ослабленного

иммунного ответа). Формулировка «иммунологический парадокс», часто применяемая по отношению к беременности, отражает лишь относительность и недостаточность существующих в настоящее время иммунологических представлений.

Иммунологические реакции в организме при беременности развиваются на основе биологических особенностей, присущих в этом состоянии организму в целом, а также отдельным органам и системам. Сюда входят не только эндокринные и метаболические сдвиги, но также характер цитодифференцировки гамет, лимфоидного аппарата матери, внезародышевых и эмбриональных образований. Тесная связь между биологической перестройкой и иммунологическим статусом при беременности определила необходимость совокупного анализа иммунобиологической природы многих процессов — от созревания гамет до периода новорожденности. Замечания по недостаткам и неизбежным упущениям в этом широком круге затронутых вопросов будут приняты нами с благодарным вниманием.

Иммунобиология репродукции за последние годы стала областью активного международного сотрудничества. В 1967 г. в Москве состоялся первый Международный симпозиум по данной проблеме. В дальнейшем (1974—1985 гг.) инициатором таких форумов была Академия наук Болгарской Народной Республики, где под руководством академика К. Братанова состоялся ряд Международных симпозиумов в Варне. Создана рабочая группа ВОЗ и международное общество по иммунологии репродукции (1975), три его съезда состоялись в Париже (1980), Кийото (1983) и Амстердаме (1985). Были проведены и два Всесоюзных симпозиума по иммунологии воспроизведения — в Новосибирске (1977) и в Москве (1981). Все это свидетельствует об актуальности проблемы и ее важности для решения многих вопросов: снижения материнской и детской смертности, коррекции осложненного течения беременности, регуляции численности особей в популяции, для неонатологии, трансплантологии, онкологии, лечения аутоиммунных расстройств и иммунодефицитов.

В главе I мы касаемся лишь тех общих иммунологических понятий и терминов, которые затем встречаются при изложении экспериментов и наблюдений, связанных с процессами репродукции. Не имея возможности излагать более подробно биологическую сущ-

ность и взаимосвязь всех иммунологических феноменов, мы отправляем читателя к монографиям и обзорам других авторов, содержащих необходимую и всестороннюю информацию: Р. В. Петров (1976, 1982); Б. Д. Брондз, О. В. Рохлин (1978); Р. В. Петров и соавт. (1981); В. А. Ляшенко, А. А. Воробьев (1982); Е. А. Зотиков (1982); Н. В. Медуницын (1983); Г. В. Пинчук и соавт. (1983); Ю. М. Зарецкая (1983).

Задача настоящей монографии состоит в том, чтобы обобщить результаты исследований последних лет и полученные ранее сведения по узловым вопросам иммунобиологии репродукции, ознакомить широкую читательскую аудиторию с современным состоянием этой быстро прогрессирующей области знаний и тем самым способствовать дальнейшему ее развитию.



## ГЛАВА I

### ИММУННАЯ СИСТЕМА

#### 1.1. Антигены тканевой совместимости

Все многоклеточные организмы обладают распознающими системами, которые способны отличать белки своего организма от чужого. Распознавание происходит на клеточной поверхности, где идет также широкий обмен ионов, метаболитов и биологических молекул. Одна такая система у позвоночных была изначально охарактеризована по способности отторгать кожный трансплантат и, в частности, у мышей она получила название H-системы (Histocompatibility — тканевая совместимость). У мышей отдельные продукты H-генов были исследованы с помощью антител (антисывороток), полученных от иммунизированных животных конгенных (отличающихся по одному H-гену) или рекомбинатных линий, а также в клеточных реакциях, преимущественно в смешанной культуре лимфоцитов — СКЛ. Поскольку последняя является адекватной моделью распознавания рецепторов чужеродных клеток, то ее применяют в нескольких вариантах, в том числе и с использованием гомозиготных клеток от близкородственных особей. В настоящее время систему H-генов исследуют с помощью моноклональных антител на молекулярном уровне.

В зависимости от биологических отличий антигены и антитела обозначают как аутологичные (собственные), сингенные (отличия в пределах одной инбредной линии), аллогенные (отличия в пределах одного биологического вида) и ксеногенные (при межвидовых отличиях). В соответствии с этим трансплантацию тканей называют аутотрансплантацией, сингенной трансплантацией (прежний термин — изотрансплантация), аллотрансплантацией (гомотрансплантация) и ксенотрансплантацией (гетеротрансплантация). В точно таком же

биологическом смысле применяются термины сингенные и аллогенные беременности, иммунизация или искусственный (пассивный) перенос лимфоцитов и антигенов.

Система H-генов присуща всем млекопитающим, она определяет синтез антигенов, которые еще до недавнего времени называли трансплантационными. У человека ее обозначают как систему HLA (Human Leukocyte Antigens), у шимпанзе — ChLA, у макака — RhLA, у собак — DLA, у крыс — Ag-B, у кроликов — RLA и т. д. Антигены, кодируемые этими генами, принадлежат к категории аллоантигенов, их собирательно именуют генами или антигенами МНС (Major Histocompatibility Complex — главный комплекс гистосовместимости). У различных видов животных найдено сходство в серологических свойствах, аминокислотном составе продуктов и генетической организации МНС.

В дальнейшем выяснилось, что те же антигены играют важнейшую роль не только в отторжении трансплантата или реакции трансплантата против хозяина — РТПХ, но и в регуляторных процессах внутри самого организма, который их распознает как аутоантигены или собственные генетические «опознавательные знаки». Функциональная активность МНС-генов и сочетание кодируемых ими антигенов определяет чувствительность или, напротив, устойчивость организма к ряду наследственных и приобретенных заболеваний. МНС-гены регулируют иммунный ответ организма в целом и взаимодействие всех типов клеток, участвующих в иммунологических процессах, а также такие на первый взгляд неиммунологические явления, как плодовитость, размеры органов и тела, репарация ДНК. МНС-антигены, расположенные на поверхностной мембране клетки, выполняют по отношению к этой клетке защитную роль, подобно тому как антитела или лимфоциты защищают целостный организм. Считается, что система МНС-генов произошла из простейших самораспознающих систем с целью предупреждения слияния различных организмов и защиты от паразитов и контагиозных опухолей.

Сегодня различают гены МНС и кодируемые ими гликопротеины — антигены трех классов. Гены I класса кодируют молекулы клеточной поверхности, часть из которых присуща всем клеткам организма (отсюда их значение в реакциях несовместимости при пересад-

ках тканей и беременности), а другая — только гемопоэтическим клеткам (возможно, дифференцировочные антигены). Антигены I класса МНС выявляются преимущественно серологически, т. е. с помощью специфических антисывороток. Гены МНС, составляющие II класс, кодируют поверхностные молекулы лимфоцитов и макрофагов, они регулируют их кооперативные взаимоотношения и регулируют иммунный ответ на многие антигены. Антигены II класса определяются клеточными и серологическими методами. Гены III класса изучены мало, они определяют синтез ряда белков, участвующих в активации комплемента.

Наиболее полно изучены МНС-антигены мышей, поскольку именно на этих животных были раньше получены и всесторонне разработаны иммуногенетические модели. Антигены МНС мышей сосредоточены в супергене или локусе, называемом H-2. Содержание их в клетках разных органов неодинаково. Если условно принять содержание H-2-антигенов в селезенке за 1,0, то в лимфатических узлах их 0,7, в печени — 0,5, в вилочковой железе — 0,3 (столько же в легких, надпочечнике, кишечнике), в почках — 0,1 и почти нет их в эритроцитах, сердце, мозге, семенниках и скелетной мускулатуре [Klein J., 1975]. Указанное распределение касается только тех антигенов, которые удается выявить с помощью абсорбции соответствующими клетками анти-H-2-сывороток.

Локус H-2 расположен у мышей на 17-й хромосоме (рис. 1). Сублокусы H-2K и H-2D, способные стимулировать продукцию аллоантител и отторжение аллотрансплантата, были открыты раньше других [Gorer P., 1963, 1937]. Гены этих сублокусов контролируют синтез антигенов I класса. Известно более 50 аллелей генов H-2K и H-2D, которые принято обозначать надбуквенной пометкой: H-2K<sup>a</sup>, H-2K<sup>b</sup>, H-2D<sup>d</sup>, H-2D<sup>k</sup> и т. д. Полиморфизм их обусловлен главным образом изменением последовательности аминокислот. Продукты этих генов служат элементами ограничения при распознавании цитотоксическими Т-лимфоцитами чужеродных антигенов (вирусных, бактериальных, тканевых), с которыми они образуют комплекс.

Дистальнее H-2D располагается сублокус H-2L, а еще далее сублокусы Qa и регион T, представленный сублокусами T1a и H-2T. Несколько аллелей Qa (Qregion associated antigen) были описаны в 1976—1979 гг.,

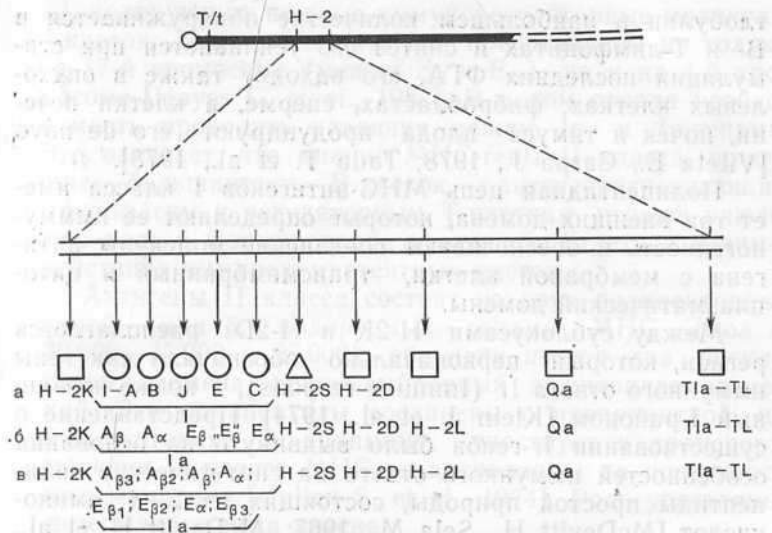


Рис. 1. Схема строения локуса H-2 на 17-й хромосоме мыши.  
 □ — гены, кодирующие антигены МНС I класса; ○ — гены, кодирующие антигены МНС II класса; △ — гены, кодирующие антигены МНС III класса;  
 а — номенклатура антигенов II класса по J. Klein и соавт. (1978); б — номенклатура антигенов по J. Klein и соавт. (1983); в — номенклатура антигенов II класса по D. Murphy и соавт. (1985).

причем часть из них выявляется серологически, а другие с помощью цитотоксических Т-лимфоцитов [Hammerling G. et al., 1979]. Сублокус Tla (Thymus leukemia antigen) контролирует некоторые поверхностные антигены на нормальных и лейкозных Т-лимфоцитах, выявляемые серологически. Сублокус H-2T, описанный J. Klein, Chiang C. (1978), кодирует антигены Т, присутствующие цитотоксическим лимфоцитам. Предполагают, что Qa- и Tla-антигены имеют отношение к дифференцировочным антигенам клеток костномозгового происхождения и сравнительно менее полиморфны, чем H-2.

Все антигены МНС I класса имеют сходную молекулярную массу (мол. м.) и состоят из тяжелой полипептидной цепочки (мол.м.40 000—45 000) и β<sub>2</sub>-микроглобулина (мол.м. 12 000) для обеспечения связи молекулы HLA с мембраной. β<sub>2</sub>-микроглобулин сам не является продуктом МНС-генов, у мышей его синтез контролируется не 17-й, а 2-й хромосомой. Примесь его к МНС-антигенам обеспечивает их экспрессию и стабильность плазматической мембраны. Хотя β<sub>2</sub>-микро-

глобулин в наибольшем количестве обнаруживается в В- и Т-лимфоцитах и синтез его усиливается при стимуляции последних ФГА, его находят также в опухолевых клетках, фибробластах, сперме, а клетки печени, почек и тимуса плода продуцируют его de novo [Viteta E., Carra J., 1978; Tada T. et al., 1978].

Полипептидная цепь МНС-антигенов I класса имеет три внешних домена, которые определяют ее иммуногенность и обеспечивают соединение молекулы антигена с мембраной клетки, трансмембранный и цитоплазматический домены.

Между сублокусами H-2K и H-2D располагается регион, который первоначально обозначали как гены иммунного ответа I<sub>r</sub> (Immune respons), а позже названный I-районом [Klein J. et al., 1974]. Представление о существовании I<sub>r</sub>-генов было выдвинуто на основании особенностей иммунного ответа на синтетические полипептиды простой природы, состоящих из 2—4 аминокислот [McDevitt H., Sela M., 1967; McDevitt H. et al., 1972]. В. Benaceraff (1974) предположил, что I<sub>r</sub>-гены кодируют Т-клеточные рецепторы, а К. Jerne (1974) пришел к выводу, что продуктами I<sub>r</sub>-генов являются антигены МНС; второе предположение оказалось правильным. Серологический анализ показал, что этот регион кодирует множество гликопротеинов, которые затем обозначили Ia-антигенами (Immune associated) [Shreffler D. et al., 1974]. Молекулы Ia-антигенов располагаются на клеточной поверхности, образуя нековалентно связанные двухмерные комплексы. В сочетании с чужеродным антигеном они распознаются антигенпредставляющими клетками, за этим следует каскад иммунологических реакций.

Ранее гены МНС II класса (Ia) подразделяли на пять субрегионов: I-A, I-B, I-J, I-E и I-C [Klein J. et al., 1978]. В 1983 г. J. Klein и соавт. предложили новую классификацию. Согласно ей гены, кодирующие синтез МНС-антигенов II класса, стали подразделять на сублокусы I-A и I-E, включающие пять генов: A<sub>β</sub>, A<sub>α</sub>, E<sub>β</sub>, «E<sub>β</sub>», E<sub>α</sub>. Субрегионы A<sub>α</sub> и A<sub>β</sub> были постулированы при биохимическом анализе [Rose S., Cullen S., 1981], то же самое касается и субрегионов E, обозначавшиеся раньше I-B и I-J. Молекулярно-генетическими исследованиями было показано наличие нескольких A- и E-субрегионов [Steinmetz M. et al., 1982; Murphy D. et al., 1985]. Открытым остается вопрос о генах субрегиона

I-J, кодирующих важные иммунорегуляторные молекулы Т-клеток; допускается, что они представлены не только на 17-й хромосоме (между  $E_{\beta}$  и  $E_{\alpha}$ ), но и на 4-й хромосоме [Hayes C. et al., 1984]. В целом отпала необходимость проводить различия между I $\alpha$ - и I $\beta$ -генами. Это означает, что именно МНС-гены II класса, присущие большинству В-клеток, антигенраспознающим макрофагам и регуляторным Т-клеткам, играют ключевую роль в формировании иммунного ответа и взаимодействиях иммунокомпетентных клеток.

Антигены II класса состоят из двух полипептидных цепей —  $\alpha$  и  $\beta$ , кодируемых генами МНС (мол. м. 30 000—35 000 и 25 000), обе цепи имеют два внеклеточных домена, трансмембранный и цитоплазматический. Эти полипептиды соединены с инвариантной цепью, которая, по-видимому, участвует в транспорте молекул II класса МНС из цитоплазмы на поверхностную мембрану [Cullen S. et al., 1974]. Роль углеводных детерминант пока неясна.

Именно комплекс собственных антигенов II класса в сочетании с чужеродным белком распознается макрофагами, которые передают информацию о нем I $\alpha$ -идентичным лимфоцитам-хелперам. В свою очередь Т-хелперы стимулируют генерацию Т-лимфоцитов-киллеров, которые взаимодействуют с мишенями соответственно с ними по МНС-антигенам I класса. Этот феномен иммунологического ограничения (или рестрикции) подразумевает присутствие на лимфоцитах двойного рецептора — к чужеродному антигену «X» и собственным МНС-антигенам. Вне такой генетической слаженности кооперативный иммунный ответ нарушается. Содержание I $\alpha$  молекул на моноцитах достигает 15 000 на одну клетку, для стимуляции иммунного ответа имеет значение не только общее их количество, но и скорость сбрасывания.

Сублокус S кодирует у мышей антигены МНС III класса, к которым относят некоторые сывороточные белки — факторы системы комплемента. Здесь контролируется синтез C4 (ранее известного под названием сывороточной субстанции — Ss) и белка, связанного с полом — Spl.

Важное значение имеет регион T/t, находящийся в 14 сантиморганах левее от H-2K [Демин Ю. С., 1982; Bennet D., 1975]. Считают, что гены этой области кодируют клеточные антигены, необходимые для ранних

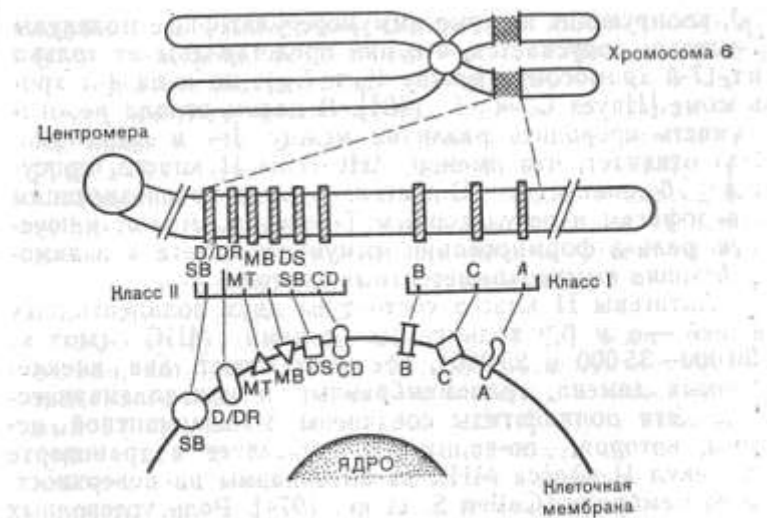


Рис. 2. Схема строения антигенов HLA I и II классов.

стадий клеточных дифференцировок. К числу антигенов этого региона относится антиген F-9, выявленный на тератокарциноме, лишенной H-2-антигенов. Антисыворотка против F-9 не является цитотоксичной для лимфоцитов взрослых мышей и для широкого спектра опухолевых клеток [Artzt K. et al., 1973]. Однако те же антисыворотки против F-9 взаимодействуют со сперматозоидами и клетками раннего эмбриона. В ходе дальнейшей дифференцировки клеток плода экспрессия F-9 снижается [Nicolaset J. et al., 1975], а H-2 нарастает [Jacob F., 1977]. Это указывает на то, что антигены T/t являются эволюционными предшественниками H-2-антигенов, и возможно, в раннем онтогенезе эти антигены принимают участие в создании местного супрессорного иммунитета матери к антигенам плода. В последнее время субрегион T/t относят к H-2-комплексу и полагают, что он поддерживает его полиморфизм [Artzt K., 1983].

Сочетание MHC всех субблокусов на одной хромосоме называется гаплотипом, полный диплоидный их набор именуется фенотипом, а при знании порядка распределения всех антигенов на обеих хромосомах говорят о генотипе.

Рис. 3. Схематическое изображение антигена МНС I класса.



Система МНС-антигенов человека — HLA — располагается на коротком плече 6-й хромосомы, занимает область 1,5—2 сантиморгана и включает  $10^5$ — $10^6$  генов (рис. 2). Строение ее аналогично комплексу H-2 мышей, но изучено сравнительно меньше. К числу антигенов I класса относятся серологически определяемые продукты сублокусов HLA-A, HLA-B и HLA-C, которые обладают высоким полиморфизмом (табл. 1). HLA-антигены I класса присущи всем клеткам организма, кроме эритроцитов. Они, как и МНС-антигены I класса мышей (H-2K и H-2D), включают тяжелую полипептидную цепочку (мол. м. 45 000) и  $\beta_2$ -микроглобулин (мол. м. 12 000). Последний кодируется генами, расположенными на 15-й хромосоме, а тяжелая цепь — генами HLA. Так же как у мышей, тяжелая цепь имеет три внешних домена, которые обозначаются как  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  (у мышей — N, C1 и C2), трансмембранный и цитоплазматический домены (рис. 3).

Антигены HLA II класса контролируются у человека, по крайней мере, 4—5 сублокусами, из которых лучше других изучены HLA-D/DR, -SB, -CD и -DS. Сублокус HLA-D был открыт и классифицирован как независимый от серологически определяемых HLA-A и -B с помощью гомозиготных по этим антигенам типизирующих клеток в СКЛ. Далее серологическими тестами (цитотоксическая проба с В-лимфоцитами) были обнаружены антигены сходной специфичности. Последние получили название HLA-DR (D-Related). До настоящего времени дискутируется вопрос о сходстве и различии D- и DR-антигенов [Morling N. et al., 1982], поэтому, пока не получено прямых доказательств, этот сублокус обозначают HLA-D/DR.

Пространственно близки к этому сублокусу HLA-CD (Cytotoxic Defined), -MT, -MB и некоторые иные специфичности [Алексеев Л. П., 1985]. В неравновесном сцеплении с DR-антигенами находятся антигены В-кле-



Таблица 1. Номенклатура специфичностей антигенов HLA I и II классов

II класс		I класс					
SB	D/DR	MT	MB	CD	B	C	A
SB1	DW1	MT1	MB1	CD1	B5, BW51, BW52	CW1	A1
SB2	DW2	MT2	MB2	CD2	B7	CW2	A2
SB3	DW3	MT3	MB3	CD3	B8	CW3	A3
SB4	DW4	MT4		CD4	B12, BW44, BW45	CW4	A9, AW23, AW24
SB5	DW5			CD5	B13	CW5	A10, A25, A26
SB6	DW6			CD6	B14	CW6	A28
	DW7			CD7	B15	CW7	A29
	DW8	DRW8		CD8	BW38, BW39	CW8	AW19
	DW9	DRW9		CD9	B17		AW30
	DW10	DRW10		CD10	B18		AW31
	DW11			CD11	B27		AW32
	DW12			CD12	B37		AW33
					B40		AW34
					BW16, BW38		AW36
					BW39		AW43
					BW21, BW49,		
					BW50		
					BW22, BW54		
					BW35		
					BW41		
					BW42		
					BW46		
					BW47		
					BW48		
					BW53		

Примечание. Буква W в символе антигена указывает на то, что его специфичность выяснена не окончательно. Антигены, приведенные на одной линии, имеют общность.

ток, получившие название DS [Goyert S. et al., 1983]. С помощью СКЛ с предварительно стимулированными гомозиготными лимфоцитами был открыт сублокус HLA-SB (Secondary B-cell) [Shaw S. et al., 1979]<sup>1</sup>. Все антигены HLA II класса значительно менее полиморфны, чем антигены HLA-A и -B. Одновременно следует указать, что не все открытые антигенные системы II класса сопоставлены друг с другом и возможно, что некоторые из них, считающиеся сейчас различными, на самом деле идентичны.

Антигены HLA II класса сравнивают с Ia-антигенами мышей, в частности, молекулы DR и CD человека считают аналогом соответствующих продуктов сублокусов E и A мышей [Sorrentino R. et al., 1983]. Полагают, что внутри HLA-DR представлены гены иммунного ответа Ig человека и субстанции, контролирующие супрессорный иммунный ответ [Reznikoff-Etievant M. et al., 1983]. Как и Ia-антигены мышей, HLA II класса преимущественно локализованы на иммунокомпетентных клетках. Они включают две связанные ковалентно-внеклеточные полипептидные цепочки (мол. м.  $\alpha$ -цепи 34 000—36 000 и  $\beta$ -цепи — 26 000—29 000), каждая из которых содержит два внеклеточных домена и внутриклеточный участок (мол. м. 29 000).  $\beta_2$ -микроглобулин не входит в состав антигенов II класса.

Гены HLA III класса определяют синтез C4-компонента комплемента человека и какие-то еще не уточненные полипептиды.

Существенно важна биологическая функция HLA-антигенов, проявляющаяся в рестрикции иммунного ответа. Как и H-2-антигены мышей, HLA-антигены определяют кооперацию между различными субпопуляциями лимфоцитов и макрофагов. Т-хелперы взаимодействуют с антигенпредставляющими макрофагами, идентичными с ними по HLA-антигенам II класса, аналогичным Ia-антигенам мышей. Предполагается, что распознавание антигена включает пептидное расщепление его нативной молекулы (процессинг) и последующее связывание пептидных фрагментов с Ia-молекулами. Антигены HLA I класса опосредуют литические функции Т-лимфоцитов киллеров; различия между ними и клетками-мишенями по HLA-A, -B, -C отменяет цито-

<sup>1</sup> В 1985 г. Комитет ВОЗ утвердил три семьи антигенов HLA II класса: DR, DP<sup>a</sup> (прежнее название SB) и DQ (MT, MB, CD и DS).

2-361  
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ 17  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

AXB-RESURS MARKAZI  
INV № 7371

токсический ответ. В соответствии с такими иммуногенетическими ограничениями функционируют разные субпопуляции лимфоцитов.

## 1.2. Клеточный иммунитет

Хотя подразделение общего иммунного ответа организма на клеточный и гуморальный достаточно условно, мы здесь придерживаемся такой схемы исключительно для удобства изложения. Под клеточным иммунитетом подразумевают реакции гиперчувствительности замедленного типа — ГЗТ или клеточной сенсibilизации, связанные со специфическим взаимодействием тимус-зависимых лимфоцитов (Т-лимфоцитов) с клетками-мишенями. Последними могут быть клетки аллотрансплантата, измененные собственные клетки, бактерии и др. Соответственно говорят о трансплантационном, противоопухолевом, антибактериальном клеточном иммунитете.

Предшественники Т-лимфоцитов — стволовые Т-клетки возникают в желточном мешке, откуда затем мигрируют в печень и далее — в костный мозг эмбриона. Созревание этих стволовых элементов в зрелые Т-лимфоциты происходит в вилочковой железе (тимусе), откуда они затем выселяются в лимфатические узлы и другие периферические лимфоидные ткани. Определение Т-лимфоцитов с помощью антител к их специфическим поверхностным молекулам (характерным для всех Т-клеток является  $\theta$ - или Thy-1-антиген) показало, что в вилочковой железе их содержание составляет 100%, в крови — 70%, в лимфатических узлах до 60%, в селезенке — 35% и 0% в костном мозге.

В дальнейших экспериментах на мышах было показано, что Т-лимфоциты обладают разными свойствами — киллерной (kill — убивать) и супрессорной активностью [Cantor H., Boyse E., 1975, 1977]. Первые разрушают клетки-мишени, вторые осуществляют иммунорегуляторные функции. Дальнейший прогресс обозначился, когда было показано наличие Т-лимфоцитов-помощников или Т-хелперов (help — помогать), которые служат посредниками между антигеннесущими макрофагами и лимфоцитами. Т-хелперы необходимы, с одной стороны, для дифференцировки В-лимфоцитов в антителообразующие клетки, а с другой — для созревания Т-киллеров и Т-супрессоров из соответствующих лимфоидных предшественников.

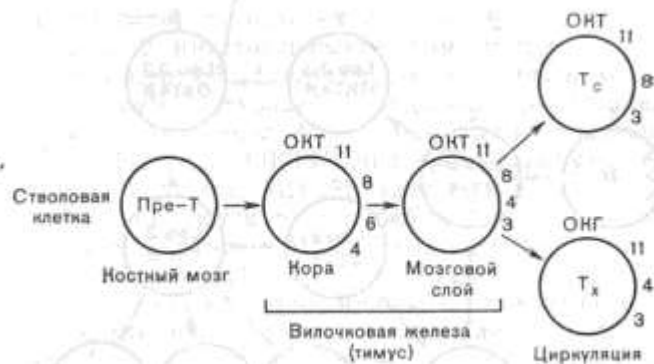


Рис. 4. Схема экспрессии антигенов ОКТ на Т-клетках человека (Т<sub>с</sub>-супрессор, Т<sub>х</sub>-хелпер).

На поверхности хелперных и супрессорных лимфоцитов были выявлены специфические активные участки — Fc-рецепторы, связывающие иммуноглобулины (Ig). Fc-рецептор к Ig класса M оказался присущим Т-хелперам, Fc-рецептор к Ig класса G — Т-супрессорам [Moretta L. et al., 1977]. Деление Т-лимфоцитов на Т-киллеры, Т-хелперы (Т<sub>μ</sub>) и Т-супрессоры (Т<sub>γ</sub>) оказалось очень полезным для понимания существа иммунорегуляторных процессов, хотя функции Т<sub>μ</sub> и Т<sub>γ</sub>-клеток нельзя сегодня окончательно охарактеризовать. Так, среди Т<sub>γ</sub>-клеток здоровых людей около 70% лимфоцитов обнаруживает цитотоксическую и естественную киллерную активность [van de Gruend R. et al., 1982].

В 1979 г. благодаря применению моноклональных антител были открыты новые серии поверхностных антигенов, характерных для Т-лимфоцитов. Для Т-лимфоцитов человека поверхностными антигенами оказались антигены серий ОКТ и Leu [Reinherz E. et al., 1977; Evans R. et al., 1977]. Отдельные антигены серии ОКТ (рис. 4) выражены либо на клетках тимуса (ОКТ 3, 4, 6, 8, 11), либо на всех циркулирующих Т-лимфоцитах (ОКТ 3, 4, 8, 11), либо на отдельных их субпопуляциях. Последние, отличающиеся по ОКТ4 и 8, были избирательно выделены и изучены в функциональных тестах. На основании того, что ОКТ4<sup>+</sup>-клетки активно реагировали на митоген и стимулировали продукцию антител, а ОКТ8<sup>+</sup>-клетки не пролиферировали в присутствии митогенов и подавляли активность анти-

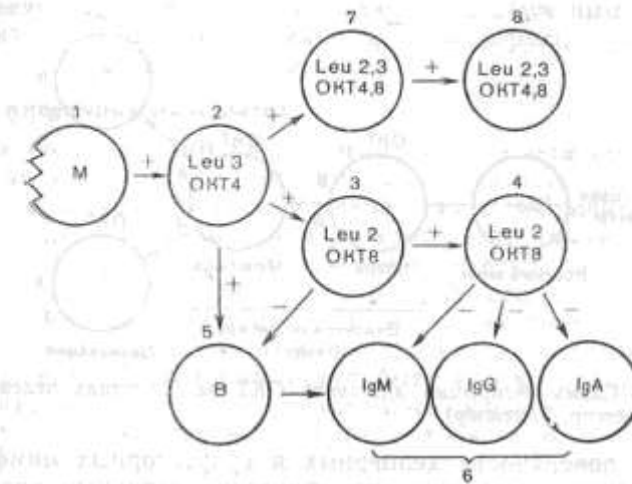


Рис. 5. Схема регуляторных положительных (+) и отрицательных (—) взаимодействий и дифференцировок иммунокомпетентных клеток разного фенотипа.

1 — макрофаг, представляющий антиген; 2 — Т-хелпер; 3 — предшественник Т-супрессора; 4 — Т-супрессор; 5 — В-лимфоцит; 6 — плазматические клетки; 7 — предшественник Т-киллера; 8 — Т-киллер.

телообразующих клеток, первые отнесли к категории Т-хелперов, а вторые — к Т-супрессорам [Thomas Y. et al., 1980, 1981]. Антитела к ОКТ4<sup>+</sup>-клеткам блокировали взаимодействие Т-клеток с аутологичными В-лимфоцитами, а антитела к ОКТ8<sup>+</sup> — цитотоксический эффект лимфоцитов [Thomas Y. et al., 1983]. Было также показано, что Т-хелперы (ОКТ4<sup>+</sup>) несут антигенный маркер Leu 3, а Т-супрессоры (ОКТ8<sup>+</sup>) — Leu 2 [Gatenby P. et al., 1982] (рис. 5). В дальнейшем, однако, было показано, что и цитотоксические Т-лимфоциты могут также иметь фенотип ОКТ4/Leu 3 или ОКТ8/Leu 2 [Moretta L. et al., 1981; Meuer S. et al., 1982]. Используя более дифференцированную технику, исследователи показали, что Т-хелперы и Т-супрессоры не столько различаются по антигенам ОКТ4 и ОКТ8, сколько по чувствительности к теофиллину, наличию антигенов 5/9, TQ1, Leu8, взаимодействию с антителами от больных юношеским ревматоидным артритом [Ballieux R., Heijnen C., 1983; Lanier L. et al., 1983].

Важным в этом направлении исследований оказалось то, что тонкая маркерная характеристика Т-кле-

ток отражает не столько их функциональную активность (ибо цитотоксические лимфоциты могут иметь фенотип Leu 2/3, а клетки OKT8<sup>+</sup> — быть киллерами и супрессорами), сколько определяет распознавание Т-клетками антигенов МНС. Так было показано, что клетки фенотипа OKT4/Leu 3 пролиферируют в СКЛ в ответ на антигены МНС II класса, а клетки OKT8/Leu2 дифференцируются в цитотоксические киллеры под влиянием антигенов МНС I класса [Engleman E. et al., 1981; Krensky A. et al., 1982; Meuer S. et al., 1982].

Подобная же закономерность показана и для Т-клеток мышей, несущих антигены серии Lyt, аналогичные OKT и Leu-антигенам Т-лимфоцитов человека [Engleman E. et al., 1981; Reinherz E. et al., 1981; Krensky A. et al., 1982; Biddison W. et al., 1982]<sup>1</sup>. Маркер Lyt1 эквивалентен антигену Leu 1 человека, он выражен почти на всех периферических Т-лимфоцитах. Маркер Lyt 2 соответствует антигену человека Leu 2 [Ledbetter J. et al., 1981]. Клетки фенотипа Lyt 2<sup>+</sup> распознают продукты генов МНС I класса, а клетки Lyt 2<sup>-</sup> — продукты генов МНС II класса. В ксеногенной СКЛ человека и мыши (первая разновидность клеток — отвечающая, вторая — стимулирующая) были отмечены различия в реакции Т-лимфоцитов человека на МНС-антигены мышей. Реакция на антигены МНС мышей I класса (регионы К и D) происходила с образованием киллерных клеток. Эти последние выявлялись в прямом цитотоксическом тесте — лимфолизисе, обозначаемом как цитолимфолизис — CTL. Реакция Т-лимфоцитов человека на антигены мышей II класса (Ia) сопровождалась продукцией интерлейкина-2 и других лимфокинов [Swain S., 1983]. Эти разные формы ответа могли быть избирательно подавлены: цитотоксический эффект на антигены H-2K- и H-2D-регионов блокировался анти-Leu2-сывороткой, а продукция интерлейкина-2 подавлялись анти-Leu3-сывороткой [Swain S. et al., 1983].

<sup>1</sup> Ранее для характеристики Т-клеток мышей пользовались дифференцировочными антигенами системы Ly [Cantor H., Boyse E., 1975]. Большинство Т-хелперов несет молекулу Ly1, Ly2-молекула усиливает взаимодействие Т-киллеров с клетками-мишенями; фенотип Ly1+2<sup>-</sup> присущ хелперам и супрессорам неспецифическим, а Ly1-2<sup>+</sup> — специфическим. Лимфоциты Ly1+2<sup>+</sup> или Ly1-2<sup>+</sup> взаимодействуют с антигенами МНС I класса, а лимфоциты всех иных фенотипов с антигенами II класса [Vidovic D. et al., 1984].

Эти исследования имеют прямое отношение к выяснению строения рецепторов Т-лимфоцитов. Последние сегодня представляются сдвоенными молекулами, одна часть которых направлена к чужеродному Х-антигену, а другая к собственным МНС-антигенам или к их комплексу с Х-антигеном. При этом молекулы Т-рецептора человека, несущие Leu3, ОКТ4/8, ответственны за взаимодействие с антигенами МНС II класса, Leu2, ОКТ8 за реакцию на антигены МНС I класса, молекула ОКТ3 является передатчиком сигнала между Т-клетками и связана с рецептором к интерлейкину-2 и интерфероном и т. д. [Chang T. et al., 1982; Reinherz E. et al., 1983; Bidisson W. et al., 1983]. Таким образом, специфичность Т-клеток к различным продуктам МНС определяет функцию их субпопуляций.

В 1975 г. среди морфофункционального разнообразия лимфоцитов была обнаружена особая линия клеток (от 0,1 до 2,4%), обладавшая способностью разрушать опухолевые клетки и клетки, инфицированные лейкозными вирусами [Kiessling R., 1975; Herberman R. et al., 1978].

Поскольку для проявления действия этих клеток не требуется влияния вилочковой железы, а само действие напоминает эффект Т-киллеров, эти клетки стали называть естественными киллерами (ЕК). С помощью моноклональных антител было показано, что характерными мембранными маркерами этих клеток служат антигены Leu 7 и 11 [Lanier L. et al., 1983].

ЕК являются крупными гранулярными лимфоцитами, они возникают в печени зародыша (9 нед) и к моменту рождения выявляются в пуповинной крови. По-видимому, ЕК в течение жизни выселяются из костного мозга, они контролируют процессы дифференцировки и пролиферации в системе гемо- и лимфопоэза, а попутно лизируют и малигнизированные клетки. Активность ЕК усиливается под влиянием интерферона, интерлейкина-2, вакцины БЦЖ и подавляется простагландинами, кортикостероидами, эстрадиолом. При трансплантации и аллоиммунизации отличия по антигенам МНС I и II классов стимулируют активность ЕК, поэтому можно считать, что антигены, активирующие Т-лимфоциты и ЕК, тождественны. Имеются также указания на то, что гены, детерминирующие активность ЕК, ассоциированы с генами, определяющими синтез Rh-антигенов [Hersey R. et al., 1979].

Общее число лимфоцитов изучают с помощью реакций розеткообразования: Т-лимфоциты в реакции розеткообразования с эритроцитами барана (Е-РОК), В-лимфоциты — в той же пробе, но с участием антисыворотки и комплемента (ЕАС-РОК). Применение в этих реакциях бычьих эритроцитов с антисыворотками к IgM и IgG позволяет дифференцировать  $T_H$  (хелперы) и  $T_S$  (супрессоры)-клетки.

Функциональную активность лимфоцитов изучают в реакции бласттрансформации. В ходе последней происходит пролиферация лимфоцитов в бласты под действием Т-митогенов (лейкинов), неспецифически стимулирующих Т-клетки (ФГА, РРД, конканавалин А — КонА, стрептокиназа — стрептодорназа), или В-митогенов (липополисахарид, митоген лаконоса — РММ). Реакция двойной бласттрансформации (в первой стадии с КонА, а затем с ФГА) обычно применяется для изучения активности Т-супрессорных лимфоцитов человека. Лектины стимулируют продукцию эндогенных митогенов (интерлейкина-2), которые и побуждают Т-клетки к пролиферации.

Пролиферативную активность лимфоцитов по отношению к аллоантигенам изучают в СКЛ, где обычно одна популяция живая, а другая, стимулирующая первую антигенами II класса, стабилизирована митоцином С. Оценка СКЛ, как и монокультуры лимфоцитов с митогенами, может проводиться визуально по числу бластов (индекс бласттрансформации), но чаще о синтезе ДНК судят по включению радиоактивного тимидина  $^3H$  (индекс пролиферации). В цитолимфолизисе, который еще обозначают как клеточно-опосредованный лизис (КОЛ), клетки-мишени (обычно лимфоциты донора) предварительно обрабатывают ФГА или липополисахаридом и метят  $^{51}Cr$ . Цитотоксический эффект обнаруживается в СКЛ по освобождению метки из разрушенных мишеней в культуральную среду. Эта реакция протекает без комплемента, как и антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ). АЗКЦ связана с К-клетками, которые имеют рецепторы к комплементу (СЗ). Эритроциты быка, sensibilizированные СЗ, не лизируются К-лимфоцитами, реакция АЗКЦ происходит лишь после добавления небольшого количества специфических IgG-антител, улучшающих контакт цитотоксических лимфоцитов с клетками-мишенями.



### 1.3. Гуморальный иммунитет

Гуморальный иммунитет связан с активностью В-лимфоцитов, предшественники которых образуются в эмбриональном периоде также в желточном мешке. Центральным органом В-иммунитета у птиц является сумка Фабрициуса (Bursa), а у млекопитающих, по-видимому, костный мозг. В-лимфоцит, получивший информацию об антигене от макрофага и одновременно фактор от Т-хелпера, стимулирующий его пролиферацию, претерпевает несколько последовательных делений и превращается в плазматическую клетку, синтезирующую антитела (Ig). Ig составляют 15% общего количества сывороточных белков, их молекулы обладают разными свойствами, а продукция протекает с участием Т-хелперов и Т-супрессоров.

Взаимодействие гуморальных антител с антигеном — с аллогенными или ксеногенными клетками — проявляется *in vitro* в разных лабораторных феноменах. Антитела могут склеивать, агглютинировать антиген-эритроциты, -лейкоциты, -сперматозоиды и т. д.; в таких случаях говорят о гемагглютинациях, лейкоагглютинациях, спермоагглютинациях и т. д. Широкое распространение получила также реакция непрямо́й агглютинации, когда к эритроцитам или нейтрофильным частицам (латекс, полиакриламидные бусы и др.) присоединяют антиген, а затем добавляют антитела к нему, побуждающие склеиваться нейтральные частицы (рис. 6). Метод применяется для выявления растворимых антигенов, он обладает высокой чувствительностью. Цитотоксический эффект регистрируется по числу погибших клеток после экспозиции сыворотки с антигеном (лимфоцитотоксины, спермоцитотоксины и др.), причем в отличие от клеточно-опосредованного лизиса он происходит только в присутствии комплемента.

Имунофлуоресцентные методы основаны на том,

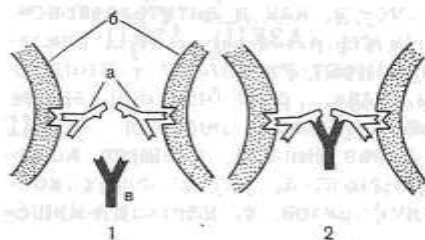
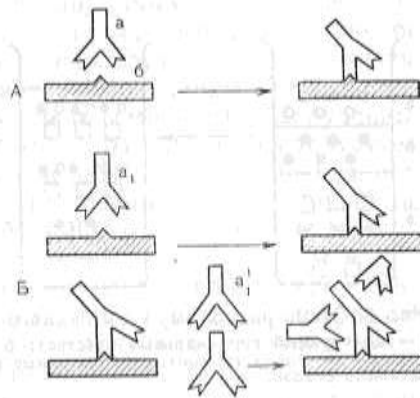


Рис. 6. Схема реакции непрямо́й гемагглютинации.

1 — антиген (a) взаимодействует с поверхностью частиц (б); 2 — антитела (в), соединяясь с антигеном, склеивают частицы.

**Рис. 7.** Схема реакции прямой (А) и не прямой (Б) иммунофлуоресценции.

а — антитела, меченные изотиоционатом; б — антиген; а<sub>1</sub> — антитела немеченные; а<sub>1</sub>' — анти-антитела, меченные изотиоционатом и фиксирующиеся на антителах.

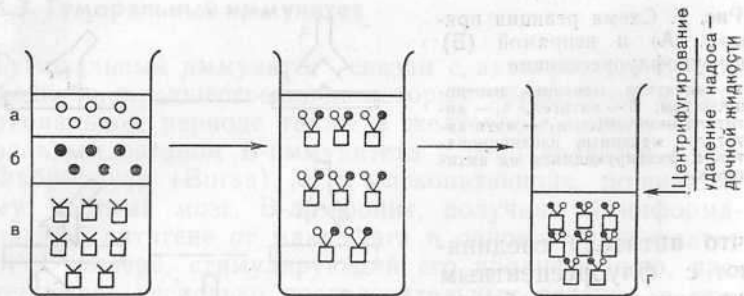


что антитела соединяют с флуоресцентным красителем (обычно изотиоционатом натрия), а затем экспонируют с объектом исследования, который связывает этот краситель,

если антитела специфичны (авидны) к данному антигену. Непрямую иммунофлуоресценцию проводят, как и непрямую агглютинацию, через промежуточную стадию, когда к исследуемому антигену (клетки, ткани) присоединяют антитела, а затем добавляют сыворотку против этого антитела (анти-антитело) с красителем (рис. 7).

Метод преципитации основан на выпадении в осадок комплекса растворимого антигена с вводимыми в реакцию сывороточными антителами. Вариант реакции в агаре удобен для характеристики антигенов (или антител) по числу преципитационных полос, появляющихся на границе их взаимодействия. Преципитация в агаре часто использовалась для изучения ауто- и алло-антигенов (в частности, гамет), так как специфическую антисыворотку (сыворотку, полученную направленной иммунизацией животных исследуемым антигеном) можно абсорбировать разными тканями. Снижение числа линий преципитации в агаре после абсорбции свидетельствует о том, что полученные антитела связывались с соответствующими антигенами в ткани, использованной для абсорбции. В таком случае говорят о наличии общих или перекрестных антигенов в клетках, использованных для иммунизации и последующей абсорбции. Преципитация в агаре применяется также для изучения концентрации иммуноглобулинов в жидкостях организма.

Сочетание в агаре лимфоцитов от животных, иммунизированных эритроцитами, с этими эритроцитами позволяет фиксировать зоны локального гемолиза и учи-



**Рис. 8.** Схема радиоиммунологического исследования.  
 а — исследуемый гормональный субстрат; б — гормон, меченный  $^{125}\text{I}$ ; в — антитела к меченому гормону, сорбированные на инертных частицах; г — радиоактивный осадок.

тывать число антителообразующих клеток (АОК). Поскольку взаимодействие антител с антигеном происходит только в присутствии комплемента, изучение антител можно проводить, исследуя потребление последнего в реакции связывания комплемента (РСК). Реакция оказывается положительной только в случае специфического взаимодействия исследуемых антител с известным антигеном (или наоборот).

Радиоиммунологический метод, получивший широкое распространение в последнее время, основан на взаимодействии исследуемого материала со стандартным для данной реакции комплексом антиген + антитело, меченного радиоактивным йодом —  $^{125}\text{I}$  или тимидином —  $^3\text{H}$ . Снижение радиоактивности преципитата стандартного комплекса означает присутствие в исследуемом материале субстрата (антигена, антитела), способного взаимодействовать с компонентами данного комплекса (рис. 8). Метод имеет высокую разрешающую способность (выявляется 1—10 нг исследуемого вещества). По чувствительности с радиоиммунологическим может конкурировать лишь иммуноферментный метод, основанный на взаимодействии комплекса антигена + антитело со стандартными антителами, меченными пероксидазой хрома. В случае образования специфического комплекса антитела реагента окрашиваются при добавлении соответствующего фермента.

Получение моноклональных антител открыло новую эпоху в иммунологии. Это стало возможным после того, как G. Köhler и C. Milstein (1975) открыли возможность гибридизации соматических клеток для получе-

ния стационарных клонов гибридных клеток или «гибридом», продуцирующих антитела узкой специфичности. С этой целью обычно используют гибрид В-клетки от животного, иммунизированного данным очищенным антигеном, с клеткой мышинной миеломы. Полученный гибрид синтезирует только антитела к исследуемому антигену (в организме синтез Ig данной специфичности непродолжителен). При длительном культивировании чистых клеточных линий гибридома является источником высокоспецифичных антител.

При электрофоретическом исследовании все сывороточные антитела оказываются в зоне  $\gamma$ -глобулинов. Позже эта фракция белков получила название иммуноглобулинов (Ig), что равнозначно понятию антитела (исключение составляют некоторые Ig — свободные цепи при лимфопролиферативных заболеваниях). Все Ig состоят из одной или нескольких основных структурных единиц, а каждая единица — из двух одинаковых тяжелых — Н (Heavy) и двух одинаковых легких — L (Light) цепей. Каждая цепь свернута в несколько компактных глобулярных «клубков» или доменов, состоящих примерно из 110 аминокислот (мол. масса 12500). Все полипептидные цепи Ig состоят из двух частей — концевой вариабельной (V) области, ответственной за индивидуальный идиотип, и концевой — константной (C) области, определяющей аллотип. V-области цепей обоих типов (Н и L) соответствуют по своей величине одному домену. C-области L-цепей имеют сходные размеры, тогда как C-области H-цепей в 2—4 раза длиннее. Ни одна из цепей не обладает активностью антитела, его активный центр, соединяющийся с антигеном, формируется двумя H- и одной L-цепью (рис. 9).

При обработке антител протеолитическими ферментами они расщепляются на фрагменты (F). При папаиновой обработке молекула Ig расщепляется на три фрагмента [Potter R., 1959]. Два из них, способные связываться с антигеном, называют Fab<sub>1</sub> и Fab<sub>2</sub> (antigen binding), а третий, соединяющийся с комплементом, Fc (constant). При расщеплении Ig пепсином происходит отщепление в другом месте молекулы, несущей оба Fab-фрагмента и обозначенной как F(ab')<sub>2</sub>, также способной связываться с антигеном. Fab-фрагменты называют моновалентным антителом, F(ab')<sub>2</sub> — двухвалентным антителом. Мол. м. Fab-фрагментов — 45 000,

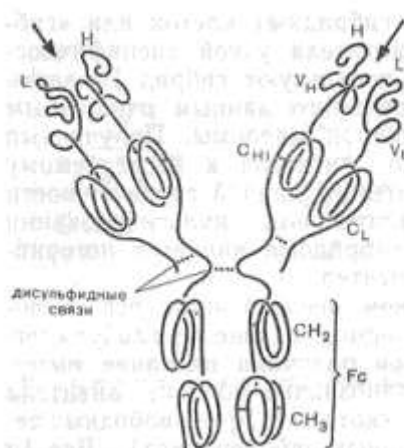


Рис. 9. Схема молекулы IgG. H — тяжелые цепи; L — легкие цепи;  $V_H$  и  $V_L$  — переменные домены;  $C_H$  — константный домен, стрелкой указана антиген-связывающая область.

$F(ab')_2$  — 100 000,  
 $F_c$  — 55 000. С Fab-фрагментами связывают наиболее важные свойства молекулы: антигелораспознавание и фиксация антигенной детерминанты. Этот же участок обеспечивает пространственную ориентацию молекулы антитела.

Fc-фрагмент фиксирует и активирует комплемент, обеспечивает связь молекулы антитела с рецепторами фагоцитов и клетками очага поражения, образование иммунных комплексов, катаболизм и элиминацию антител.

Среди иммуноглобулинов различают пять классов — IgM, IgG, IgA, IgD и IgE, отличающихся по молекулярной массе, физико-химическим и биологическим свойствам. IgG составляет 70—80% иммуноглобулинов сыворотки крови, их мол. м. 150 000—160 000, константа седиментации 7S. В электрофорезе различают относительно рано возникшие подвижные IgG1 и более поздние IgG2, IgG3 и IgG4, они соответственно составляют 60, 30, 7 и 3% IgG. IgG — единственный класс антител, проникающих через плацентарный барьер (IgG1 и IgG3) и присутствующих в крови новорожденных. К этому классу относится также большинство противобактериальных и противовирусных антител, а также блокирующие антитела, определяющие феномен усиления. Концентрация IgG повышается также при некоторых аутоиммунных заболеваниях.

IgM составляет 5—10% сывороточных белков, мол. м. 900 000—1 000 000, константа седиментации 19S. Это относительно крупная молекула, построенная из 5 субъединиц аналогичных IgG. IgM первыми появляются после антигенной стимуляции или при развитии инфекции («антитела тревоги»), позднее они уступают место IgG, которые продуцируются другими плазматическими клетками. Уровень IgM заметно повышен при

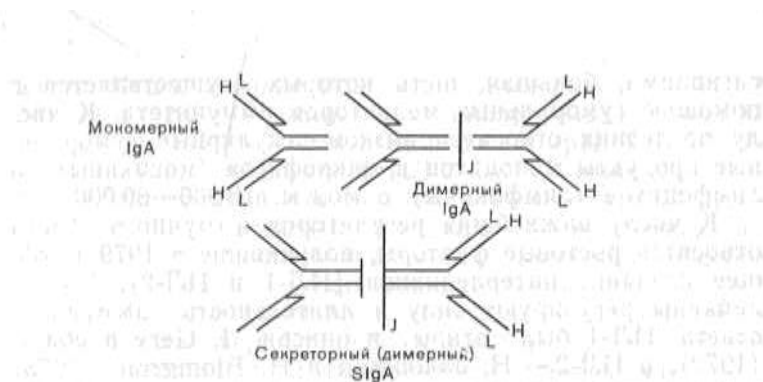


Рис. 10. Схема построения молекулы IgA мономерной, димерной и димера с секреторным компонентом — SIgA.  
L — легкие; H — тяжелые цепи.

перинатальных инфекциях и острых инфекционных заболеваниях.

IgA в сыворотке встречается в мономерной форме, он связывается с антигеном без участия комплемента и играет ключевую роль в невоспалительном удалении антигена. Катаболизм его комплексов с антигеном происходит в печени. Особое значение имеет димерный IgA, имеющий дополнительную полипептидную цепь (рис. 10). Такой секторный IgA (SIgA) присутствует в слезах, слюне, желчи, кишечном и желудочном соке, цервикальной жидкости и других секретах репродуктивного тракта. Клетки, несущие IgA, составляют 70—90% всех плазматических клеток, присутствующих в слизистых оболочках здоровых людей. SIgA играет исключительно важную роль в создании местного иммунитета. В кишечнике он обезвреживает попавшие с пищей токсические микроорганизмы, в дыхательных путях препятствует инфицированию слизистых оболочек носоглотки, в репродуктивной системе создает заслон развитию инфекции.

IgD (мол. м. 172 000) продуцируют немногочисленные В-клетки толстого кишечника и костного мозга, синтез его происходит в 100 раз медленнее IgM. Число В-носителей IgD больше, чем его продуцентов. Еще медленнее синтезируется IgE, играющий важную роль в аллергических реакциях.

#### 1.4. Растворимые медиаторы иммунитета

Созревание и функциональная активность лимфоидных клеток обусловлены многочисленными межклеточными

сигналами, большая часть которых осуществляется с помощью гуморальных медиаторов иммунитета. К числу последних относятся низкомолекулярные гуморальные продукты моноцитов и макрофагов (монокины) и лимфоцитов (лимфокины) с мол. м. 10 000—80 000.

К числу важнейших регуляторов иммунного ответа относятся ростовые факторы, получившие в 1979 г. общее название интерлейкинов (ИЛ-1 и ИЛ-2). Интерлейкины регулируют силу и длительность иммунного ответа. ИЛ-1 был открыт и описан I. Gery и соавт. (1972), а ИЛ-2 — Н. Jakobsson и Н. Blomgren (1975) и независимо от них G. Di Sabato и соавт. (1975). ИЛ-1, именованный ранее фактором, активирующим лимфоциты (ФАЛ), высвобождается макрофагами в момент их взаимодействия с лимфоцитами-хелперами (сигнал G1), в этом процессе участвует молекула Ia. ИЛ-1 — гликопротеид, включающий 16 аминокислот, имеет мол. м. 12 000—15 000, он стимулирует *in vivo* пролиферацию хелперов, усиливает пирогенный эффект белков при воспалении, регулирует продукцию коллагеназы и простагландинов, а *in vitro* усиливает рост фибробластов и образование Т-клетками человека стабильных розеток с эритроцитами барана.

ИЛ-2 высвобождается стимулированными Т-лимфоцитами-хелперами (сигнал G2). Он является неспецифическим активатором Т-Т взаимодействия и вызывает образование киллеров только в присутствии антигенов или митогенов, которые через 6 ч после стимуляции индуцируют появление на лимфоидных клетках рецепторов к ИЛ-2 с мол. м. 50 000—60 000. Через 48 ч после добавления ФГА более 50% лимфоцитов имеет этот рецептор, число таких клеток повышается к 3—7-м суткам и уменьшается к 10-му дню. Продукция или освобождение ИЛ-2 у человека осуществляется ОКТ4<sup>+</sup> и ОКТ8<sup>+</sup>, а у мышей Ly1<sup>+</sup>-клетками. У человека активность стимуляторов образования ИЛ-2 следующая: ФГА, КонА, антигены МНС I и II классов, у мышей она иная: КонА, антигены II класса, ФГА, антигены I класса. Пролиферация каждой отдельной клетки определяется скоростью появления и исчезновения рецепторов для ИЛ-2.

Таким образом, для выработки ИЛ-2 необходимо два различных сигнала: ИЛ-1 и антиген. ИЛ-1 и ИЛ-2 функционально образуют бимодальную систему усиления, действующую на уровне периферических лимфо-

цитов. Использование моноклональных антител к ИЛ-2 показало, что он является гликопротеидом с мол. м. 16 000 (рН 6,5—8,2) у людей и 30 000 (рН 3,9—5,0) у мышей. Усиление синтеза ИЛ-2 способствует поддержанию длительной пролиферации клона антигенспецифических Т-лимфоцитов, продукции интерферона, повышению активности естественных киллеров. Особое значение ИЛ-2 имеет при возникновении цитотоксических лимфоцитов из их предшественников (клетки ОКТ5 и ОКТ8 у людей и  $Ly1^{+}2^{+}$  — у мышей). ИЛ-2 усиливает опосредованное Т-лимфоцитами разрушение опухолей.

В той же мере, в какой антигены МНС I класса определяют пролиферацию Т-киллеров, антигены МНС II класса регулируют взаимодействие Т-клеток с ИЛ-2 [Dialynas D. et al., 1983]. Этот процесс определяется также особенностями Т-клеточного рецептора, в частности, молекула ОКТ3 связана с чувствительностью Т-клеток к разным лимфокинам, особенно к ИЛ-2 [Chang T. et al., 1982], а молекула ОКТ11, напротив, ограничивает взаимодействие Т-киллеров с ИЛ-2 [Palacios R., Martinez-Maza O., 1982]. Высокие дозы ИЛ-2 индуцируют образование лимфоцитов-супрессоров по типу отрицательной обратной связи. У мышей выделен интерлейкин 3, секретируемый Т-клетками без рецепторов к ИЛ-2. Он в качестве положительного сигнала обратной связи стимулирует рост предшественников В-лимфоцитов.

Одним из важнейших медиаторов клеточного иммунитета является МИФ (миграцию ингибирующий фактор), обнаруживаемый по его способности ослаблять положительный хемотаксис макрофагов или полиморфноядерных лейкоцитов в присутствии антигена (рис. 11), к которому сенсibilизированы лимфоциты [Blom V., Bennett V., 1966]. Для проявления действия МИФ достаточно присутствия 1% иммунных лимфоцитов, которые в реакции торможения миграции лейкоцитов — РТМЛ служат эффекторными клетками, а сами лейкоциты — индикаторной системой. Синтез МИФ также определяется антигенами МНС II класса.

Близким к этому лимфокину является фактор, подавляющий прилипание (адгезию) макрофагов или полиморфноядерных лейкоцитов в реакции подавления прилипания лейкоцитов — РППЛ [Halliday W., Miller S., 1972]. Адгезия является неспецифической особен-



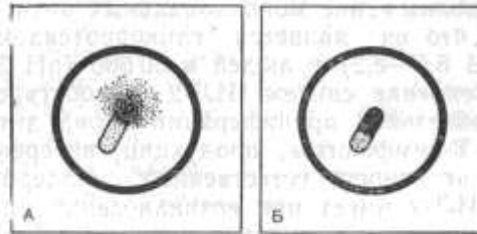


Рис. 11. Схема миграции лейкоцитов (А) и отсутствие миграции (Б) при наличии антигена, к которому имеется сенсibilизация.

ностью макрофагов (их называют поэтому А-клетками), а подавление этой их функции осуществляется взаимодействием антигена с иммунными лимфоцитами. Для проявления действия лимфокина достаточно присутствия всего лишь 3—5% сенсibilизированных лимфоцитов среди лейкоцитов крови.

Почти все медиаторы, а их сейчас насчитывают более 30, были выявлены в модельных опытах *in vitro*, поэтому их названия отражают эффект, регистрируемый при изучении феномена. Так различают факторы, активирующие и супрессирующие лимфоциты и макрофаги; специфический и неспецифический факторы Т-хелперов; специфический и неспецифический факторы Т-супрессоров; фактор переноса; факторы, стимулирующие и супрессирующие антителопродуцирующие клетки; факторы, подавляющие пролиферацию Т-клеток, усиливающие проницаемость сосудистой стенки, стимулирующие образование остеокластов и т. д.

Эту группу растворимых медиаторов иммунной системы называют еще гормонами гомеостаза, они тесно связаны с Iа-генами и являются активными регуляторами силы и качественных особенностей иммунного ответа. Такое же действие оказывают гормоны, вырабатываемые тимусом (тимозин), и продукты метаболизма клеток, инфицированных вирусами (интерферон).

### 1.5. Макрофаги

Более 100 лет назад И. И. Мечниковым была описана фагоцитарная функция лейкоцитов крови. В последующем систему фагоцитарных клеток обозначили ретикулоэндотелиальной, ретикулогистиоцитарной, а в 1969 г. был принят термин «система мононуклеарных фагоци-

тов». В нее были включены промоноциты, моноциты и макрофаги, обладающие активным фагоцитозом и пиноцитозом и прочно прикрепляющиеся к стеклу. Из этой системы были исключены ретикулярные, эндотелиальные клетки и фибробласты.

Самой незрелой клеткой мононуклеарных фагоцитов, которую удается обнаружить, является промоноцит. Она при делении превращается в два моноцита. Стволовые клетки макрофагов — гетерогенны, они содержатся в костном мозге. Моноциты крови составляют подвижный пул относительно незрелых клеток, транспортируемых к тканям, где они превращаются в тканевые макрофаги, обладающие разной пролиферативной потенцией (купферовские клетки печени, альвеолярные макрофаги, гистиоциты соединительной ткани, плевральные, перитонеальные макрофаги и т. д.). С помощью моноклональных антител выявлено разнообразие поверхностных антигенов макрофагов, экспрессия которых может меняться в процессе их пролиферации и дифференцировки. Активность метаболических ферментов и фенотип разных макрофагов зависит от их микроокружения, стадии дифференцировки и модулирующих сигналов. Последние могут исходить из очага воспаления, куда происходит массовая миграция макрофагов.

На поверхности макрофагов имеются Fc-рецепторы к иммуноглобулинам и к комплементу, 80—90% этих клеток несут антигены Ia. Последние активно вырабатываются самой клеткой, а не абсорбируются из окружающей среды. Процесс поглощения частиц антигена мононуклеарными фагоцитами происходит в две фазы: сначала рецепторы клетки прикрепляются к антигену, особенно активно, если он покрыт антителами и комплементом, а затем происходит его поглощение и разрушение с помощью лизосомальных ферментов.

При электронно-микроскопическом изучении макрофагов человека было показано, что промоноциты костного мозга содержат первичные лизосомы в виде гранул вблизи пластинчатого комплекса (аппарата Гольджи), которые затем в более зрелых клетках увеличиваются и приобретают более сложную структуру. Макрофаги, стимулированные антигеном, обладают большим количеством лизосомальных ферментов, последние в этой фазе уже располагаются в самом секреторном пластинчатом комплексе.

Часть макрофагов — фиксированные (альвеолярные, купферовские клетки), обладают только функцией фагоцитоза, они катаболизируют антиген, переводя его в неиммуногенное состояние, и элиминируют из организма. Другая категория клеток — подвижные макрофаги, активно участвуют во взаимодействиях Т- и В-лимфоцитов, при этом большое значение имеет не только непосредственный контакт клеток, но и обмен между ними гуморальными медиаторами. Антиген, переработанный макрофагами, значительно сильнее стимулирует иммунитет, чем нативный антиген.

При смешивании чистых популяций Т- и В-лимфоцитов иммунный ответ на большинство антигенов не возникает, по крайней мере, это касается Т-зависимых антигенов. Иммуногенность антигена зависит от многих его качеств, в том числе и от размера частиц. Но если макрофаги не произвели самостоятельного процессинга и ферментативного разрушения, то вскоре клетка, несущая мелкодисперсный антиген, оказывается окруженной Т-хелперами. Большую роль в этом играет ИЛ-1.

Лимфоциты лучше распознают те антигены, которые полностью не разрушаются лизосомальными ферментами макрофага. Взаимодействие макрофага с Т-хелперами происходит только при совместимости их по МНС-антигенам II класса (Ia-антигены). Стимулированные монокинами Т-хелперы своими рецепторами к Ia-молекулам тесно контактируют с макрофагами. Макрофаг расщепляет антиген, создает комплекс Ia+антиген, а Т-хелперы как бы «снимают» этот отпечаток с его поверхности. В последующем передача информации о комплексе Ia+антиген поступает к Т-киллерам и к В-лимфоцитам. Изоляция макрофагов и лимфоцитов диффузионной мембраной препятствует развитию иммунитета.

Для захвата антигена макрофагами достаточно 5 мин, для стимуляции ими Т-хелперов — 30 мин. Далее следует столь же быстрая передача сигнала В-клетками, включающая каскад дифференцировок этих лимфоцитов в плазматические клетки. Клетки-эффекторы иммунитета, такие как Т-киллеры и плазматические клетки, не содержат Ia-антигенов. Возможно, это зависит от того, что эффекторные клетки являются конечным этапом клеточного развития, а Ia-антиген отражает некую стадию дифференцировки. Возможно также, что комплекс Ia+антиген нужен для того, чтобы включить сиг-

нал к продукции ИЛ-2, клон цитотоксических лимфоцитов и рестрикционные ограничения антигенов МНС I класса.

Кроме посреднической роли, в определенных условиях макрофаги сами могут выступать как цитотоксические элементы, в частности, известен их прямой противоопухолевый эффект [Говалло В. И., 1977]. Макрофаги также самостоятельно синтезируют многие медиаторы (монокины), интерферон, лизоцим, компоненты системы комплемента.

### 1.6. Модельные исследования *in vivo*

Часто для оценки общего иммунного статуса организма или наличия повышенной чувствительности к какому-либо антигену используют не лабораторные тесты *in vitro*, а модельные системы *in vivo*. Наиболее распространенными из них являются трансплантация тканей и клеток, их пассивный перенос, кожные пробы на гиперчувствительность замедленного типа.

Как известно, сингенная трансплантация не сопровождается индукцией трансплантационного иммунитета, как не вызывает РТПХ трансплантация сингенных лимфоидных клеток в облученный организм. Поскольку различают активный и пассивный иммунитет (последний не создается организмом, а искусственно переносится в виде уже готовых антител или иммунных лимфоцитов), трансплантацию лимфоидных клеток называют еще пассивным или адаптивным переносом (адаптивный иммунитет — заимствованный). Говоря о создании активного или пассивного иммунитета к каким-либо белкам, имеют в виду: 1) иммунизацию этим антигеном; 2) пассивный перенос антител или иммунных к этому антигену лимфоцитов (соответственно, пассивный гуморальный или клеточный иммунитет).

При активной иммунизации вырабатывается значительно большее количество антител, чем после пассивного введения иммунной сыворотки, поэтому биологические эффекты активной иммунизации проявляются значительно сильнее и отчетливее.

Алло-трансплантация кожи у мышей, отличающихся по МНС-антигенам I класса, сопровождается отторжением трансплантата через 10—12 сут. Повторная пересадка кожи от донора той же линии приводит к еще более быстрому отторжению кожного лоскута (через

6—8 сут), так как иммунитет к нему уже существует. Ускоренное отторжение второго трансплантата называют вторичной реакцией, когда отторжение кожи происходит через 5—7 сут. Об ускоренной или анамнестической реакции говорят и тогда, когда вследствие повторного введения антигена резко повышается титр гуморальных антител. Особенно сильным вторичным гуморальный ответ бывает тогда, когда первая иммунизация тканевым антигеном (клеточный гомогенат, водный экстракт) проводилась в комплексе с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ). Последний представляет собой водно-масляную суспензию, содержащую убитые туберкулезные бактерии, которые за счет своей липополисахаридной фракции оказывают стимулирующий эффект на В-клетки и пролонгируют всасывание антигена, титр антител при этом значительно возрастает.

Для того чтобы вызвать ускоренное отторжение аллотрансплантата не обязательно прибегать к повторной пересадке, достаточно перед первой трансплантацией иммунизировать животное лимфоидными клетками донора кожи. Тогда и первичный трансплантат, пересаженный на фоне уже имеющейся в организме информации о его МНС-антигенах, отторгается по вторичному или ускоренному типу. В разных случаях эксперимент может включать в себя предварительную иммунизацию и последующую трансплантацию ткани или первичную трансплантацию и последующее введение отдельных клеток того же генотипа, судьба которых прослеживается с помощью хромосомной, флуоресцентной или иной метки.

Исходная реактивность (состояние мобильности иммунокомпетентных клеток в целом) или ГЗТ может оцениваться с помощью кожных проб. Для этого внутрикожно вводят динитрохлорбензол (ДНХБ), туберкулин (PPD), ФГА или другие Т-стимуляторы. Показателем реакции служит воспалительная эритема. Кожные реакции могут быть и специфическими, если применяется антиген, с которым организм уже имел контакт (подкожное введение лимфоцитов, тканевых экстрактов, фракционированных белков). Показателем развития клеточного иммунитета может быть увеличение массы и объема регионарных лимфатических узлов (местная реакция ГЗТ), а гуморального иммунитета — увеличение числа плазматических клеток.

Пассивный перенос сингенных и аллогенных лимфо-

цитов может использоваться и для изучения миграции введенных меченых клеток. В аллогенной системе пассивный перенос лимфоцитов обычно предпринимают после облучения реципиента, в противном случае введенные лимфоциты будут отторгнуты. Если при этом достигается переживание донорских лимфоцитов и со-  
существование их с лимфоидными элементами хозяина, то образуется химера — организм с лимфоцитами разных генотипов. Результатом трансплантации аллогенных лимфоидных клеток в иммунологически обезоруженный (облученный) организм может явиться РТПХ, ее следствием, как правило, является синдром общего истощения животного.

Явлению иммунологической толерантности, восприимчивости к антигенам, впервые полученному в эксперименте в 1953 г. R. Billingham и соавт. и независимо от них М. Наšek, уже давно придавали существенное значение в реакции беременной на аллоантигены плода [Вязов О. Е., Вербицкий М. Ш., 1968; Волкова Л. С., 1970].

Наряду с изначально обсуждавшимся механизмом элиминации «запрещенных» аутореактивных клонов лимфоцитов, сейчас имеются другие теории создания и поддержания толерантности: действие Т-супрессоров, идиотип-антиидиотипическая регуляция, блокирование антигенраспознающих рецепторов Т-клеток, локализация антигена в недоступных для лимфоцитов местах.

В 1957 г. N. Kaliss обнаружил удивительный феномен, названный им феноменом усиления. Сущность феномена заключалась в том, что если животному при трансплантации внутривенно и внутрибрюшинно вводили свежие или лиофилизированные клетки опухоли, несовместимой с организмом по МНС-антигенам, а после этого через 10—12 сут пересаживали опухоль, то опухоль не отторгалась в соответствии с законами трансплантационного иммунитета, а росла и убивала животное (отсюда и название феномена — усиление или облегчение роста трансплантата). Позже выяснилось, что менее демонстративно та же закономерность проявляется и при пересадке не только опухолевых, но и нормальных тканей.

Патогенез феномена усиления связывали с гуморальными антителами, появляющимися после первичной иммунизации, так как феномен воспроизводился

при пассивном переносе сыворотки от иммунизированного животного. Было показано, что внутривенный путь введения антигена более активно стимулирует продукцию антител, нежели клеточный иммунитет (в отличие от подкожной иммунизации), а предсуществующие гуморальные антитела взаимодействуют с МНС-антигенами I класса позже пересаженного трансплантата, делая их неуязвимыми для лимфоцитов-киллеров. Такие антитела и были обнаружены среди подклассов IgG, их назвали усиливающими или облегчающими. В последнее время для объяснения феномена усиления привлекают соображения о продукции блокирующих факторов, не препятствующих образованию цитотоксических лимфоцитов, но подавляющих их взаимодействие с клетками-мишенями.

\* \* \*

Иммунная система млекопитающих работает как саморегулирующаяся система, в которой гены иммунного распознавания кодируют синтез белков и активность лимфоидных клеток, сохраняющих неизменность тех же белков. Суперген этой системы содержит несколько сотен МНС-генов, ответственных за синтез антигенов тканевой совместимости. Последние составляют три класса, из них антигены I класса являются трансплантационными и дифференцировочными, антигены II класса (Ia) определяют взаимодействие иммунокомпетентных клеток, а антигены III класса кодируют факторы комплемента.

T-клетки имеют рецепторы двойной специфичности — к чужеродному X-антигену и антигенам МНС. Специфичность T-клеток к различным продуктам МНС определяет функцию их субпопуляций. Антигены МНС I класса опосредуют литические взаимодействия T-киллеров с антигеном, а антигены II класса — функции T-хелперов, супрессоров, эффекторов ГЗТ, взаимодействия T- и B-клеток. Эволюционным предшественником МНС-генов является локус T/t, расположенный на той же хромосоме. Иммунная система не только определяет невосприимчивость к чужеродным белковым структурам, но и контролирует правильную дифференцировку клеток собственного организма.

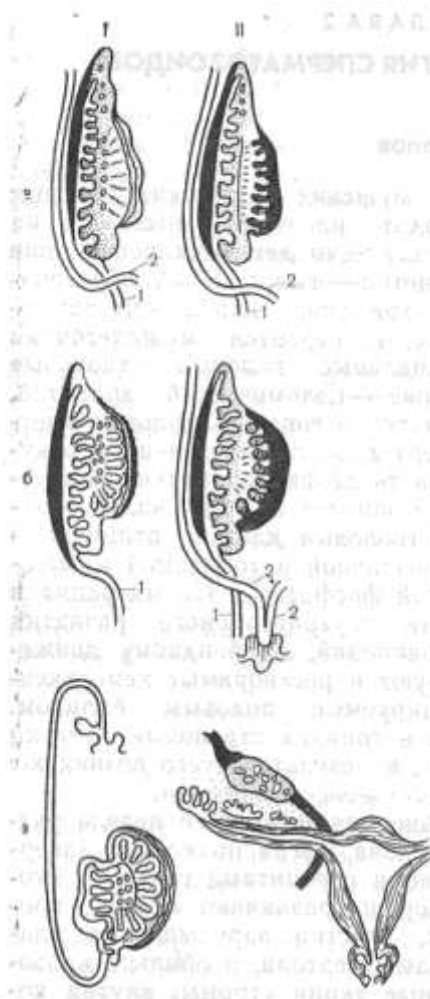
### 2.1. Дифференцировка полов

Самое раннее развитие мужских и женских половых желез — гонад — происходит идентично, несмотря на то что пол эмбриона генетически детерминирован еще при слиянии половых клеток — гамет. В их образовании принимают участие три типа тканей — мезенхимные компоненты, из которых строится межклеточная строма гонад, примордиальные половые стволовые клетки и несколько позже — целомический эпителий, который возникает из выстилки гонад. Стволовые клетки происходят из энтодермы желточного мешка, откуда они мигрируют в область первичной почки, на внутренней стороне которой возникает половой валик — зачаток будущих гонад. Стволовые клетки отличаются крупными размерами, прозрачной цитоплазмой и высокой активностью щелочной фосфатазы. Их миграция в гонады на 3—4-й неделе внутриутробного развития происходит за счет псевдоподий, амебoidalному движению гоноцитов способствуют и растворимые хемотаксические факторы, продуцируемые половым валиком. В ходе миграции и уже в гонадах стволовые клетки активно делятся митозом, в результате чего возникают мужские сперматогонии или женские оогонии.

Мужской пол гонад проявляется к 10-й неделе развития человеческого эмбриона, когда полностью завершается процесс колонизации гоноцитами гонад. К этому времени в них уже хорошо различают активно пролиферирующие гоноциты, участки зародышевого эпителия, образуемые клетками Сертоли, и обильно кровоснабжаемые мезенхиальные ткани стромы, внутри которых накапливаются специфические железистые клетки Лейдига.

Образование мужских гонад стимулируется Y-хромосомой, кодирующей синтез мужского полового антигена (H-Y). Инъекция клеток, несущих H-Y-антиген, женским особям ведет к образованию специфических H-Y-антител. Если такие антитела внести в культуру развивающихся мужских гонад, то их созревание приостанавливается. H-Y-антиген служит важным фактором закладки семенников и ранней экспрессии гетеро-





**Рис. 12.** Схема дифференцировки внутренних половых органов у плодов человека I — мужского пола; II — женского пола, а — на 6-8 неделе; 5, в — на 4-м месяце внутриутробного периода и позже; 1 — парамезонефральный, мюллеров проток; 2 — мезонефральный, вольфов проток.

гаметного (ХУ) мужского пола. Семенные железы эмбриона являются «клавишами мускулинизации», стимулирующими соматическое и фенотипическое созревание мужской особи.

Эндокринная активность яичников не является существенной для половой дифференцировки эмбриона, в то время как семенники или тестикулы активно секретируют гормоны двух типов, в отсутствие которых половая дифференцировка плода происходит лишь по женскому типу. Мезенхимальные интерстициальные элементы семенников (клетки Лейдига) вырабатывают стероидные гормоны —

андрогены, эпителиальные элементы (клетки Сертоли) — гликопротеидный гормон, подавляющий развитие системы мюллеровых каналов, с которыми связаны женские гениталии.

Внутренние половые органы эмбриона в отличие от гонад сразу вступают в дифференцировку по одному из двух альтернативных путей. Один из них, мужской, и связан с мезонефральным — вольфовым протоком, который расположен в области первичной почки, другой — женский, ассоциирован с развитием парамезо-

нефральных — мюллеровых каналов [Кнорре А. Г., 1959, 1971]. У эмбриона женского пола вольфов проток дегенерирует, а мюллеровы каналы развиваются далее в яйцевод, матку, шейку и, возможно, влагалище (рис. 12). Кастрация плода всегда направляет дифференцировку пола по женскому типу, и это доказывает отсутствие влияния яичников на развитие женского полового тракта.

У эмбрионов мужского пола тестикулярные гормоны отклоняют тенденцию к женскому развитию гениталий. Обильно секретируемые яичками андрогены стимулируют развитие вольфова протока, из которого далее возникают семяпроводы. Отсутствие или ослабление продукции андрогенов блокирует развитие упомянутых мужских половых органов и феминизирует организм. Напротив, введение женскому эмбриону андрогенов может сопровождаться развитием мужских внутренних половых органов и внешней мускулинизацией. Другой тестикулярный гормон, как сказано, ингибирует созревание женской системы мюллеровых каналов. Ослабление взаимодействия между гонадами и внутренними и внешними гениталиями может привести к драматической диссоциации между генетическими и фенотипическими проявлениями пола (синдром тестикулярной феминизации и иные патологические состояния).

Таким образом, развитие эндокринных функций эмбриональных семенников очень важно для становления мужского фенотипа. Дальнейшее созревание мужских особей связано с изменением топографии семенников (миграция их в нижнюю область живота) и повышением эндокринной активности, обеспечивающим продукцию спермы. Нарушение процессов миграции семенников может привести к патологическим состояниям (крипторхизм), а недостаточная гормональная активность может вызвать асперматогенез.

## 2.2. Сперматогенез

Сперматогенез начинается еще у эмбриона. У эмбрионов большинства млекопитающих, в том числе и у человека, в первой трети беременности наблюдается временная резкая активация продукции мужского полового гормона — тестостерона, играющего решающую роль в установлении мужского фенотипа. У человека клетки

Лейдига семенников начинают секретировать тестостерон с 8—10-й недели и достигают пика активности к 13—15-й неделе. На этом этапе в семенниках среди хорошо васкуляризованной стромальной ткани содержится много клеток Лейдига и извитых телец, окруженных базальной мембраной, а также клеток Сертоли и зародышевых клеток.

При достижении половой зрелости дремавшие до того зародышевые клетки начинают активно пролиферировать, в клетках Лейдига быстро нарастает секреторная активность, извитые тельца канализируются и превращаются в каналы, клетки Сертоли увеличиваются и подвергаются многочисленным митозам.

Строго говоря, процесс сперматогенеза начинается с образования половых стволовых клеток и их миграции в семенники эмбриона. Там они поначалу подвергаются митотическому делению (интерфаза сперматогенеза), но затем в виде покоящихся сперматогониев долгое время не развиваются, образуя, как бы «долгосрочный резерв» (сперматогонии типа А). При половом созревании эти покоящиеся сперматогонии реактивируются, и наступают следующие этапы сперматогенеза. Активируются не все сперматогонии, а лишь небольшая их часть, в то время как большинство пребывает в покоящемся состоянии (механизм контроля за последовательной активацией сперматогониев неизвестен).

Каждый из активированных сперматогониев подвергается ограниченному числу митотических делений, продуцируя с интервалом 42 ч (число делений характерно для вида) клон почти неотличимых дочерних клеток (сперматогонии типа В). Если бы все сперматогонии вступали бы одновременно в митотический цикл, то пул мужских гамет быстро бы истощился. Восстановление исходной популяции сперматозоидов происходит за счет сложного процесса, в ходе которого часть дочерних сперматогониев не подвергается дальнейшему делению, а сохраняется в виде сперматогониев А. Таким образом, длительная стабильность сперматогенеза обеспечивается, с одной стороны, тем, что не все сперматогонии разом становятся на путь активации, с другой стороны — появлением дочерних покоящихся «стволовых» сперматогониев А. В нужный момент эти покоящиеся сперматогонии вступают в митозы и дают начало новым поколениям клеток, но часть из них остается все теми же сперматогониями А (рис. 13).

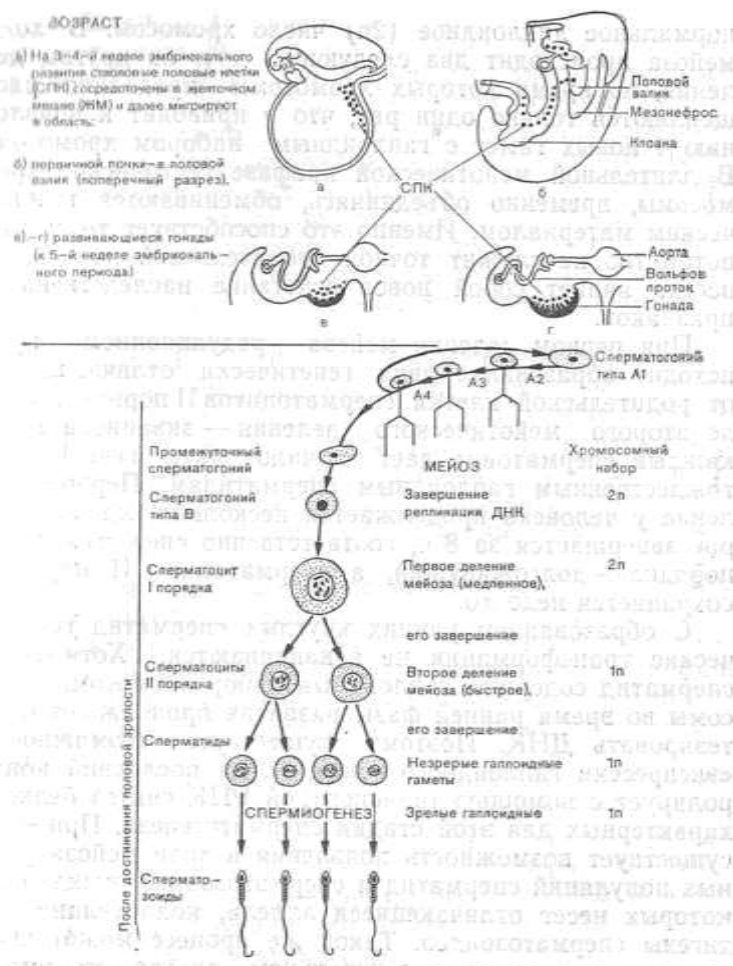


Рис. 13. Схема сперматогенеза.

В ходе пролиферативной фазы сперматогенеза появляются дочерние клетки сперматогониев — В-сперматоциты I порядка. Эти клетки не подвергаются митотическому делению, а проходят мейоз (meiosis — уменьшение). Такое принципиально важное событие необходимо для полового размножения представителей любого вида, ибо только таким путем после оплодотворения в каждом следующем поколении может сохраниться

нормальное диплоидное ( $2n$ ) число хромосом. В ходе мейоза происходит два следующих друг за другом деления, во время которых хромосомы продольно расщепляются только один раз, что и приводит к появлению 4 новых гамет с гаплоидным набором хромосом. В длительной мейотической профазе сестринские хромосомы, временно объединяясь, обмениваются генетическим материалом. Именно это способствует тому, что потомство не служит точной родительской копией, а всегда являет собой новое сочетание наследственных признаков.

При первом делении мейоза — редукционном — происходит образование двух генетически отличающихся от родительской клетки сперматоцитов II порядка. В ходе второго мейотического деления — эквационного — каждый сперматоцит дает начало двум генетически тождественным гаплоидным сперматидам. Первое деление у человека продолжается несколько недель, второе завершается за 8 ч, соответственно сперматоцит I порядка — долгоживущий, а сперматоцит II порядка сохраняется недолго.

С образованием ранних круглых сперматид генетические трансформации не заканчиваются. Хотя ядра сперматид содержат гаплоидный набор хромосом, аутосомы во время ранней фазы развития продолжают синтезировать ДНК. Поэтому существует возможность «экспрессии гаплоидного гена», когда последний контролирует с помощью транспортной РНК синтез белков, характерных для этой стадии сперматогенеза. При этом существует возможность появления в ходе мейоза разных популяций сперматид и сперматозоидов, каждая из которых несет отличающиеся аллели, кодирующие антигены сперматозоидов. Такой же процесс может происходить и в женском генитальном тракте, что имеет следствием местную селекцию генетически и фенотипически гетерогенных сперматозоидов. На этой основе были предприняты попытки разделения X- и Y-несущих сперматозоидов для искусственной селекции пола потомства. Не исключено, что постмейотические эффекты обязаны и цитоплазме, которая в виде узенького мостика может сохраняться и в поздних сперматидах, облегчая их синхронную дифференцировку.

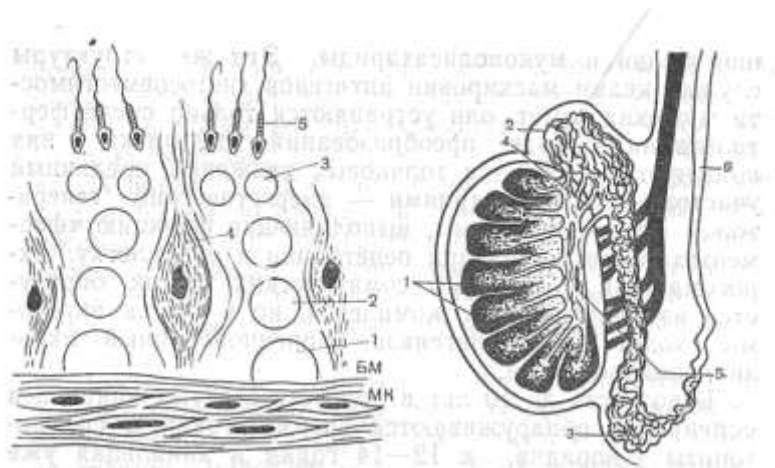
В сперматидах ДНК образует с ядерными белками тесный хроматиновый комплекс, стабилизации которого способствуют спермоспецифические лизинсодержа-

шие белки и мукополисахариды. Эти же структуры служат целям маскировки антигенов гистосовместимости мужских гамет, они устраняются только после фертилизации. В ходе преобразования сперматид у них появляются хвост для толчковых движений, срединный участок с митохондриями — энергетическим генератором клетки, акросомы, выполняющие функцию «ферментативного ножа» при пенетрации в яйцеклетку. Акросома, как и лизосомы соматических клеток, образуется из пластинчатого комплекса, но в состав акросомы входят еще коллагеназа, трипсиноподобный акрозин, гиалуронидаза.

В возрасте до 10 лет в просвете извитых канальцев семенников обнаруживаются сперматогонии и сперматоциты I порядка, к 12—14 годам в канальцах уже изредка встречаются сперматоциты II порядка и часто — сперматиды. К этому же возрасту увеличиваются размеры клеток сертолиева эпителия, придатка семенника, ускоряется рост системы выводящих протоков.

Сперматиды уже не делятся, а после ряда превращений преобразуются в сперматозоиды. Процесс анатомического и функционального созревания сперматозоидов — спермиогенез — является последней стадией сперматогенеза, он завершается в придатках семенников, в семявыносящем протоке и даже в женских половых путях.

В каждом из извитых канальцев яичка имеет место интимная анатомическая связь спермальных элементов (сперматогониев и их потомков) с плазматическими мембранами клеток Сертоли. С периферии этот тесный контакт еще окружает футляр из базальной мембраны, на которой фиксированы клетки зародышевого эпителия, и слоя сократимых миоидных клеток. Этот многоклеточный комплекс определяет два уровня гематотестикулярного барьера, непроницаемого для макромолекул и защищающего отцовский генофонд от действия антител и иммунных лимфоцитов (рис. 14). Этот барьер препятствует также выходу сперматозоидов в те области — вне канальцев, где они могут быть распознаны клетками иммунной системы и стать причиной развития аутоиммунитета. Экспериментально наличие гематотестикулярного барьера было подтверждено тем, что в семенной плазме содержится 2% иммуноглобулинов плазмы крови, а в тубулярной жидкости изви-



**Рис. 14.** Схематическое строение гематотестикулярного барьера.  
МК — миоидные клетки; БМ — базальная мембрана; 1 — сперматогонии; 2 — сперматоциты; 3 — сперматиды; 4 — сертолиевые клетки; 5 — сперматозоиды.

**Рис. 15.** Анатомия семенников.  
1 — семенные каналцы; 2—3 — головка и хвост придатка; 4 — выводные протоки; 5 — сеть яичка; 6 — семявыносящий проток.

тых канальцев лишь 0,2%, к тому же они не обладают свойствами антител.

Сперматогенез происходит в полости извитых канальцев. В клетках Сертоли органеллы и эндоплазматический ретикулум группируются в цитоплазме вблизи головного участка сперматоцитов и сперматид. Важный вклад зародышевого эпителия в сперматогенез иллюстрирует истощение цитоплазмы этих клеток по мере удлинения сперматид. Связь последних с клетками Сертоли постепенно нарушается и сперматиды втягиваются в полость извитых канальцев, где они оказываются в специфической внутриканальцевой жидкости, продуцируемой клетками Сертоли.

Сперматогенез начинается в периферических участках извитых семенных канальцев в многочисленных тестикулярных дольках (150—250 в каждом семеннике). Он продолжается в семенных канальцах, взаимное пересечение которых далее образует густую сеть яичка (рис. 15). Здесь несколько меняется ионный и молекулярный состав тубулярной жидкости. Эти изменения связаны с регуляцией осмотического и онкотического равновесия через стенки канальцев. Отсутствие

в сети тесных контактов между клетками Сертоли делает осуществимыми процессы диффузии и одновременно делает гематотестикулярный барьер в этом месте уязвимым при патологии.

Из сети через 12—18 тонких и коротких выводящих протоков сперматозоиды поступают в головную часть придатка — эпидидимиса, где они морфологически и функционально дозревают, а также повышается их концентрация в объеме жидкости (при поступлении в эпидидимис она составляет  $50 \cdot 10^6$  клеток/мл, при вытекании из придатка —  $50 \cdot 10^8$ ). Вырабатываемые в придатке гликопротеины стабилизируют мембрану сперматозоидов. Здесь же происходит более тесная упаковка ядерного материала, уменьшение цитоплазматических включений, изменения морфологии акросомы и антигенных свойств мембраны. В частности, сперматозоиды приобретают оболочечный антиген, сходный с антигенами женского полового тракта. Созревание сперматозоидов в придатке зависит от андрогенной стимуляции последнего. Дальнейший транспорт компактной массы сперматозоидов определяется мышечной активностью эпидидимиса и семявыносящего протока.

Во время эякуляторной рефлексии при сокращении гладких мышц сперматозоиды из придатка через семявыносящий проток выбрасываются в уретру и только теперь сперматозоиды становятся способными полноценно оплодотворить яйцеклетку, так как во время эякуляции они смешиваются с секретами семенных пузырьков, простаты и добавочных (купферовых) желез, которые обильно продуцируют семенную плазму.

Длительность процесса сперматогенеза — от сперматогония до зрелого сперматозоида неодинакова у разных видов (табл. 2).

Таблица 2. Длительность (в днях) сперматогенеза у самцов разных видов млекопитающих

Млекопитающие	Полный цикл	Цикл в извитых канальцах
Человек	64	16
Бык	56	14
Баран	40	10
Хряк	32	8
Крыса	48	12





Рис. 16. Схема строения сперматозоида.

А — головка; Б — шейка; В — срединная часть; Г — хвост;  
1 — преакросомальная шапочка; 2 — акросома; 3 — ядро;  
4 — жгутик; 5 — митохондриальные фибриллы; 6 — плазматическая мембрана.

Экзогенные гормоны и внешние раздражители не способны существенно повлиять на длительность сперматогенеза. У самцов одних млекопитающих продукция спермы — постоянный процесс на протяжении года, у других млекопитающих (косуль, баранов, морских млекопитающих и др.) сперматогенез имеет сезонные колебания, объясняемые изменением продукции андрогенов. Зрелые сперматозоиды — это братья одной семьи, произошедшие от одинаковых сперматогониев. Но это не идентичные близнецы, так как события во время мейоза обеспечивают их гетерогенность (связанную не только с наличием X- и Y-несущих сперматозоидов). В каждом участке семенника возникает семейный клон этих клеток, развивающийся в разное время.

Сперматозоиды были открыты в 1677 г. А. Левенгуком. Типичный зрелый сперматозоид состоит из головки, шейки и хвоста (рис. 16). Головка может иметь разную форму (шарообразную, коническую, крючкообразную и т. д.), почти весь ее объем занимает ядро, окруженное акросомой. Ферменты акросомы обеспечивают проникновение (пенетрацию) сперматозоида через оболочку яйцеклетки. Задняя сторона ядра ограничена ядерным покровом, который заходит в шейку. Шейка — небольшой отдел, связывающий головку со срединной частью. Срединная часть состоит из жгутика, окруженного спиралью митохондрий. Последние обеспечивают энергией подвижный хвост. Покрывающая его мембрана способна к проведению возбуждения, она регулирует двигательную активность. Хвост заканчивается концевой нитью, в которой жгутик покрыт только цитоплазматическим чехлом. Длина сперматозоида человека около 50 мкм. Нетипичные формы сперматозоидов могут иметь удлиненную форму, быть микро- или макроцефалами, возможны двуголовные формы, перегибы шейки, сперматозоиды могут быть лишены хвоста или, наоборот, иметь их два.

Движения сперматозоидов происходят за счет сокращения жгутика хвоста и добавочных вращений вокруг продольной оси, чем достигается многоосевое их перемещение. Изгибы волнами пробегают по клетке от головы к хвосту, чем ближе к концу, тем больше величина изгиба и меньше скорость движения волны. Головка сперматозоида при его движении вперед может самостоятельно вращаться влево и вправо по отношению к продольной оси, она может совершать вращательные и колебательные движения, при этом угол максимального поворота не превышает  $90^\circ$ . Сперматозоидам свойственно движение против тока жидкости — реотаксис. В среднем скорость движения сперматозоида составляет 2—4 мм/мин.

На всех этапах спермиогенеза в цитоплазме мембраны происходит последовательная смена ферментов и белков, отражающаяся на изменении антигенных свойств сперматозоидов. Отдельные белки присущи только сперматогониям и предмейотическим сперматозоидам, но не более зрелым гаметам. Дифференцировочные белки другого класса на ранних стадиях спермиогенеза бывают включены в состав цитоплазмы, а у поздних сперматид и сперматозоидов они обнаруживаются на поверхностной мембране [Romrell L. et al., 1982].

Фертильность сперматозоидов (их способность оплодотворить яйцеклетку) значительно ослабляют резкие температурные перепады, изменения физико-химических свойств среды их обитания, замораживание и оттаивание. Срок фертильности сперматозоидов у разных млекопитающих варьирует в широких пределах: у мышей он составляет 6 ч, у крыс — 14, у барана и хряка — 48, у кролика — 40, у собаки — 130, у жеребца — 150 ч. Птицы при однократном осеменении продолжают нести оплодотворенные яйца в течение 3 нед. У некоторых видов животных сперматозоиды в естественных условиях могут длительно пребывать в состоянии анабиоза и оплодотворять яйцеклетку через долгий срок; так у летучих мышей анабиоз сперматозоидов может длиться весь зимний период, у отдельных черепах он продолжается до 4 лет, а в половых путях некоторых змей сперматозоиды не теряют фертильности до 6 лет. Сперматозоиды человека сохраняются во влагалище женщины 2,5 ч, а срок их жизнеспособности в матке и трубах обычно не превышает 48 ч.

В эякуляте сперматозоиды суспендированы в семенной плазме, которая является смесью секретов желез мужского репродуктивного тракта. В ней присутствуют белковые и небелковые вещества, ферменты, гормоны, витамины, простагландины. Фруктоза — секрет семенных пузырьков — служит главным источником гликолитической энергии сперматозоидов. Спермин и спермидин наравне с лактаферрином и лизоцимом являются бактериостатическими продуктами семени. Простагландины участвуют в сокращении уретры во время эякуляции и в миграции сперматозоидов. Белки составляют 35—55 мг/мл семенной плазмы, многие из них идентифицированы как сывороточные белки крови. Энзимов в семени больше, чем в сыворотке крови. Сразу после эякуляции сперма коагулирует, а через 20—30 мин происходит ее разжижение. Физиологическая роль этого процесса не вполне ясна. Сперматозоиды абсорбируют из семенной плазмы разнообразные экзогенные белки.

Концентрация сперматозоидов в сперме колеблется от 50 до 170 млн. в 1 мл. Относительная концентрация сперматозоидов в спермальной плазме весьма важна для оплодотворения, стоит ее значительно разбавить, не изменяя при этом абсолютного количества клеток, и сперма утрачивает фертильность. Нормоспермия — объем эякулята 2—5 мл, концентрация сперматозоидов 60 млн. в 1 мл и более, подвижных клеток не менее 70%, патологических форм не более 20%. Патологические изменения могут касаться снижения числа сперматозоидов ниже критического уровня — 10 млн. в 1 мл — олигоспермия, снижение их подвижности — азооспермия. При отсутствии живых сперматозоидов говорят о некроспермии, при отсутствии эякулята — об аспермии, при отсутствии оплодотворяющего действия — об инфертильности. Четкие критерии нормо- и патоспермии и доли их участия в инфертильном браке разработаны Т. И. Устинкиной (1981).

### 2.3. Эндокринная регуляция сперматогенеза

Основной тестикулярный гормон — тестостерон, синтезируемый клетками Лейдига, как и иные мужские половые гормоны — андрогены, относится к классу стероидных гормонов. Последние представляют большую группу гормонов, молекулы которых образуются от общего предшественника стеролов — холестерина. Этот

жирорастворимый липид встраивается в клеточную мембрану и играет важную роль в ее структурной целостности.

Андрогены выполняют следующие основные функции.

1. Индуцируют и поддерживают дифференцировку мужских соматических клеток.

2. Поддерживают сперматогенез.

3. Влияют на вторичные половые органы и признаки (развитие простаты, семенных пузырьков, низкий голос, волосяной покров) и половые особенности поведения.

4. Участвуют в анаболизме белков, соматическом росте, оссификации.

5. Регулируют секрецию гонадотропинов.

Семенники содержат два главных продукта — сперматозоиды, которые несут отцовские гены для эмбриона, и андрогены, необходимые для завершения мускулинизации. Сперматозоиды развиваются в извитых канальцах, а андрогены синтезируются в интерстициальной ткани между канальцами. Эти участки различаются не только морфологически, но и физиологически. У взрослых между ними имеется клеточный барьер, проницаемый только для низкомолекулярных растворимых продуктов. Даже состав жидкости внутри канальцев отличается от экстраклубулярной жидкости, первая обогащена секретами клеток Сертоли, вторая близка по составу к плазме крови.

У человека клетки Лейдига ежедневно секретируют 4—10 мг тестостерона, который быстро всасывается в кровь и лимфу. Некоторое количество тестостерона поступает в межканальцевое пространство семенника и благодаря способности его молекул растворяться в жирах тестостерон проходит через гематотестикулярный барьер. Возможно, что клетки канальцев имеют рецепторы к тестостерону, что облегчает диффузию этого гормона через тканевый барьер. Тестостерон в канальцах частично превращается в более активный андроген — 5 $\alpha$ -дегидротестостерон, который встраивается в рецепторы к андрогенам клеток Сертоли и способствует сперматогенезу.

Удаление гипофиза у взрослых самцов крыс сопровождается уменьшением размеров семенников, нарушением сперматогенеза, инволюцией клеток Лейдига, падением продукции тестостерона, атрофией вторичных

половых органов (простаты, семенных пузырьков). Если гипофизэктомированным животным вводят большие дозы экзогенного тестостерона, то сперматогенез, несмотря на атрофию клеток Лейдига, продолжается. Это иллюстрирует не только ту важную роль, которую выполняет тестостерон в сперматогенезе, но и то, что продукция тестостерона находится под контролем гипофиза.

Если гипофизэктомированным животным вводят не тестостерон, а экстракт из передней доли гипофиза, то в этом случае не страдают существенно не только сперматогенез и вторичные половые железы, но сохраняются в нормальном состоянии и клетки Лейдига. Фракционирование указанного экстракта показало, что ответственным за синтез тестостерона является гликопротеиновый лютеинизирующий гормон — ЛГ. Дальнейшие доказательства роли ЛГ были получены при введении intactным самцам антисыворотки к ЛГ. При введении антител к ЛГ падал уровень тестостерона в плазме крови, прекращался сперматогенез, регрессировали вторичные половые андрогензависимые показатели.

ЛГ специфически стимулирует клетки Лейдига, но не влияет на изолированные канальцы семенника. У гипофизэктомированных и леченных ЛГ животных сперматогенные клетки вступают в мейоз, обнаруживаются и молодые сперматиды, но их превращение в зрелые сперматозоиды затруднено. Для полноценного сперматогенеза требуется наличие и второго гипофизарного гормона — фолликулостимулирующего — ФСГ. Под влиянием ФСГ стимулируются клетки Лейдига, возрастает число рецепторов к андрогенам в клетках Сертоли, усиливается синтез ими тубулярной жидкости. Все это лишний раз подчеркивает участие клеток Сертоли в сперматогенезе.

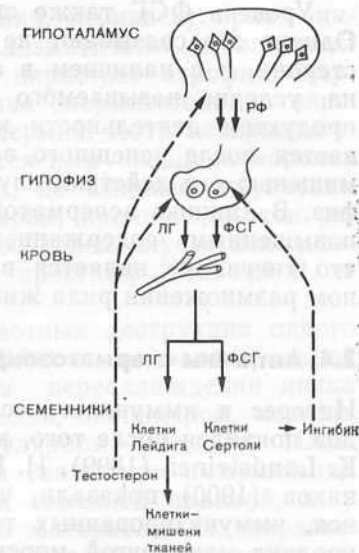
Таким образом, ЛГ активизирует секрецию тестостерона в клетках Лейдига, который необходим как для начальных стадий сперматогенеза, так и для поддержания его цикличности. ФСГ нужен для осуществления многих тестикулярных функций, преимущественно начальных стадий сперматогенеза, для возрастного созревания семенников, при сезонном воспроизведении. Тестостерон оказывает влияние не только на репродуктивные функции, но и на анатомические, физиологические и поведенческие особенности организма. Однако эти

Рис. 17. Схема прямых (—) и обратных (---) связей между гипоталамо-гипофизарными и стероидными гормонами семенников.

гормоны не полностью регулируют нормальное клеточное развитие в рамках сперматогенеза, частоту, с которой сперматогонии вступают в митозы или пространственную координацию между соседними клонами сперматогенных клеток. Эти процессы в большей степени управляются другими внутренними механизмами, в частности, через активность клеток Сертоли.

#### Синтез и секреция ФСГ

и ЛГ в передней доле гипофиза зависит от влияния рилизинг-факторов — РФ, вырабатываемых нейросекретирующими клетками гипоталамуса (см. 5.1). Поступление этого гормона в гипофиз происходит не непрерывно, а с определенными промежутками, отражающими импульсную деятельность нейронов гипоталамуса. Было показано, что не только ЛГ и ФСГ влияют на продукцию и активность андрогенов, но и те по принципу отрицательной обратной связи регулируют синтез гипофизарных гормонов (рис. 17). Иммунизация самцов всех видов животных конъюгатом тестостерона с белком поначалу ведет к кратковременному повышению содержания тестостерона в сыворотке крови, а затем — к резкому его снижению. Одновременно гипофиз начинает усиленно продуцировать ЛГ и ФСГ. За счет резкого нарастания числа клеток Лейдига семенники у самцов гипертрофируются, однако усиленная продукция тестостерона не достигает цели. Циркулирующие антитела связывают свободный тестостерон и препятствуют его взаимодействию с андрогенчувствительными рецепторами гипоталамуса и гипофиза. При дальнейшей иммунизации и полном нарушении обратных связей (в том числе и с надпочечниками) наступает атрофия всех репродуктивных желез и потеря сексуальной активности [Nieschlag E. et al., 1975].



Уровень ФСГ также снижается после кастрации. Однако это связывают не с прямым действием тестостерона, а с наличием в семенниках белкового гормона, условно называемого «ингибином». Он является продуктом деятельности клеток Сертоли и вырабатывается после успешного завершения сперматогенеза, а мишенью его действия служит не гипоталамус, а гипофиз. В клинике асперматогенез обычно сопровождается повышенным содержанием в крови ФСГ. Возможно, что «ингибин» является важным фактором при сезонном размножении ряда животных.

#### 2.4. Антигены сперматозоидов

Интерес к иммунологическим свойствам сперматозоидов появился после того, как независимо друг от друга К. Landsteiner (1899), И. И. Мечников и С. И. Метальников (1900) показали, что сыворотка морских свинок, иммунизированных тканями семенника человека, кролика или другой морской свинки, приобретает способность агглютинировать и лишать подвижности (вызывать иммобилизацию) живых сперматозоидов животных разных видов. В 1909 г. Adler показал, что морские свинки продуцируют антиспермальные антитела также при иммунизации собственными сперматальными элементами. В 1934 г. Lewis обнаружил эффект сильно выраженной антигенной общности между сперматозоидами и мозгом. Позже было выяснено, что сперматозоиды имеют также общие антигены с щитовидной железой, селезенкой, печенью, легкими, почкой, а также некоторыми культивируемыми клетками человека (линии HeLa). Было показано также, что сперматозоиды содержат только им присущие антигены (аутоантигены), антигены, общие с другими клетками (аллоантигены), и антигены, одинаковые у представителей разных видов (ксеноантигены).

**Аутоантигены сперматозоидов.** Наиболее демонстративной моделью изучения таких антигенов является экспериментальный аллергический орхит — ЭАО — аутоиммунный органоспецифический синдром, вызываемый у животных (наиболее отчетливо — у морских свинок) инъекцией аутологических или аллогенных тестикулярных тканей или сперматозоидов в смеси с ПАФ. Иммунный ответ развивается уже через 2—8 нед, когда наступает отек межканальцевой тестикулярной

ткани и зародышевого эпителия, периваскулярная инфильтрация макрофагами, плазматическими клетками и лимфоцитами. Постепенно нарастает атрофия сперматогенных элементов, включая сперматогонии и клетки Сертоли, наступает азооспермия. Хотя асперматогенез легче всего воспроизводится иммунизацией морских свинок (обычно трехкратной), но сходные результаты были получены и у мышей, крыс, кроликов, макак резусов, коров и у людей. В последнем случае использовались добровольцы с раком простаты [Mancini R. et al., 1965].

У экспериментальных животных деструкция одного семенника может вызывать ЭАО в контралатеральной железе, это наблюдается при переохлаждении яичка или обработке его горячей водой, скипидаром, механической травме, внутритестикулярном введении ПАФ. Симптомы ЭАО наблюдаются также при иммунизации экстрактами надпочечников и семенной плазмой, а у морских свинок — антигенным материалом из паратимических желез и мозга. Двусторонняя перевязка семявыводящих протоков также сопровождается у животных развитием ЭАО, особенно если окклюзия сочетается с повторными введениями ПАФ [Tung K., 1980]. Операция перевязки или удаления семявыносящего протока получила название вазэктомии. Впервые на собаках она была апробирована английским хирургом А. Соорег (1823), а Ф. П. Сяницын (1886) предложил ее использовать вместо кастрации для лечения аденомы простаты. После вазэктомии сперматозоиды не находят выхода, наступает спермостаз и дальнейшая резорбция их в придатках. При длительном наблюдении за вазэктомированными обезьянами доказательства ЭАО или асперматогенеза были получены у 87% животных [Alexander N., Tung K., 1979].

Симптомы ЭАО не являются необратимыми. Описаны случаи восстановления фертильности животных через 6 мес после иммунизации. Интересно, что аутоиммунный процесс можно предотвратить или ослабить повторным введением морским свинкам тестикулярных тканей без адьюванта.

На фоне тестикулярных нарушений в крови животных начинают обнаруживаться гуморальные антитела к сперматозоидам, которые выявляются различными лабораторными методами: реакциями спермоагглютинации, спермоиммобилизации, связывания комплексов



та, иммунофлюоресценцией, спермоцитотоксической пробой. С помощью иммунофлюоресценции показано, что антитела локализуются в цитоплазме и акросомной части сперматозоидов.

При иммунизации морских свинок тестикулярной тканью с ПАФ повреждения гематотестикулярного барьера развиваются в области густой сети яичек и выводящих протоков. Именно система выводящих протоков является «слабым местом» гематотестикулярного барьера, отсюда к семенным канальцам проникают лимфоциты, макрофаги и эозинофилы. Вслед за мононуклеарной инфильтрацией у иммунизированных животных появляются циркулирующие антиспермальные антитела, которые вместе с комплементом поражают эпителий извитых канальцев и нарушают все этапы сперматогенеза.

Доказательством того, что именно система выводящих протоков является «мишенью» действия иммунных факторов служит то, что у неполовозрелых животных иммунизация тестикулярной тканью не сопровождается ЭАО. Сперматоциты присутствуют у них лишь в извитых канальцах, они не поступают в сеть яичка, поэтому иммунизация не ведет к ЭАО. Но вслед за поступлением сперматоцитов и сперматид в сеть яичка и далее в выводящие протоки семенника он становится уязвимым к иммунной атаке. Между антигенами сперматозоидов и слюной подчелюстной железы имеются перекрестные реакции. Именно поэтому при паротите эпидемического (свинка) у взрослых в 20% случаев как осложнение болезни возникает орхит. У детей орхит является редким осложнением именно вследствие отсутствия в сети яичек созревающих сперматид.

Последствия иммунизации тестикулярной тканью проявляются в снижении фертильности сперматозоидов или повышенной смертности потомства от иммунизированных животных. У таких животных развивается общий и местный иммунитет к антигенам сперматозоидов. И хотя моделью часто является аллоиммунизация, т. е. иммунизация тестикулярными тканями других животных, аутоиммунный характер ответной реакции очевиден: он направлен против собственных сперматозоидов. Многими исследователями были предприняты попытки выделить и очистить аутоантигены из сперматозоидов, ответственных за развитие ЭАО.

G. Voisin и соавт. (1974) изолировали и охарактер-

ризовали четыре антигена эпидидимальных сперматозоидов морских свинок. Эти антигены, обозначенные как S, T, P и Z, оказались соответственно гликопротеинами, липопротеинами и простыми белками. S-антиген (soluble) в растворимом состоянии вызывал при иммунизации с ПАФ у других животных образование спермаагглютининов и клеточную инфильтрацию в канальцах яичка, области сети и придатке яичка. Этот антиген локализовался в акросомной области сперматид и сперматозоидов. T-антиген, связанный с цитоплазматической мембраной сперматозоидов, при введении с адъювантом вызывал образование всего спектра противоспермальных антител (агглютининов, иммобилизинов, спермоцитотоксинов), вслед за чем также наступала лимфоцитарная инфильтрация. P-антиген (precipitate) также акросомального происхождения, при иммунизации продуцировал синтез комплементсвязывающих антител и клеточную инфильтрацию в яичке. В последней на первом этапе преобладали макрофаги, а на втором — плазматические клетки, тогда же полностью подавлялся сперматогенез. Состояние асперматогенеза, вызванное T- и P-антигенами, удается индуцировать у интактного животного пассивным переносом ему иммунной сыворотки, что указывает на самостоятельное действие антител в деструкции тканей репродуктивного тракта. Антитела к P-антигену *in vitro* вызывают поражение акросомы, но не предотвращают контакта сперматозоида с яйцеклеткой, в то время как антитела к T-антигену активно подавляют взаимодействие гамет [Guinea B., D'Almeida M., 1983]. Локализация и особенности реакции на Z-антиген выяснены недостаточно. Указанные S-, P-, T-антигены, выделенные из сперматозоидов морских свинок, по-видимому, в какой-то мере присущи человеку. По крайней мере анти-S-, -P-, -T-сыворотки агглютинируют сперматозоиды человека, а иммунные сыворотки от бесплодных женщин поражают сперматозоиды морских свинок [D'Almeida M., Voisin G., 1979].

Другие исследователи [Hagopian A. et al., 1975] выделили из сперматозоидов морских свинок три высокоочищенных антигена — GP1, GP2 и AP1, которые в незначительных концентрациях вызывали *in vivo* ЭАО. При иммунофлуоресценции все три антигена оказались локализованными в акросоме, но их биологический эффект не был одинаковым. Антиген GP1 (гликопроте-

ин) абсорбировал из иммунной сыворотки противоспермальные антитела, но в отличие от GP2 и AP1 не вызывал при иммунизации орхита.

Эти наблюдения важны для понимания связи сывороточных антител с иммунопатологией. Растворимые экстракты, содержащие преимущественно поверхностные антигены сперматозоидов, вызывают образование антител и снижают фертильность, в то время как фракции с внутриклеточными антигенами индуцируют антитела, не влияющие на фертильность гамет.

У обезьян пока выделить спермальные антигены, ответственные за развитие ЭАО, не удалось. В уникальном наблюдении на людях, больных раком простаты, которые ожидали орхидэктомии [Mancini R. et al., 1965], после иммунизации их тестикулярными экстрактами с ПАФ в части случаев наблюдали слабо выраженные симптомы ЭАО с невысоким титром антител, положительной кожной реакцией на спермальные антигены и очаговой деструкцией в зародышевых центрах клеток Сертоли. К. Tung (1976) выделил два акросомальных антигена человека Ac1 и Ac2. Оба они были присущи сперматоцитам, сперматидам и сперматозоидам. Антиген Ac1 давал перекрестные реакции с белками микробов и нормальных тканей, а Ac2 был специфичен для сперматозоидов, он напоминал вышеописанный Т-антиген у морских свинок, антитела к которому быстро вызывают асперматогенез.

Механизм действия аутоантител при ЭАО заключается в иммобилизации и повреждении сперматозоидов, повышении специфической фагоцитарной активности макрофагов, предотвращении контакта с яйцеклеткой. Тем не менее, существует много сомнений, что гуморальные антитела сами по себе определяют ЭАО. Так иммунизация тестикулярными антигенами без адъювантов редко вызывала у мышей и кроликов аутоиммунное поражение, для этого требовалось сочетание антигена с ПАФ или с синтетическими стимуляторами, являющимися *in vitro* активаторами иммунных лимфоцитов. Наряду с гуморальным иммунитетом при ЭАО *in vitro* выявляются показатели клеточного иммунитета. В реакции торможения миграции лейкоцитов у морских свинок, иммунизированных экстрактом сперматозоидов с ПАФ, клеточный противоспермальный иммунитет регистрировался уже через 1 нед после инъекции антигена, т. е. задолго до появления морфологи-

ческих признаков ЭАО [Muir V., Turk J., 1979]. Состояние ЭАО поддается пассивному переносу с помощью Т-лимфоцитов иммунизированного животного, но патологические изменения усиливаются при добавлении к Т-лимфоцитам В-клеток и макрофагов [Hiramine Ch., Nojo K., 1983]. У людей аутоиммунные поражения семенников не сопровождаются заметным изменением состава Т- и В-лимфоцитов, как и баланса лимфоцитов-хелперов и супрессоров-ОКТ4/ОКТ8 [Thyphronitis G., 1983], однако усиливается пролиферативная активность лимфоцитов и подавление миграции лейкоцитов в присутствии клеточных и растворимых спермальных антигенов [Dandero F., Lenzi L., 1983].

Разнообразие аутоантигенов сперматозоидов и особенностей иммунного ответа на них, вероятно, связано с наличием разных субпопуляций этих клеток. J. Cohen и D. McNaughton (1974) показали, что у многих видов животных имеется две разновидности сперматозоидов с очевидно разными антигенными свойствами. Малая субпопуляция представлена активно фертильными сперматозоидами, в то время как большинство зрелых клеток нефертильны. Это имеет значение в биологических функциях сперматозоидов, проявляющихся перед оплодотворением. Более четкая градация антигенов и субпопуляций сперматозоидов проводится сейчас с помощью моноклональных антител.

**Аллоантигены сперматозоидов.** Наличие антигенов групп крови (ABO, или, как их иначе обозначают АВН) в сперматозоидах впервые было показано К. Landsteiner и А. Levin (1926). Однако до настоящего времени продолжается дискуссия о том, имеют ли эти клетки антигены АВ0 исходно или они вторично абсорбируют их на своей поверхности из семенной плазмы. Сперматозоиды мужчин 0(Н)-группы крови, инкубированные в семенной плазме донора А-группы, приобретают соответствующий А-антиген. В то же время у лиц с АВ-группой крови найдены сперматозоиды-носители А-антигена и независимо от них — носители В-антигена. Столь же неясен вопрос и о групповых эритроцитарных антигенах систем Rh, MNS и P, наличие которых в семенной плазме очевидно, а на отмытых сперматозоидах сомнительно. Вопрос этот связан с более общими вопросами — несут ли сперматозоиды те антигены, которые были присущи диплоидным предшественникам этих клеток (до мейоза), и в какой мере

сегрегация ДНК в гаплоидном состоянии тормозит активность аллельных генов? Если в отношении одних антигенов (контролируемых локусом T/t) активная функция гаплотипа доказана, это не означает, что в гаплоидном геноме должны проявиться все антигены, даже если они не существенны для фертилизации. Другой практически важный момент связан с тем, что если бы групповые эритроцитарные антигены четко улавливались на сперматозоидах, это позволило бы разделить клетки по Rh(D)-антигену у Rh-гетерозиготных мужчин и провести досрочную профилактику Rh(D)-сенсibilизации.

Серологически определяемые антигены тканевой совместимости комплекса МНС были найдены на сперматозоидах мышей, морских свинок и человека, но пока неясно синтезируются они соответствующими локусами гаплоидной хромосомы или абсорбируются из семенной плазмы [Fellous M. et al., 1976; Erickson R., 1977; Vaiman M. et al., 1978]. МНС-антигены I класса, как и антигены Ia, обнаруживаются на сперматозоидах мышей и крыс на ранних стадиях дифференцировки, но в дальнейшем их экспрессия, особенно антигенов Ia, может снижаться. Söderström K. (1982), Thyphronitis G. et al. (1983) не удалось показать наличия антигенов МНС на сперматозоидах морских свинок.

HLA-антигены были обнаружены и на сперматозоидах человека [Fellous M., Dausset J., 1970; Festenstein H. et al., 1978]. Когда специфические анти-HLA-сыворотки добавляли к сперме донора с соответствующим гаплотипом, то погибало 50% сперматозоидов. На отмытых и замороженных сперматозоидах человека обнаружены HLA серии D, способные стимулировать аллогенные лимфоциты в смешанной культуре [Halim A., Festenstein H., 1975; Erickson R., 1979]. С помощью моноклональных антител обнаружено, что HLA I и II классов содержатся соответственно на 60 и 52% сперматозоидов независимо от их X- или Y-принадлежности [Hedge U. et al., 1983]. HLA-антигены находят и в семенной плазме [Singal D. et al., 1971].

На основании высокой специфичности HLA-антител, экспериментально изучается возможность селективного подавления того гаплотипа сперматозоидов, которые несут гены, ответственные за наследственную патологию. Однако, как и у животных, вопрос о происхождении HLA-антигенов не решен, так как они могут быть

результатом как гаплоидной экспрессии, так и пост-мейотической транскрипции. Некоторые МНС-антигены могут сорбироваться сперматозоидами из семенной плазмы, где содержание антигенов МНС I класса и  $\gamma$ -глобулина выше, чем на сперматозоидах [Zawand H., Bodmer W., 1978].

Независимо от экспрессии МНС-антигенов, общие аллоантигены сперматозоидов и лимфоцитов были обнаружены методами абсорбции сывороточных антител теми и другими клетками [Vojtiškova M., 1969; Matchur S. et al., 1980]. Сенсибилизация к кожному трансплантату *in vivo* может быть экспериментально вызвана у мышей, крыс и морских свинок внутриматочным введением аллогенных сперматозоидов [Beer A., Billingham R., 1974]. Это также вызывает гипертрофию дренирующих матку лимфатических узлов и генерализованный трансплантационный иммунитет к тканям мышей-доноров сперматозоидов. Незначительная примесь лейкоцитов, которые обычно присутствуют в сперме, не имеет при этом существенного значения. Сперматозоиды могут также активно иммунизировать реципиента к тканевым трансплантатам при введении их иным путем — особенно заметно при инъекции в подушечки лап.

H-Y-антиген относится к слабым антигенам тканевой совместимости [Simpson E., 1982], хотя он играет роль первичного индуктора пола потомства [Wachtel S. et al., 1975] и определяет зрелость сперматозоидов [Zaborski P. et al., 1979]. Этот антиген присутствует и в семенной плазме. Антисыворотка к H-Y-антигену лизирует примерно 50% сперматозоидов мышей, а в потомстве при искусственном оплодотворении сперматозоидами, обработанными такой антисывороткой, повышается выход самок. При решении вопроса о происхождении H-Y-антигена были получены доказательства, что для его экспрессии необходимы минимум два гена: один из них локализован в Y-хромосоме (структурный ген H-Y-антигена), второй в X-хромосоме (ген-активатор). Отсюда можно заключить, что Т-клетки и антитела по-разному распознают H-Y-антиген, или же он — комплексная молекула [Wachtel S., Muller V., 1983].

У некоторых линий мышей у самок в ответ на иммунизацию сингенными сперматозоидами развивается трансплантационный иммунитет к коже самцов, включающий генерацию Т-цитотоксических лимфоцитов и

синтез антител. Реакция на H-Y-антиген у чувствительных к нему самок мышей зависит от генов иммунного ответа — I $\mu$ , часть которых располагается внутри H-2-области, а другие — вне ее [Семенов В. Ф., 1979; von Boehmer H. et al., 1979].

Кроме указанных трансплантационных H-антигенов, в постакросомальной области сперматид и сперматозоидов определяют еще и антигены локуса T/t, имеющие важное значение в межгаметных взаимоотношениях и на ранних стадиях эмбрионального развития [Artzt K., Bennet D., 1979; Демин Ю. С., 1982]. У мышей этот локус состоит из серии аллелей, связанных с MHC-комплексом, он, вероятно, является эволюционным предшественником H-2-антигенов, поддерживающим их полиморфизм. T-аллельный антиген +t<sup>12</sup> — общий у мышей и человека, его находят в области акросомы вместе с HLA-антигенами и  $\beta_2$ -микроглобулином [Fellous M. et al., 1976].

T/t-антигены не связаны с аллоантигенами обуславливающими реакцию отторжения, поэтому их относят к числу дифференцировочных или стадиоспецифических (табл. 3). К таким антигенам принадлежит и тератомный антиген F-9 (продукт мутировавшего +t<sup>12</sup>-гена), который выявляется на ранних стадиях сперматогенеза и у эмбриона, а также антигены, общие для сперматозоидов и мозга [Erickson R., 1977]. Значение этих антигенов выяснено не полностью, но особый интерес представляет их связь с MHC. Показано, что у людей сыворотки с агглютинидами против сперматозоидов положительно реагируют с F-9, и они могут являться причиной привычных выкидышей [Gibson S., Menge A., 1983].

Т а б л и ц а 3. Аллоантигены сперматозоидов человека и мышей

Антигены	Человек	Мышь
Групп крови	ABO	H-2K, H-2D
Тканевой совместимости — MHC	I класса HLA-A, -B, -C $\beta_2$ -микроглобулин II класса HLA-D/DR	$\beta_2$ -микроглобулин Ia
Дифференцировочные T/t-антигены	F-9 t-аллели	F-9 t-аллели
Общие с мозгом	—	G <sup>1x</sup> , NS-4, SIKR

С помощью радиоактивной метки  $^{125}\text{I}$  показано, что эпидидимальные сперматозоиды мыши, морских свинок и человека несут Fc-рецепторы к IgG, биологическое значение которых не совсем ясно, возможно эти рецепторы на сперматозоидах способствуют абсорбции молекул антигенов из семенной плазмы.

**Антигены семенной плазмы.** С помощью реакции преципитации в агаре и иммуноэлектрофореза в семенной плазме человека было обнаружено более 30 антигенов. Некоторые из этих антигенов тканеспецифичны: т. е. присущи только семенной плазме (около 10), другие частично характерны для сыворотки крови, молока, слюны, секрета носовых пазух, кишечной жидкости, влагалищной и цервикальной слизи, клеток эндометрия, яичников, почки, печени, а также содержатся в спиртовых вытяжках фаллопиевых труб, желтого тела и мозга. Семенные антигены бывают достаточно полиморфными у одного индивидуума, и в то же время имеется идентичность между тканевыми антигенами у животных разных видов. В семенной плазме присутствуют также аллоантигены систем АВ0, HLA и дифференцировочные антигены. Антигены семенной плазмы могут быть существенно модифицированы бактериями *in vivo* и *in vitro*, а потому способны вызывать антиспермальный аутоиммунитет, приводящий к бесплодию [Chen C., 1979].

В плазме содержится также антиген, который вырабатывается в семенных пузырьках яичка и абсорбируется на эпидидимальных сперматозоидах. Этот антиген, называемый оболочечным, обволакивающим SCA (Spermatozoa Coating Antigen) или скафферрином, защищает сперматозоиды во время их миграции в женском репродуктивном тракте [Некман А., Рүмке Р., 1969]. Считают, что протективный эффект объясняется его сходством с антигенами цервикальной слизи и внутриматочной среды («антигенная мимикрия» сперматозоидов). По антигенным характеристикам скафферрин близок к лактоферрину молока. Процесс утраты сперматозоидами этого антигена в женском половом тракте называется капациацией, что важно для оплодотворения.

Не только SCA, но и другие антигены семенной плазмы абсорбируются на поверхности сперматозоидов. Эти антигены продуцируются не столько семенниками, сколько в семенных пузырьках, простате и добавочных железах. Некоторые из них настолько прочно фиксируются



к мембране сперматозоидов, что их не удастся удалить *in vitro* даже трехкратным отмыванием. Вот почему иногда трудно дифференцировать поверхностные антигены собственно сперматозоидов от антигенов семенной плазмы.

В последние годы появились сомнения, что капаци- тация и удаление SCA-антигена является непременным условием успешного оплодотворения сперматозоидом яйцеклетки. После искусственного оплодотворения яйце- клетки нативными сперматозоидами удается получить нормально развивающуюся беременность. Необходимы дальнейшие исследования биологической роли оболочечных антигенов, так как рядом исследователей было показано, что эякуляторные сперматозоиды значительно полнее абсорбируют из антисыворотки противоспермальные антитела по сравнению с эпидидимальными сперматозоидами [Vokotič M. et al., 1979].

Большинству исследователей не удалось иммуниза- цией аллогенной семенной плазмой вызвать у животных заметного подавления фертильности, хотя при этом иногда отмечалось образование противоспермальных антител. Отсутствие инфертильного эффекта при имму- низации семенной плазмой, по-видимому, связано не столько со слабой иммуногенностью присущих ей ан- тигенов, сколько с иммуносупрессивными ее свойствами.

### **2.5. Антитела к сперматозоидам**

В течение активной сексуальной жизни женский репро- дуктивный аппарат подвергается многократному введе- нию огромного множества генетически чужеродных ко- роткоживущих специализированных клеток — спермато- зоидов. Наряду с ними в сперме содержится небольшая примесь лейкоцитов, а также разнообразные антигены семенной плазмы. По сравнению почти со всеми видами животных, у которых контакт с мужскими гаметами ограничен определенным сезоном, человек (женщина) является своеобразным примером наиболее частой и хронической «иммунизации». Значение такого процесса для фертильности давно уже было предметом дискус- сии. Еще Чарлз Дарвин в «Происхождении человека» (1871) приводил наблюдения о том, что распутный образ жизни у женщин снижает их фертильность.

Иммунологический контроль мужской и женской ин- фертильности, анализ причин бесплодных браков, созда-

ние надежных и безопасных контрацептивных вакцин — все эти практически важные задачи требовали создания относительно простой лабораторной техники обнаружения противоспермальных антител.

Ранний период изучения антиспермального иммунитета был отмечен интересом к спермоагглютинирующим антителам, которые обнаруживались в крови подавляющего большинства женщин, страдающих бесплодием неясной этиологии. Однако далее выяснилось, что человеческая сперма может агглютинироваться в присутствии разнообразных микробных агентов, грибков, стероидов, липопротеинов и даже при смешивании с другой спермой. Положительный результат отмечается иногда у незамужних женщин и мальчиков, не достигших полового созревания. При этом, как правило, наблюдается склеивание клеток по типу «головка к головке». Неспецифический характер этого феномена вызвал затем более осторожную его оценку и побудил исследователей разработать более чувствительные методы оценки спермоагглютинации, основанные на титровании сыворотки и обязательной постановке строгих контролей. Внедрение более специфических методов обнаружения спермоиммобилизинов [Isojima S., 1969] и спермоцитотоксинов [Jeffery W., Parish W., 1972] способствовало появлению большого числа работ по выяснению участия циркулирующих в крови и местных антител в мужской и женской infertility. Было показано, что оба вида антител относятся к классам IgM и IgG и зависят от присутствия комплемента (табл. 4). Поскольку эти антитела действуют вместе (сперматозоиды сначала теряют подвижность, а затем погибают), можно проводить учет обоих серологических эффектов при соединении иммунной сыворотки с живыми сперматозоидами [Hellem H. et al., 1979]. Тесты спермоиммобилизации и спермопептизации цервикальной слизи наилучшим образом отражают наличие и прогноз нарушений фертильности и результат проведенного лечения [Menge A., 1980; Hjort T., Hansen K., 1983]. Для изучения природы антител к сперматозоидам применяют метод непрямой иммунофлюоресценции, в котором используют меченную изотиоцианатом анти-IgG-сыворотку и иммунопероксидазный тест. Последние особо важны при анализе антигенов с помощью высокоспецифичных моноклональных антител к разным участкам сперматозоидов [Isojima S. et al., 1982; Lee C. et al., 1983].

Таблица 4. Связь с инфертильностью результатов тестов, используемых для обнаружения антител к сперматозоидам человека в сыворотке, семенной плазме, цервикальной слизи [по А. Beer и R. Billingham, 1976]

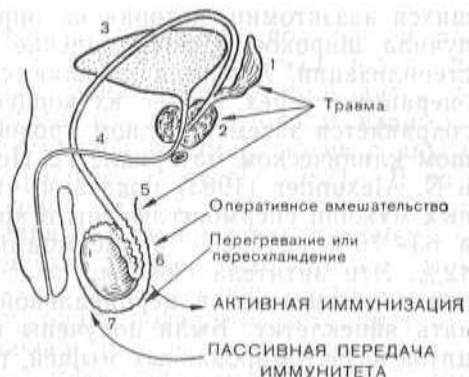
Тесты	Макроагглютинация	Иммобилизация	Микроагглютинация	Имунофлюоресценция
Имуноглобулины	IgG	IgM IgG	IgM IgG	IgM IgG
Ответственный антиген	Клеточная поверхность	SCA	SCA	Хвостовая часть, акросома, центральный сегмент и постядерная шапочка
Комплемент-зависимость	—	+	—	—
Связь с женской стерильностью	35%	18%	38%	?
Положительный ответ в контроле	40%	0%	46%	?
Связь с мужской стерильностью	3,3%	?	?	?
Связь с другими тестами	—	—	—	—

**Естественные антитела.** В значительной мере наличие естественных, т. е. не вызванных иммунизацией антител, взаимодействующих со сперматозоидами, определяется перекрестными реакциями антител другой специфичности. Еще К. Tung (1977) показал, что антитела к самым разным микроорганизмам могут в непрямой иммунофлюоресценции локализоваться на акросомной области сперматозоида; такие антитела встречаются у взрослых мужчин и женщин достаточно часто. Противомикробные кроличьи сыворотки дают перекрестные реакции с углеводным компонентом спермы кролика, быка, обезьян и человека [Sarkar S., Menge A., 1977].

Антитела, направленные против антигенов гладких мышц, также могут в иммунофлюоресценции давать перекрестные реакции с актином, сосредоточенным в постакросомальной области сперматозоидов [Clarke G. et al., 1977]. Такие антитела могут сосуществовать с истинно противоспермальными антителами, но могут и имитировать противосперматозоидную активность при

Рис. 18. Схемы патогенеза антитестикулярного аутоиммунитета.

1 — семенной пузырек; 2 — простата; 3 — мочевой пузырь; 4 — мочеточник; 5 — семяносящий проток; 6 — вилдидимис; 7 — яичко.



отсутствии специфических антител [Jones W. et al., 1981].

Изучение естественных антител к ферментам сперматозоидов, таких как гиалуронидаза и акрозин, были предприняты В. Voetcher (1977, 1983). Антитела к этим веществам в физиологических концентрациях мало влияют на фертильность, хотя антитела к лактатдегидрогеназе-С4, входящей в состав сперматид, обнаруживают у бесплодных женщин. Антитела к акрозину подавляют подвижность сперматозоидов, их проникновение в яйцеклетку, но их действие нейтрализуется брадикинином. Возможно, что естественные антитела являются у фертильных мужчин следствием нарушений проницаемости гематотестикулярного барьера.

Существует предположение, что просачивание какого-то небольшого количества спермальных антигенов через гематотестикулярный барьер недостаточного для формирования аутоиммунитета, имеет физиологическое значение. К. Tung (1980) считает, что такие низкие дозы антигенов индуцируют иммунологическую толерантность к антигенам гамет. Возможно, что тем самым активируются Т-супрессоры [Hurtenback V. et al., 1980]. Очевидно лишь, что аутоиммунные реакции к сперме и ее компонентам формируются только тогда, когда имеет место расстройство иммунорегуляторных механизмов или их генетическое ослабление, а также при механическом нарушении физиологических барьеров. На рис. 18 представлена условная схема развития аутоиммунитета к сперматозоидам.

**Антитела у мужчин.** Особенно активная продукция антител к сперматозоидам наблюдается у лиц, подверг-

шихся вазэктомии, которая на определенном этапе получила широкое распространение как метод мужской стерилизации. Антитела появляются через 3 мес после операции, через 12 мес их концентрация нарастает и сохраняется затем на одном уровне до 5 лет. На большом клиническом материале Н. Helema и соавт. (1979) и N. Alexander (1983) показали, что у вазэктомированных мужчин спермоагглютины в крови обнаруживаются в 63—76% случаев, а спермоиммобилизины — в 37—42%. Эти антитела снижают способность сперматозоидов передвигаться в цервикальной слизи и пенетрировать яйцеклетку. Были получены гибридомы В-лимфоцитов вазэктомированных мышей, продуцирующие антиспермальные моноклональные антитела [Isahakia M. et al., 1983]. Эти антитела в иммунофлюоресценции взаимодействовали преимущественно с акросомальной областью, но некоторые из них фиксировались на срединном участке сперматозоидов (антитела к лактатгидрогеназе — С4). Антитела мышей взаимодействовали со сперматозоидами человека и других млекопитающих. При вазэктомии в клинике антитела, вызывающие склеивание головок и подавляющие движение сперматозоидов, встречались особенно часто у молодых пациентов, склонных к аутоиммунным процессам.

При титровании антиспермальных сывороток было показано, что антитела в титрах до 1:32 не препятствуют фертильности, но в более высокой концентрации антитела могут стать причиной бесплодия. Подавляющее большинство иммунных сывороток с титрами антител выше 1:32 содержало IgG, четверть из них — IgM и лишь в отдельных сыворотках присутствовали IgA [Zanchetta R., Busolo F., 1983].

Циркулирующие антитела у мужчин могут стать причиной азооспермии и олигоспермии [Girgis M. et al., 1979; Rabin B. et al., 1977]. С помощью непрямой иммунофлюоресценции показано, что в семенниках бесплодных мужчин, как и в яичниках инфертильных женщин откладываются аутоиммунные комплексы, включающие IgM, G, A и комплемент — С3 и С4. Эти комплексы обнаруживались на стенках извитых канальцев, в цитоплазме зародышевого эпителия, на сперматидях и сперматозоидах [Donat H., Mogenz J., 1983].

Вопрос о том, могут ли противоспермальные антитела взаимодействовать с другими аллогенными клетками, не до конца ясен. В наблюдениях Н. Law и соавт.

(1979) сыворотка крови от мужчин, полученная через 6 лет после вазэктомии, была направлена только против антигенов сперматозоидов, но не лимфоцитов. Моноклональные антитела к сперматозоидам взаимодействовали иногда с семенной плазмой, но не с другими клетками человека [Mettler L. et al., 1983]. В то же время S. Yang и соавт. (1979), изучившие сыворотки крови вазэктомированных мужчин через 3—6 мес после операции, в большинстве случаев находили в них лимфотоксические антитела, особенно часто к лейкоцитным В-клеткам. Возможно, появление указанных антител связано с наличием на сперматозоидах антигенов типа Ia, общих с В-лимфоцитами и обладающих иммунорегуляторным действием. В этом плане интересным представляется и работа S. Kamidono и соавт. (1980) об ассоциации аллелей HLA-A и антигена BW35 с асперматогенезом. Косвенным указанием на общие детерминанты Т-лимфоцитов и сперматозоидов служат данные о периферическом Т-лимфоците у людей с противоспермальными антителами [Mathur S. et al., 1980].

Несмотря на отсутствие полной аналогии между ЭАО у животных и асперматогенезом у людей, между этими патологическими состояниями имеется много общего. Аутоиммунитет к тестикулярным антигенам возникает при хирургическом вмешательстве или случайной травме, инфекции, проникшей в семенники, простату или добавочные железы, при окклюзии репродуктивного тракта, а также при паротите эпидемическом и других заболеваниях за счет перекрестно реагирующих антигенов. Вследствие хирургического или иммунологического повреждения гематотестикулярного барьера происходит «утечка» антигенов репродуктивного тракта через выводящие каналы и сеть яичка («слабые места» барьера). Вслед за этим «незнакомые» антигены фагоцитируются макрофагами, которые переносят информацию о них в регионарные лимфатические узлы.

Циркулирующие антитела к аутологичным сперматозоидам обнаруживаются приблизительно у 50% вазэктомированных мужчин с активной продукцией спермы. Их образованию способствует послеоперационная гранулема, причиной которой обычно является подтекающая из анастомоза сперма. Даже при наличии антител в кровотоке, их после вазэктомии редко находят в сперме. В ближайшие после операции месяцы они могут там появиться вследствие всасывания из сыворотки,

преимущественно в области простаты. В более поздние сроки локальная продукция антител может происходить в зоне придатка, тогда титры антител в эпидидимальной жидкости и семенной плазме резко возрастают. Повторная вазэктомия активно стимулирует продукцию антител, хотя не исключено, что причиной повторной операции может служить истечение спермы из анастомозов или иное проникновение спермальных антигенов за пределы барьера. В этом случае антигенное раздражение становится хроническим, и эффективность аутоиммунитета возрастает.

Клеточный иммунитет также сопровождает, а, возможно, опережает патологические процессы в мужском репродуктивном тракте.

О. El-Affi и F. Bassili (1970) изучили в культуре лимфоцитов реактивность 126 инфертильных мужчин с азоспермией и олигооспермией. Замороженные и оттаянные сперматозоиды стимулировали усиленный пролиферативный ответ лимфоцитов у 17% пациентов. При механических повреждениях репродуктивного тракта положительный результат отмечался в 38% случаев. При изучении больных с орхитом, возникшим после паротита, R. Mancini, J. Andrada (1971) обнаружили, что деструктивные изменения в семенных канальцах больше коррелируют с динамикой клеточного иммунитета, нежели с ростом гуморальных антител. У людей с аутоиммунными противоспермальными антителами находили сниженный уровень циркулирующих Т-лимфоцитов, что связывали с общностью антигенов [Mathur S. et al., 1980].

Аутоиммунитет к антигенам сперматозоидов может вызывать мужскую инфертильность двумя основными путями: 1) непосредственное цитотоксическое действие антител на сперматозоиды; 2) более постепенное нарушение нормального сперматогенеза с последующим развитием олиго- и аспермии, когда иммунные реакции действуют как вторичные, исподволь усиливающие повреждения семенников, придатка и добавочных желез.

**Антитела у женщин.** Попытки связать иммунологическую регуляцию фертильности с продукцией в женском организме антител к сперматозоидам предпринимались давно, но окончательной ясности в этом вопросе нет и по сегодняшний день. У женщин генитальный тракт, особенно матка, обильно насыщена иммунологически компетентными клетками, которые способны распоз-

навать чужеродный антигенный материал (Т-лимфоциты), фагоцитировать его (макрофаги) и локально продуцировать антитела (В-лимфоциты). Включению этого иммунологического аппарата могут способствовать следующие факторы: 1) огромное количество биологически излишней спермы, поступающей во влагалище (лишь небольшое количество из поступивших сперматозоидов способно достичь фаллопиевой трубы, остальные не имеют необходимого антигенного (SCA ?) прикрытия; 2) сперма стимулирует женский репродуктивный тракт, который осуществляет процесс иммунологической селекции сперматозоидов [Austin C., 1976]; 3) уже в матке большое число сперматозоидов оказывается разрушено внеклеточными ферментами [Katsh S. et al., 1968], что способствует массовому поступлению растворимых и фагоцитированных антигенов мужских гамет в дренирующую матку лимфатические узлы; 4) лимфоциты, присутствующие в сперме, могут способствовать у женщины развитию иммунитета к трансплантационным антигенам мужа.

В экспериментах А. McLaren (1966) продолжительный курс внутрибрюшной иммунизации самок мышей сингенными и аллогенными сперматозоидами без адьюванта сопровождался выработкой спермоагглютининов, уменьшением числа и жизнеспособности потомства. А. McLaren и Е. Bell (1970) установили, что наиболее иммуногенной является смесь антигенов, полученных из разрушенных свежих (но не замороженных) сперматозоидов, с алюмокалиевыми квасцами. Авторы считали, что ответственными за иммунизацию, нарушающую фертильность, являются поверхностные оболочечные антигены сперматозоидов, преимущественно SCA. В отличие от самцов, самки оказываются инфертильными даже после иммунизации очищенной лактатдегидрогеназой-S4, которая вызывает уменьшение потомства у мышей, кроликов, бабуинов [Goldberg E., Wheat T., 1983].

Выработка антител наблюдалась и при внутривлагалищной иммунизации самок сперматозоидами. R. Edwards (1980) отмечал, что общее количество яйцеклеток после иммунизации не меняется, но число оплодотворенных уменьшается соответственно нарастанию концентрации антител к сперматозоидам. Гладкая мускулатура матки имеет повышенную чувствительность к комплексам антигена с антителом, поэтому усиление сократительной деятельности мышц матки у иммуни-



животных нарушает передвижение и имплантацию blastocysts. Предварительная инкубация сперматозоидов в сыворотке самок с противоспермальными антителами подавляет прикрепление их к прозрачной оболочке яйцеклетки и ее пенетрацию. Пассивный перенос антител подавляет фертилизацию у самок мышей и кроликов [Вербицкий М. И., Папазов И. П., 1980].

Было показано, что антиспермальные антитела у мужчин чаще бывают агглютинидами, а у женщин — иммобилизинами [Kay D., Boettcher B., 1983]. Возможно это отражает различие в стимулирующих свойствах антигенов сперматозоидов. Но и спермоиммобилизирующие антитела у женщин имеют гетерогенную природу. Моноклональные антитела, полученные слиянием клеток мышинной миеломы с клетками селезенки мышей, иммунизированных человеческой семенной плазмой, взаимодействовали с эякуляторными, но не с эпидидимальными сперматозоидами. В иммунофлюоресценции этот антиген локализовался в области акросомы эякуляторных сперматозоидов. Когда он с помощью иммуноаффинной хроматографии был изолирован в чистом виде, то оказалось, что это SCA, и около половины стерильных женщин были иммунны к этому антигену [Koyama K. et al., 1983].

Противоспермальные антитела могут повреждать и оплодотворенную яйцеклетку, так как через ее прозрачную оболочку проникают иммуноглобулины классов IgM и IgG [Sellens M., Jenkinson E., 1975]. В зиготе содержатся специфические антигены сперматозоидов, а потому антитела образуют с ними внутриклеточные комплексы, препятствующие нормальной дифференцировке яйцеклетки. Остаточные спермальные антитела сохраняются в матке и после оплодотворения, поэтому иммунные комплексы антител, проникающие из кровотока, и внутриматочно локализованного антигена представляют собой потенциальную опасность, особенно на ранних этапах беременности. Противоспермальные антитела могут также препятствовать взаимодействию гамет из-за блокирования поверхностных рецепторов [Субботин А. Д., Соловьева Н. П., 1980].

В клинике было получено много подтверждений тому, что стойкая женская infertility ассоциируется с циркулирующими в крови антителами типа иммобилизинов и спермоагглютининов [Jones W., 1980; Menge A., 1980]. Однако большее значение придают местным

антителам, которые могут обнаруживаться в женском репродуктивном тракте и при отсутствии циркулирующих противоспермальных антител.

### 2.6. Клеточно-опосредованный иммунитет

С пониманием того факта, что иммунный ответ не бывает ограничен только гуморальными антителами, появилось стремление охарактеризовать и клеточный компонент специфической реактивности при бесплодии. М. Ш. Вербицкий (1977, 1979) наряду с серологическими тестами изучал у бесплодных женщин сенсibilизацию к антигенам сперматозоидов в реакции торможения миграции лейкоцитов и цитотоксического действия лимфоцитов на сперматозоиды. Им, как и другими исследователями [Mettler L., Shirwani D., 1975; Marcus Z., 1976], было показано, что реакции клеточного иммунитета при бесплодии оказываются положительными чаще (66,6—75%), чем при исследовании гуморального иммунитета. Реакции клеточного иммунитета отмечают также у женщин с нормально протекающей беременностью (7%), но всегда отрицательны у девушек. К. Ohama и Т. Kadotani (1969) нашли, что СКЛ между инфертильными партнерами дает более выраженную реакцию бласттрансформации, чем та же проба у фертильных пар, что указывает на повышенную чувствительность лимфоцитов женщин к HLA-антигенам их супругов. А. Tyler и соавт. (1967) изучили одностороннюю реакцию бласттрансформации лимфоцитов женщины по отношению к замороженным и размороженным сперматозоидам мужей. Была отмечена тенденция к усилению ответа лимфоцитов у инфертильных женщин, хотя неоднозначные результаты убеждают в необходимости изучения клеточного иммунитета с помощью очищенных антигенов.

Более четкие данные удалось получить при сингенном переносе лимфоцитов от самок, многократно иммунизированных сперматозоидами, интактным самкам [Tinpeberg H. et al., 1980]. Адаптивный перенос у некоторых линий мышей (С3Н, иммунизированных сперматозоидами С57ВL) приводил не только к снижению плодовитости, но и к усилению кожных реакций ГЗТ к спермальным антигенам. Пассивный перенос ЭАО клетками лимфатических узлов, селезенки и перитонеальной жидкости также вызывал бесплодие у морских свинок, которым сами сперматозоиды не вводили [Hiramine Ch., Hojo K., 1983].

Клеточная сенсibilизация к сперматозоидам является тимусзависимой, так как удаление вилочковой железы (тимуса), но не спленэктомия мышей, снижает интенсивность клеточного иммунитета к сперматозоидам [Roberts T., Lewis E., 1978]. Однако, учитывая локальный характер взаимодействия иммунных факторов с гаметами все же нужно признать, что общие клеточные реакции играют второстепенную реакцию в развитии аутоиммунитета к сперматозоидам.

### **2.7. Иммуносупрессорные свойства спермы**

Сперма обладает, по-видимому, многокомпонентным иммунологическим действием, поскольку наряду с сенсibilизацией она может и угнетать активность аллогенных лимфоцитов. Добавление семенной плазмы (человека или мыши) к культуре лимфоцитов крови или селезенки, стимулированных ФГА, угнетает пролиферативный ответ клеток и синтез в них ДНК [Stites D., Erickson R., 1975]. Таким же действием обладала семенная плазма вазэктомированных мужчин [Marcus Z., Hess F., 1980]. Семенная плазма также подавляет у мышей первичный и вторичный ответ на бычий сывороточный альбумин и тормозит выработку антител против сперматозоидов, если те, будучи отмытыми (для иммунизации контрольных животных), вновь ресуспендировались в плазме [Anderson D., Torter T., 1982]. Семенная плазма человека угнетает розеткообразование Т-лимфоцитами доноров (Е-РОК), бласттрансформацию в СКЛ и рост некоторых опухолевых клеток *in vitro*. При фракционировании семенной плазмы на колонке с сефадексом G-100 супрессорный фактор локализовался в одной из фракций, это был гликопротеин с мол. м. более 100 000 [Marcus Z., Zaccut H., 1982]. Микробная инфекция может нарушать супрессорные свойства семенной плазмы и тем самым повреждать фертильность сперматозоидов [Marcus Z., 1983].

Иммуносупрессивными свойствами обладали живые и убитые сперматозоиды, добавление их в дозе  $10^7$  кл/мл угнетало пролиферативный ответ лимфоцитов человека на ФГА, КонА и реакцию розеткообразования [Marcus Z. et al., 1979]. Возможно, что сами сперматозоиды обладают рецепторами к Т-митогенам и в смеси с лимфоцитами оказывают конкурентное действие. По крайней мере, на сперматозоидах найден рецептор к КонА [Hermann J. et al., 1980]. Общие антигенные детерми-

нанты у Т-лимфоцитов и сперматозоидов косвенно иллюстрируются также тем, что у женщин с противоспермальными антителами в крови снижено число общих Т-клеток, в среднем на 15% по сравнению с фертильными женщинами [Mathur S. et al., 1980]. Антиспермальные и антилимфоцитарные сыворотки одинаково взаимодействовали *in vitro* со сперматозоидами и тимоцитами (в реакциях гемагглютинации, цитотоксическом тесте и непрямой иммунофлуоресценции), абсорбционная способность этих двух видов клеток также давала высокую перекрестную активность, т. е. лимфоциты абсорбировали антитела к сперматозоидам и наоборот.

Сравнительный анализ иммуносупрессивной активности сперматозоидов *in vivo* при введении их самцам и самкам мышей провели J. Teodorczyk-Injean и соавт. (1982). Авторы перевивали подкожно самцам и самкам тератокарциному ОТТ 6050, которая вырастала у реципиентов независимо от пола через 16—23 дня в пальпируемое новообразование. Иммунизация самок сперматозоидами человека вызывала ускорение роста опухоли. Опухоль выявлялась на 5 дней раньше, чем в контроле, где мышью иммунизировали человеческими фибробластами. Иммунизация самцов теми же сперматозоидами оказывала противоположный результат, опухоль развивалась значительно позже, чем в контроле, а у 20% животных не возникла. Аналогичный результат был получен и при иммунизации сингенными сперматозоидами — снижение антибластомной резистентности у самок и подавление роста опухоли у самцов. Полученные результаты показывают, что сперматозоиды при введении их самкам индуцируют *in vivo* состояние иммуносупрессии, в то время как у самцов этого эффекта не наблюдается, и, вероятно, за счет общих антигенов репродуктивного тракта и опухолей у самок ускоряется рост новообразований. Вывод этот нуждается в подтверждении, так как V. Hurtenbach и G. Shearer (1982) показали, что лимфоциты селезенки самцов мышей, иммунизированных сингенными сперматозоидами, развивают сниженную цитотоксическую и естественную киллерную активность, а также слабую пролиферативную реакцию в СКЛ. Более того, лимфоциты от этих мышей подавляли клеточные реакции иммунитета при добавлении их к интактным сингенным лимфоцитам.

Можно думать, что сперматозоиды обладают способностью индуцировать синтез лимфоцитов-супрессо-

ров, концентрация которых в крови при беременности повышается (см. 7.2). В экспериментах на свиньях было показано, что однократная инсеминация самок обуславливает в ближайшие 2 сут выраженную лимфоидную инфильтрацию субэпителиального слоя середины рога матки, но после повторного осеменения такой реакции в эндометрии не наблюдается [Бурков И. А., Трубицина Т. П., 1979]. С другой стороны, семенная плазма содержит разнообразные иммуносупрессивные вещества, которые защищают сперматозонды от отторжения, иммунологического повреждения в репродуктивном женском тракте и предотвращают избыточную сенсibiliзацию самок антигенами сперматозондов.

Очевидно, что такая сложная в антигенном отношении среда, как сперма, вызывает в женском репродуктивном тракте целую гамму иммунорегуляторных процессов, в которых иммуностимуляция сочетается с иммуносупрессией. Последняя определяется как прямым гуморальным эффектом (простагландины, антигены семенной плазмы и сперматозондов), так и ответной клеточной реакцией женского организма (лимфоциты-супрессоры), предотвращающей избыточный иммунный ответ к мужским гаметам и восстанавливающей к ним исходную реактивность в случаях, когда беременность не наступила. Возможно, что именно дефицитом лимфоцитов-супрессоров, важного звена иммунорегуляции, и объясняются многие случаи бесплодия.

Сперматозонды развиваются из зародышевых клеток эндотермы желточного мешка. На стадии сперматоцитов эти клетки претерпевают мейоз, после чего становятся гаплоидными. Сперматогенез, как таковой, начинается в период полового созревания. Он происходит с участием андрогенов (тестостерон), синтез которых находится под контролем гипофизарных гонадотропинов.

Сперматозонды являются аутоантигенными для собственного организма. Иммунизация ими приводит к аллергическому орхиту, сопровождающемуся атрофией сперматогенных клеток. Примерно такие же последствия вызывает перевязка семявыносящего протока — вазэктомия. Сперматозонды имеют много общих антигенов с другими тканями и, в частности, — с мозгом. В организме всегда существует строгая изоляция спер-

матогенных элементов от иммунной системы — гематотестикулярный барьер. Сперматозонды неравноценны по фертильным свойствам и антигенной характеристике.

Сперматозонды несут такие аллоантигены, как АВ0, МНС I и II классов, H-Y, T/t, рецепторы Fc к IgG. Аллоантигены содержатся и в семенной плазме, они могут сорбироваться на мембране сперматозондов. Важнейшим из них является оболочечный — SCA, играющий особую роль при капацитации. Антитела (спермоагглютинины, иммобилизины, цитотоксины) типа IgM и IgG в титрах 1:32 и выше могут быть причиной мужской стерильности. Их образованию способствует вазэктомия, а у женщин — особая чувствительность к спермоаллоантигенам.

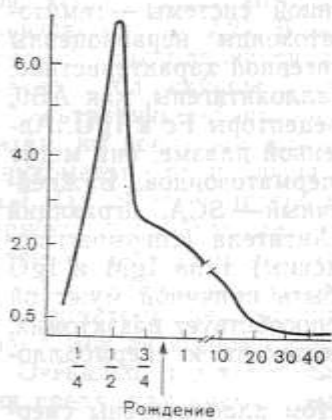
Наряду с гуморальным ответом аллоантигены сперматозондов индуцируют клеточные реакции повышенной чувствительности. Клеточный иммунитет можно перенести пассивно в сингенной системе. Вместе с тем сперма обладает отчетливым иммуносупрессивным действием. Возможно, сперматозонды обладают способностью активировать лимфоциты-супрессоры (их синтез или рецепторный аппарат).

## ГЛАВА 3

### ИММУНОБИОЛОГИЯ ЯЙЦЕКЛОТКОВ

#### 3.1. Оогенез

Образование фетальных яичников из индифферентных генитальных зачатков происходит позже, чем семенников плода. Женский фенотип развивается спонтанно в отсутствие половых гормонов, но только до постнатального периода, когда включается эндокринная активность яичников. Две главные группы стероидных гормонов яичника — эстрогены и прогестерон тесно связаны с созреванием ооцитов, которое у половозрелых женских особей млекопитающих носит циклический характер. Каждый овариаальный цикл состоит из двух периодов: 1) эстрогендоминантный — транспортировка гамет к месту оплодотворения и имплантация оплодотворенного яйца; 2) прогестерондоминантный — подготовка всего женского организма к принятию и выращиванию эмбриона (при успешном оплодотворении). Водоразделом между двумя периодами цикла служит овуляция.



**Рис. 19.** Количество стволовых клеток оогониев в эмбриональном периоде и в течение дальнейшей жизни.

По вертикали — число стволовых клеток (млн.), по горизонтали — возраст (после оплодотворения и после рождения).

т. е. выход ооцита за пределы яичника. Гормональная периодичность оказывает влияние не только на гаметы, но и на многие общие соматические реакции и психическую сферу.

Уже была описана миграция половых стволовых клеток из желточного мешка в первичные гонады и их дальнейшее активное митотическое размножение. Число оогониев уже к половине срока беременности у женского эмбриона достигает 5—7 млн. (рис. 19). Однако у женщин потребность в исходных клетках гаметогенеза не так велика, как у мужчин. После вступления оогониев в мейотическую профазу, число ооцитов I порядка — следующего поколения женских половых клеток, уменьшается, они в множестве подвергаются дегенерации (атрезии). У новорожденной девочки в яичниках содержится 1—2 млн. ооцитов, к периоду полового созревания их остается 50 000—100 000, а в течение всей последующей жизни у женщины полного созревания достигают лишь 400—500 (по одному на каждый менструальный цикл).

Особенностью оогенеза, отличающей его от сперматогенеза, является меньшая митотическая активность оогониев, так как в каждом цикле на путь созревания становятся лишь несколько клеток. Раннее наступление мейоза обеспечивается, по-видимому, растворимыми стимуляторами, высвобождающимися из тканей развивающегося яичника. Если в силу каких-либо причин ооциты, вступившие в мейоз, нет (например, после лучевого поражения), то они не могут возникнуть заново из стволовых клеток, и такая женщина будет стерильной.

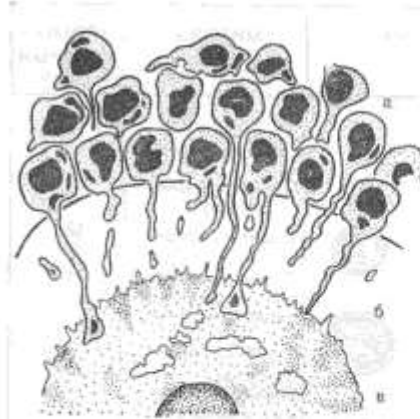
В отличие от сперматоцитов, дающих начало четырем сперматидам, один ооцит может дифференцироваться лишь в одну яйцеклетку (рис. 20). Сперматогенез начинается только после достижения половой зрелости и продолжается в течение всей дальнейшей жизни муж-

ВОЗРАСТ	ЭВОЛЮЦИЯ ФОЛЛИКУЛОВ		МИТОЗЫ, МЕЙОЗ	ХРОМО- СОМНЫЙ НАБОР
Зародышевый период	Фолликулов нет		Оогонии (митоз)	2n
Перед или при рождении	Примордиальные фолликулы		Ооцит I порядка (мейоз)	2n
После рождения	Первичные фолликулы		Ооцит I порядка	2n
После достижения половой зрелости	Вторичные фолликулы		Остановка развития на стадии первого деления	2n
			Ооцит I порядка	2n
	Третичные фолликулы		Завершение первого и начало второго деления	1n
	Овулировавшее яйцо		Ооцит II порядка	1n
	Оплодотворенное яйцо		Завершение второго деления мейоза	1n + сперматозоид

Рис. 20. Схема оогенеза.

чины, в то время как первое мейотическое деление ооцита начинается еще у зародыша, завершается этот мейоз у половозрелых и прекращается оогенез в целом с наступлением менопаузы. Пока неясно, почему между первым и вторым мейотическим делением ооцита проходит столь длительный срок (10—50 лет). Возможно, что фолликулярные клетки, окружающие ооцит I порядка, продуцируют также фактор, подавляющий мейоз. Метаболическая активность ооцита очень низка, он как бы ждет сигнала для дальнейшего своего развития. Сперматоциты значительно меньше сперматогониев, они почти лишены цитоплазмы, синтез РНК в них подавлен. Превращение оогониев в ооциты, напротив, сопровождается увеличением массы последних, усилением синтеза РНК, образованием новых рибосом. Яйцеклетки круп-





**Рис. 21.** Структура прозрачной зоны, окружающей ооцит.

Микроворсинки из слоя гранулезных клеток (а) проникают прозрачную зону (б) и проникают в цитоплазму яйцеклетки (в).

нее ооцитов, они накапливают в цитоплазме питательные вещества и запасают РНК, которые понадобятся будущему зародышу.

В процессе длительного первого мейотического

деления ооцит I порядка оказывается окруженным фолликулярными клетками, которые, как клетки Сертоли для сперматоцитов, способствуют созреванию ооцита и снабжению его питательными веществами.

В то время, пока ооцит расширяется, окружающие его зернистые гранулезные клетки делятся и дают начало нескольким тонким слоям, секретирующим гликопротеиновый субстрат. Последний образует прозрачную зону — ПЗ (*zona pellucida*) между ооцитом и гранулезными клетками (рис. 21). Контакт с ооцитом осуществляется через цитоплазматические мостики, которые пронизывают ПЗ. Такие же мостики возникают и между соседними гранулезными клетками, способствуя становлению густой сети межклеточных коммуникаций. Клетки стромы яичника начинают собираться на мембране, образуя в ходе развития фолликула капсулу из веретенообразных клеток — теку (рис. 22).

Начало и развитие первой фолликулярной стадии — становления первичного (примордиального) фолликула происходит независимо от каких-либо внешних сигналов. Гипофизэктомия не влияет на эту фазу. Однако в конце ее происходит важное событие — клетки гранулезного слоя приобретают рецепторы к эстрогенам и ФСГ, а клетки текальной капсулы — рецепторы к ЛГ. В следующей стадии антральный фолликул развивается под контролем гипофизарных гормонов.

К периоду полового созревания метаболические процессы в фолликулярном эпителии становятся более активными. Гранулезные и текальные клетки пролиферируют, что ведет к увеличению размеров фолликула. Сам

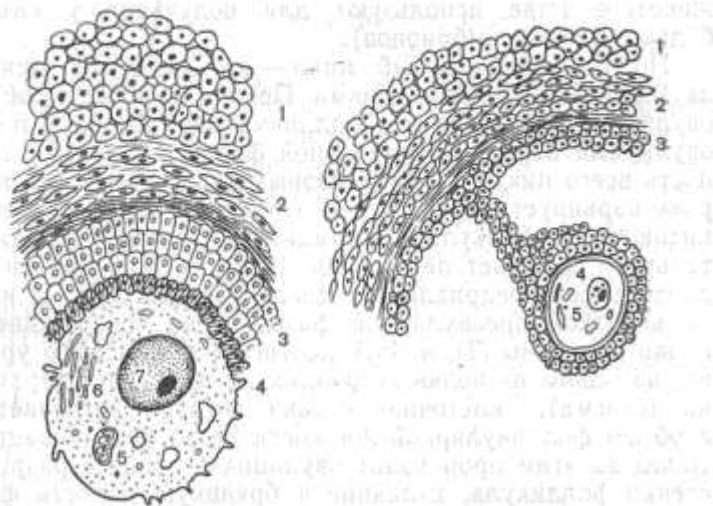


Рис. 22. Схема строения преантрального фолликула.

1 — наружный соединительнотканый текальный слой; 2 — внутренний текальный слой; 3 — слой гранулезных клеток; 4 — прозрачная зона; 5 — яйцеклетка; 6 — митохондрии; 7 — пластинчатый комплекс; 8 — ядро.

Рис. 23. Схема строения антрального фолликула.

ооцит пока существенно не изменяется, он окружен плотной массой гранулезных клеток, с которыми связан толстым стеблем. Текальные клетки делятся на два слоя — внутренний, имеющий железистое строение и наружный — соединительнотканый. Между ними начинает скапливаться вязкая фолликулярная жидкость, содержащая сывороточный трансудат и мукополисахаридные секреты гранулезных клеток. Эта жидкость образует полость, и ее постепенное накопление придает фолликулу вид пузыря. Такой фолликул называют вторичным, или антральным (рис. 23), находящийся в нем ооцит еще не претерпел второго мейотического деления.

Во время каждого овариального цикла в яичниках человека развивается несколько фолликулов (15—20), единицы из них достигают к середине цикла больших размеров (до 8 мм в диаметре) и лишь один становится зрелым третичным фолликулом, диаметр которого к концу развития равен 2—3 см (граафов пузырек). Число одновременно созревающих фолликулов варьирует у разных видов, оно может быть увеличено дополнительным введением экзогенных ФСГ и ЛГ (такой прием в

животноводстве используют для получения у самок большего числа эмбрионов).

Полный овариаальный цикл — это интервал между двумя успешными овуляциями. Период предшествующий овуляции часто называют фолликулярной фазой, а пост-овулярный период — лютеальной фазой. Продолжительность всего цикла у самок разных видов животных широко варьирует. У женщин в отличие от многих млекопитающих фолликулярная стадия достаточно продолжительна и занимает первые 10—14 сут в зависимости от длительности овариаального цикла (24—32 сут). В конце короткой преовулярной фазы, когда содержание в крови женщины ЛГ и ФСГ достигает наивысшего уровня, на одном из полюсов фолликула выступает верхушка (стигма), клеточная стенка которой истончается, а объем фолликулярной жидкости резко увеличивается. Вслед за этим происходит овуляция — процесс разрыва стенки фолликула, излияние в брюшную полость фолликулярной жидкости, а вместе с ней и ооцита. Для овуляции имеют значение не только механическое давление жидкости изнутри фолликула, но и локальное действие на стенку фолликула литических ферментов (стимуляция ЛГ). Продолжающаяся продукция ЛГ побуждает развитие на месте опустошенного овариаального фолликула желтого тела, продуцирующего эстрогенные гормоны и прогестерон.

События, связанные с превращением ооцита I порядка в ооцит II порядка, обладающего уже гаплоидным набором хромосом, происходит под влиянием ЛГ и продуктов фолликулярной деятельности. Они наступают либо непосредственно перед овуляцией, либо уже в фаллопиевой трубе, поскольку развитие ооцитов продолжается вплоть до оплодотворения. Продукция протеинов в гаплоидном ооците включает и синтез качественно новых белков, готовящих его к фертилизации. Процесс созревания яйцеклетки (овулировавшего ооцита) побуждается внутренними факторами и зависит от наличия прогестерона.

Цитоплазма зрелой яйцеклетки содержит многочисленные включения, митохондрии, развитый пластинчатый комплекс. Размеры клетки варьируют по диаметру от 100 до 150 мкм. Снаружи яйцеклетка покрыта ПЗ, которая формируется, как было сказано, на стадии первичного ооцита, она играет важную роль в фертилизации яйца. Эта оболочка обладает большой эластично-

стью, что позволяет клетке менять форму и размеры, она утолщается по мере развития ооцита. ПЗ обеспечивает первичную защиту яйцеклетки и оплодотворенного яйца еще до образования трофобласта, так как она непроницаема для клеток и растворимых макромолекул. Особо важна протективная функция ПЗ в тех случаях, когда материнский организм уже исходно сенсибилизирован к отцовским аллоантигенам. Наличие этой зоны обязано выживанием оплодотворенное яйцо, перенесенное в эксперименте из репродуктивного тракта в иное место, например, под капсулу почки, где оно претерпевает несколько этапов дальнейшего развития.

Считают, что ПЗ имеет двойное происхождение, ее наружная часть, состоящая из кислых мукополисахаридов, секретируется фолликулярными клетками, а внутренняя зона, состоящая из нейтральных мукополисахаридов, образуется позже ооцитом. Здесь следует обратить внимание на то, что субстанции (мукополисахариды и сиаловые кислоты) в функциональном отношении часто выступают в качестве иммунологически буферных или защитных (протективных) зон. Мукополисахариды и сиаловые кислоты принимают также большое участие в предохранении клеток плода от иммунной атаки, когда они принимают участие в создании фибриноидного слоя трофобласта.

На поверхности ПЗ существуют видоспецифические рецепторы, позволяющие яйцеклетке взаимодействовать только с аллогенными сперматозоидами. Пенетрация ПЗ одним сперматозоидом приводит к развитию «зональной реакции», предотвращающей проникновение в яйцеклетку других сперматозоидов, и тем самым делает невозможной полиспермию.

Еще в фолликуле яйцеклетка бывает окружена радиально расположенными клетками фолликулярного эпителия, которые в числе 3000—4000 (лучистый венец — *corona radiata*) на одно яйцо сохраняются и после овуляции. Слой фолликулярных клеток вокруг яйцеклетки повышает вероятность ее оплодотворения.

Интервал между овуляцией и фертилизацией у женщин варьирует в широких пределах (12—24 ч).

### **3.2. Эндокринная регуляция оогенеза**

После прохождения фолликулов через первую гормонально-независимую фазу их последующая судьба определяется тонизирующими эндокринными влияниями.

Значительная часть первичных фолликулов подвергается инволюции, атрезии, что связано с низкой продукцией гонадотропных гормонов или недостаточной прочностью защитных оболочек. После гибели ооцита клетки фолликула поглощаются макрофагами и происходит фиброзное рубцевание. Атрезия фолликулов, характерная для гипопизэктомированных животных, предотвращается введением ФСГ и ЛГ.

Во время следующей короткой антральной фазы роста фолликулов, для успешного завершения которой нужен высокий уровень ФСГ и ЛГ, без которого антральные фолликулы тоже погибают, наблюдается устойчивое повышение синтеза андрогенов (тестостерона и андротестостерона) и эстрогенов (преимущественно  $17\beta$ -эстрадиола и эстрона). По мере роста фолликула концентрация эстрогенов в крови возрастает и увеличивается связь фолликула со стероидами, циркулирующими в крови. Продукция стероидов находится под контролем гипофизарных гонадотропинов, каждый из которых оказывает влияние на различные участки внутри фолликула, которые имеют к нему специфические рецепторы. Гранулезные клетки фолликулов взаимодействуют с ФСГ, а клетки внутреннего текального слоя — с ЛГ. Под влиянием последнего культивируемые *in vitro* текальные клетки на ранних стадиях антральной фазы синтезируют андрогены. Гранулезные клетки сами не вырабатывают андрогенов, но под их влиянием они с помощью набора ферментов способны ароматизировать андрогены в эстрогены. Этому процессу также способствует ФСГ. Эстрогены, кроме системного действия (см. 5.1), повышают чувствительность фолликулярных клеток к ЛГ.

Следовательно, андрогены, обеспечивающие развитие фолликулов, продуцируются исключительно текальными клетками, а синтез эстрогенов обеспечивается двумя путями.

Один связан с тем, что гранулезные клетки способствуют превращению андрогенов в эстрогены, другой — с синтезом эстрогенов *de novo* в тех же текальных клетках на поздних стадиях антральной фазы. Вероятно, антральные фолликулы выделяют эстрогены в фолликулярную жидкость. Кроме системного действия, оказываемого всасывающимися в кровь стероидами, последние могут оказывать и местное действие, способствуя увеличению размеров фолликула. Эстрогены

участвуют в созревании цитоплазматических рецепторов гранулезных клеток и по принципу положительной обратной связи стимулируют пролиферативную активность и синтез еще большего числа рецепторов к эстрогенам. Совместное действие эстрогенов с ФСГ имеет решающее значение для появления в наружных гранулезных клетках рецепторов к ЛГ, которые очень важны для успешного перехода фолликула в преовуляторную стадию. Этому предшествует временное значительное повышение уровня ЛГ в крови и усиление продукции овариальных стероидов — андрогенов и эстрогенов.

Под влиянием ЛГ достигается окончательное развитие фолликулярных клеток и ооцита, изгнание последнего из фолликула и изменение эндокринного фона, необходимого для формирования из опустевшего фолликула желтого тела. ЛГ накапливается в ооците, стимулирует мейотическое и цитоплазматическое его созревание и переход в стадию ооцита II порядка. При мейотическом делении к вторичному ооциту переходит половина хромосом и почти вся цитоплазма. Остатки хромосом поступают в маленький резервуар цитоплазмы — полярное тельце, которое в дальнейшем погибает. После этого мейоз по неясным причинам замедляется. Под влиянием ЛГ фолликулярные клетки продуцируют низкомолекулярные белки, один из которых нейтрализует в фолликулярной жидкости действие фактора, подавляющего мейоз, а другой фактор способствует созреванию ооцита.

В конце преовуляторной фазы фолликулярные клетки уже не чувствительны к андрогенам и эстрогенам, а синтезируют прогестерон. Эта приобретенная способность продуцировать прогестерон под влиянием ЛГ, особенно выраженная у человека, развивается за несколько часов до овуляции.

После овуляции фолликул превращается в желтое тело. Текальные клетки распределены в элементах стромы, а гранулезные клетки делятся и гипертрофируются. Они становятся богатыми митохондриями, гладким эндоплазматическим ретикулумом, липидами, каротиноидным пигментом и лютеином, которые придают желтому телу желтый или оранжевый цвет.

Описанные изменения, называемые еще лютеинизацией, связывают с устойчивым повышением продукции клетками желтого тела стероидного гормона — прогестерона, готовящего организм женщины к беременности.

Прогестерон способствует подготовке матки к имплантации эмбриона, стимулирует миометрий, способствует росту молочных желез, оказывает влияние на секрецию гонадотропинов и на общий катаболизм.

Наряду с ЛГ, необходимым для становления желтого тела, в этой стадии оказывается нужен и другой гипофизарный гормон — лютеотропный (пролактин). Рецепторы к этому гормону развиваются на гранулезных клетках фолликула еще в преовуляторной фазе. Этот гормон, как и иные гонадотропины, продуцируемые передней долей гипофиза, стимулирует развитие желтого тела, молочных желез, а у самцов потенцирует действие андрогенов. Наряду с прогестероном и пролактином желтое тело секретирует также эстрогены, особенно  $17\beta$ -эстрадиол. Источником эстрогенов могут быть пострадавшие, но не исчезнувшие окончательно текальные клетки фолликула.

Существование желтого тела без фертилизации яйцеклетки продолжается недолго — 2—14 сут. Его involюция сопровождается разрушением лютеинсодержащих гранулезных клеток, резким падением продукции прогестерона, нарастающей клеточной гибелью и ишемией. На его месте в яичнике остается белесоватый рубец. Лизис лютеальных клеток, по-видимому, стимулируется гуморальным фактором, продуцирующимся в маточном эндометрии, так как в эксперименте удаление матки у животных продлевает срок существования желтого тела. Не последнюю роль в лютеолизисе играют и простагландины, типа  $F_{2a}$ . К этому процессу могут иметь отношение и эстрогены, продуцируемые желтым телом в первые несколько дней, их инъекция женщинам после овуляции сокращает срок развития желтого тела.

В ходе овариального цикла развиваются разнообразные положительные и отрицательные обратные связи между стероидами и гонадотропинами. Цикл начинается в 1-й день после менструации на фоне падения содержания в крови прогестерона и лютеальных эстрогенов. Антральная фаза развития фолликулов уже совпадает с повышением уровня ФСГ и ЛГ. В середине этой фазы в крови нарастает концентрация фолликулярных эстрогенов и андрогенов. На фоне «эстрадиоловой волны» падает уровень ФСГ. В преовуляторной фазе содержание ФСГ и особенно ЛГ снова заметно нарастает, что приводит к овуляции. Уровень эстрадиола после этого круто падает, а прогестерона начинает расти.

Вторая, лютеальная, фаза характеризуется повышенной концентрацией в плазме прогестерона и лютеальных эстрогенов. Содержание ФСГ и ЛГ при этом снижено. Самый их низкий уровень связан с отрицательной обратной связью с эстрадиолом, действие которого усиливается прогестероном. Далее при отсутствии беременности уровень эстрогенов и прогестерона снижается, а концентрация в крови ФСГ и ЛГ начинает расти. Возникают примордиальные фолликулы и начинается новый цикл.

Эстрогены и прогестерон могут вызывать повышение и снижение продукции гонадотропных гормонов за счет прямых и обратных отрицательных связей с высшими регуляторными органами — гипоталамусом и гипофизом (см. 5.1). Эффект их при этом на разных этапах неодинаков. Иммунизация самок мышей, обезьян и овец эстрогенами с белковым носителем вызывала повышение содержания в крови ЛГ и ФСГ и вследствие этого — гиперсекрецию эстрогенов. Яичники у иммунизированных животных были гиперплазированы, овариальный цикл нарушался (увеличивался), овуляция отсутствовала [Ferin M. et al., 1975; Cox R. et al., 1976; Mortencz N. et al., 1979]. Эти изменения, как и при иммунизации самцов тестостероном (см. 2.3), были следствием нарушений процессов обратной отрицательной связи яичников с гипоталамо-гипофизарной системой. Иммунизация обезьян прогестероном не сказывалась на длительности овариального цикла и овуляции [Schwarz U. et al., 1975].

### **3.3. Антигены яичников и фолликулярной жидкости**

Многими авторами было показано, что иммунизацией неочищенными антигенами водно-солевого экстракта из тканей яичника в ксеногенной системе может быть получена антисыворотка, введение которой вызывает донорспецифическое нарушение фертилизации у мышей, крыс и морских свинок. Антитела к тканям яичника абсорбируются другими нормальными тканями, такими как селезенка, печень, почка, плазма крови, т. е. в основной массе они не являются органоспецифическими. Активная иммунизация неочищенным экстрактом яичника также вызывает инфертильность в аллогенной системе. При абсорбции и фракционировании антисыворотки в ней были обнаружены антитела к разным антигенам овариального происхождения. Некоторые из по-



следних были присущи всем тканям яичника, другие — только ПЗ [Sacco A., Shivers C., 1973]. Воздействие антисывороткой к овариальным тканям на яйцеклетку сопровождалось образованием на ее поверхности преципитата, предотвращающего пенетрацию сперматозоидов. Если такой сывороткой обрабатывали оплодотворенную яйцеклетку, то подавлялась имплантация при переносе ее гормонально подготовленным (псевдобеременным) животным [Dudkewich A. et al., 1975].

Фолликулярная жидкость, близкая по составу к плазме крови, омывает созревший ооцит в фолликуле и сопровождает его во время овуляции и транспортировки в яйцевод. Было показано, что в фолликулярной жидкости содержится низкомолекулярный белок мол. м. 2000, оказывающий тормозящий эффект на созревание ооцита [Tsafiri A. et al., 1978]. Все 10 антигенов, выделенных из фолликулярной жидкости свиней и коров, оказались присущими и сыворотке крови. По-видимому, фолликулярная жидкость оказывает преимущественно протективное действие по отношению к ооциту, контролирует его развитие, но не участвует в репродуктивных реакциях.

#### 3.4. Антигены яйцеклеток

Антигенный спектр неоплодотворенных яйцеклеток изучен относительно мало. Как и сперматозонды, ооциты несут на своей плазматической мембране комплекс макромолекул — специфических рецепторов, в состав которых входят лектины [Solter D., 1977], а также многочисленные ферменты.

Данные об экспрессии антигенов тканевой совместимости на неоплодотворенных яйцеклетках достаточно противоречивы. Дискуссия велась о том, выявляются ли на мышинных ооцитах антигены МНС I класса или это антигены серии Ia (МНС II класса). Позже S. Neuper и R. Hunziker (1981) использовали для анализа моноклональные гибридомные антитела против антигенов мышей — H-2K и Ia. С помощью непрямой иммуофлюоресценции было показано, что ооциты мышей всех исследованных линий не содержат Ia-антигенов, но молекулы H-2K и H-2D на них присутствуют. Возможно, еще более активно, чем H-2, на мышинных ооцитах экспрессированы слабые антигены тканевой совместимости и антигены T/t-локуса. На фертилизованной яйцеклет-

ке мышей H-2-антигены представлены более заметно [Billington W., 1978].

Некоторыми исследователями были отмечены перекрестные реакции между яйцеклеткой мышей и тератомным антигеном локуса T/t-F-9 [Edidin M., Gooding L., 1975], а также между ооцитами и мозгом [Solter D., Schahner M., 1976].

Хотя сыворотки, полученные после иммобилизации кроликов яйцеклетками мышей, лишенных ПЗ, не обладали антифертильным действием, но все же инкубация сперматозоидов в такой сыворотке угнетала их фертильность [Tsunoda Y., Sugie T., 1977, 1979]. Это указывает на наличие общих антигенов между яйцеклеткой и сперматозоидами. Данное предположение получило подтверждение и в наблюдениях *in vivo*: иммунизация самцов мышей аллогенными яйцеклетками, лишенными ПЗ, резко снижала их плодовитость. Такие антисыворотки давали перекрестные реакции с антигенами простатической жидкости и эпидидимальными сперматозоидами. Перекрестная антигенность может быть частично связана с сократительными белками — актином и миозином, присутствующими в относительно большом количестве в созревающих ооцитах (их концентрация снижается перед овуляцией) и постакросомальной области сперматозоидов [Clark G. et al., 1977].

### 3.5. Антигены прозрачной зоны

Внешняя прозрачная зона (оболочка) — ПЗ яйцеклетки выполняет ряд важных биологических функций, из которых нужно отметить следующие: а) защита фолликулярных ооцитов; б) связывание сперматозоидов в начальной стадии фертилизации; в) предупреждение полиспермии; г) осмотическая регуляция яйцеклетки и развивающегося эмбриона; д) ограничение и защита яйцеклетки и эмбриона в яйцевом и матке; е) участие в начальных стадиях имплантации.

Большинство исследований антигенов ПЗ было проведено с неочищенными экстрактами тканей яичника. Антитела, полученные в ксеногенной системе, взаимодействовали преимущественно с ПЗ, что было подтверждено в многочисленных экспериментах на животных и в наблюдениях на людях [Sacco A., 1977]. Иммунизация очищенными экстрактами ПЗ мышей позволила получить антисыворотки с резко выраженным *in vitro*

антифертильным действием [Tsunoda Y., 1977; Aitken R., Richardson D., 1980].

Антитела, реагирующие с ПЗ, полученные при ксеногенной иммунизации тканями яичников или очищенными экстрактами ПЗ, имеют высокую межвидовую перекрестную активность. Это относится к антисывороткам, полученным от грызунов [Shivers C., 1977], свиней [Palm V. et al., 1979; Tsunoda V., Sugie T., 1979], людей [Sacco A., 1977]. Особо выраженные перекрестные антигены были найдены между ПЗ свиней и человека. F(ab')<sub>2</sub>-фрагменты сыворотки кроликов, иммунизированных экстрактами ПЗ свиньи или человека, после абсорбции сывороток соответственно человеческими или свиными тканями (клетками печени, плазмой крови, фолликулярной жидкостью) сходным образом реагировали затем в реакциях непрямо́й иммунофлюоресценции и преципитации [Sacco A., 1978]. Эта работа дала новый стимул для клинико-иммунологической оценки роли антител к ПЗ у инфертильных женщин, поскольку получение в необходимом количестве яйцеклеток человека связано с техническими трудностями.

Очищенный антиген, полученный в растворимом состоянии из ПЗ свиней и человека, оказался гликопротеином с мол.м. около 100 000. Из 30 000 свиных яйцеклеток удалось получить его в лиофилизированном состоянии лишь 30 мг [Noda Y. et al., 1980]. Другие исследователи считают, что тканеспецифическая иммуногенность ПЗ связана с тремя гликопротеинами с мол.м. от 40 000 до 120 000 [Yurewicz E. et al., 1983].

Были получены непря́мые доказательства того, что антигены ПЗ обладают строгой тканевой и относительной видовой специфичностью. После введения хомячкам меченных изотопами ксеногенных сывороток с антителами к ПЗ наибольшая концентрация и медленное выведение отмечалось именно в яичниках [Yanagimachi R. et al., 1976]. Следствием такой пассивной иммунизации была преходящая инфертильность, не связанная с поражением других органов и изменением сексуального поведения животных. Н. Hasebe и соавт. (1983) исследовали кроличью антисыворотку к ПЗ свиней, которая после очистки на колонке с сефадексом содержала антитела в титре 1:64 000. Никакие солевые растворы из тканей и органов 50 свиней, 40 обезьян и 30 людей с этими антителами не взаимодействовали, исключая фолликулярные ткани и яйцеклетки. То же самое под-

твердили с помощью моноклональных антител к ПЗ S. Isojima и соавт. (1983).

Видовая специфичность антигенов ПЗ была постулирована в ранней работе A. Sacco и C. Shivers (1973). Однако, в некоторых случаях тканевая специфичность превышает межвидовые отличия. Так перекрестные антигены, помимо ранее упомянутых у человека и свиньи, были показаны между ПЗ мышей, крыс и хомячков [Tsunoda Y., Chang M., 1976], мышей, хомячков, белых обезьян и макак резус [Gwatkin R. et al., 1977], кроликов, коров, мартышек, макак и человека [Gwatkin R., Williams D., 1978], зеленых мартышек, яванских макак и человека [Вербицкий М. Ш. и др., 1980].

Несмотря на выраженные перекрестные реакции между антигенами ПЗ человека и свиньи, они не являются полностью тождественными. ПЗ человека содержит три различных антигена: один — специфичен только для ПЗ человека; другой — общий для ПЗ человека и свиньи; третий — связан с субстанциями крови [Takai I. et al., 1980]. С помощью моноклональных антител было найдено два общих и несколько различных антигенов ПЗ свиней и человека [Kamado M. et al., 1983]. Т. Moriguchi и соавт. (1979) отметили значительное снижение перекрестных реакций в иммунофлюоресценции после абсорбции человеческой антисыворотки к ПЗ аллогенными и свиными эритроцитами. Это объяснялось тем, что геммагглютинины сыворотки человека не реагировали с яйцеклетками свиней, но взаимодействовали с ПЗ человеческих яйцеклеток. Абсорбцию человеческой антисыворотки к ПЗ эритроцитами свиней рекомендовали как обязательное условие выявления антител к ПЗ в этой системе. F. Dakhno и соавт. (1980) нашли, что степень абсорбции неодинакова при использовании разных свиных эритроцитов, что указывает на наличие определенных аллоспецифических детерминант в ПЗ. Антисыворотки к ПЗ человека могут быть загрязнены антителами к микробам.

При иммунизации свиньи яйцеклетками могут быть получены антисыворотки, дающие выраженные реакции против свиных эритроцитов и почти не взаимодействующие с яйцеклетками человека [Sacco A., Moghissi K., 1979]. Моноклональные антитела к свиной ПЗ, продуцируемые гибридомами, принадлежали к классам иммуноглобулинов IgM и IgG2, и соответствующие антитела к ПЗ человека содержались только в фракции IgG

[Isojima S. et al., 1983]. Из сказанного следует, что оптимальным условием для обнаружения антигенов ПЗ человека является использование в иммунологических тестах человеческих яйцеклеток.

Очевидно, что на поверхности ПЗ существуют рецепторы к сперматозоидам, обладающие видовой специфичностью. Экспозиция сперматозоидов в растворимой фракции ПЗ снижает их способность прикрепляться к ПЗ и оплодотворять яйцеклетки [Gwatkin R., Williams D., 1977; Isojima S. et al., 1983]. Сперматозоиды человека не прикрепляются к яйцеклеткам свиньи [Tounson A. et al., 1980], коровы [Gwatkin R., 1979] или человекообразных обезьян [Bedford M., 1977]. Эти высокоавидные рецепторы имеют белково-углеводную природу, их дальнейшее изучение важно для конструирования антифертильных вакцин.

### **3.6. Антитела к прозрачной зоне**

Антитела, полученные иммунизацией животных ксеногенными ооцитами, как и моноклональные антитела, получаемые слиянием клеток селезенки иммунизированных мышей с миеломными клетками, чаще всего определяют методом непрямой иммуофлюоресценции. Антитела к ПЗ можно исследовать также в реакции преципитации на поверхности ПЗ, подавления переваривания ПЗ трипсином и папаином, в тесте торможения пенетрации сперматозоидов через ПЗ яйцеклеток (табл. 5). Антитела к антигенам ПЗ блокируют процесс прикрепления сперматозоидов к ПЗ и последующую их пенетрацию через эту зону. Кроме того, действие антител к ПЗ может проявляться в агглютинации яйцеклеток с ненарушенной ПЗ, в предотвращении редукции яйцеклетки агентами, которые обычно эффективно растворяют ПЗ, в торможении разделения элементов предимплантационной бластоцисты [Shivers C., 1977; Tsunoda Y. et al., 1979].

На мышах и крысах была показана возможность фиксации комплемента в присутствии антител к ПЗ [Aitken R., Richardson D., 1980], но доказательства цитотоксического эффекта этих антител *in vitro* получить не удалось. Предпринимались также попытки количественного определения антител к ПЗ радиоиммунологическим методом [Palm V. et al., 1979; Hasebe M. et al., 1983].

Таблица 5. Подавление фертилизации in vitro ксеногенными антителами к ПЗ [по W. Jones, 1982]

Животные	Источник антигена	Устойчивость к переработке	Наличие преципитата	Оплодотворение яйцеклетки контроль/опыт, %	Исследователи
Хомячки	Яичник хомячка	+	+	48/0	C. Shivers и соавт., 1972
	То же	+	+	100/0	A. Garavagno и соавт., 1974
	» »	+	+	100/0	T. Oikawa и R. Yanagimachi, 1975
	ПЗ хомячка	+	—	—	R. Gwatkin и соавт., 1977
Мыши	Яичник мыши	+	+	100/0	F. Jilek и A. Pavlok, 1975
	ПЗ мыши	+	+	63/0	Y. Tsunoda и T. Sugie, 1977
Крысы	Яичник крысы	—	—	56/7	Y. Tsunoda и M. Chang, 1976
Мартышки	Яичник мартышки	—	+	+ <sup>1</sup>	C. Shivers и соавт., 1978

<sup>1</sup> Много сперматозоидов прикрепились в контроле к обработанным нормальной ксеногенной сывороткой яйцеклеткам и не прикрепились после обработки яйцеклетки иммунной сывороткой с антителами к ПЗ.

Группой исследователей под руководством И. И. Соколовской (1977) была проведена большая работа по изучению взаимодействия антител к ПЗ. Методом прямой флуоресценции было показано, что антитела к ПЗ формировали на поверхности ооцитов плотный преципитат, делающий ПЗ устойчивой к обработке протеолитическими ферментами — трипсином и папанном. Антигены ПЗ при этом были видоспецифическими, антисыворотка к ооцитам коров взаимодействовала с ооцитами других копытных (крупный рогатый скот, свиньи), но не реагировала с ооцитами грызунов.

Пассивная иммунизация, как это было показано многими исследователями (табл. 6), эффективно предупреждает фертильность у животных, получивших ксеногенную сыворотку с антителами к ПЗ. В большинстве этих работ животные получали антисыворотку либо до, либо сразу после искусственной инсеминации, затем они были забиты, а яйцеклетки получены путем промыва-

Т а б л и ц а 6. Результаты пассивной иммунизации животных антителами к ПЗ [по W. Jones, 1982]

Животные, получившие инъекции	Источник антигена	Метод определения антигена	Оплодотворение яйцеклеток контрол./опыт, %	Длительность действия (дни)	Исследователи
Мыши	Яичник мыши	Преципитация ПЗ	97/0	—	F. Jilek и A. Pavlok (1975)
	То же	То же	100/0	30	Y. Tsunoda и M. Chang (1976)
	ПЗ мыши	» »	79/0	—	Y. Tsunoda и T. Sugie (1977)
Хомячки	Яичник хомячка	» »	100/0	—	T. Oikawa и R. Yagimachi (1975)
	То же	Радиоактивный йод	100/0	28	Y. Tsunoda и M. Chang (1976)
	» »	Преципитация ПЗ	92/0	—	Y. Tsunoda и M. Chang (1976)
Крысы	Яичник крысы	—	75/4	—	C. Schivers и соавт. (1978)
Мартышки	Человек <sup>1</sup>	Иммунофлюоресценция	—	19	

<sup>1</sup> Мартышки получили инъекцию сыворотки от инфертильных женщины с аутоантителами к ПЗ. Антитела были обнаружены на яйцеклетках через 19 сут после иммунизации.

ния яйцеводов и исследованы иммунологически. Наиболее эффективным оказался внутрибрюшинный путь введения антисыворотки, но инфертильность можно было получить подкожным и внутримышечным введением антител [Tsunoda Y., Sugie T., 1979]. В отдельных случаях инфертильность продолжалась 30 сут после однократного введения антисыворотки.

Пассивно введенные антитела достигают яйцеклетки через фолликулярную жидкость, яйцевод и матку. Контакт антител с яичниковыми ооцитами или яйцеклетками в яйцеводе подавляет прикрепление к ним сперматозоидов [Hirohisa K., 1983]. Полная ксеногенная антисыворотка к ПЗ, ее  $\gamma$ -глобулиновая фракция, бивалентный IgG и F(ab')<sub>2</sub>-антитела подавляли фертильность у мышей, свиней и коров, но моновалентные антитела (Fab) не оказывали такого действия. 8-Клеточный эмбрион был относительно устойчив к действию

IgG-антисыворотки, а после имплантации введение антител к ПЗ не влияло ни на жизнеспособность плодов, ни на распределение полов [Tsunoda Y., Sugie T., 1983].

Пассивное введение антител к ПЗ действует непродолжительно, спустя короткий срок у таких животных возобновляется репродуктивный цикл, включающий овуляцию и успешное скрещивание. Механизм афертильного действия пассивно введенных антител состоит в подавлении прикрепления сперматозоидов к ПЗ и пенетрации через нее, т. е. в нарушении поверхностного рецепторного аппарата яйцеклетки. Вместе со спермопенетрацией нарушается микропиноцитоз из плазмы в яйцеклетку (нарушается трофическая функция), а также угнетается способность яйцеклетки продуцировать растворимый фактор, способствующий миграции к ней сперматозоидов и их активации.

На основании непродолжительности антифертильного иммунитета, вызванного пассивно введенными антителами к ПЗ, Т. Oikawa (1978) полагает, что полностью окруженными ПЗ бывают лишь ооциты II порядка. Именно они и оказываются пораженными антисывороткой к антигенам ПЗ, в то время как формирующиеся ооциты не страдают и после овуляции вполне фертильны. Ликвидация последствий пассивной иммунизации, таким образом, зависит от сроков созревания вторичных ооцитов и овуляции, которые неодинаковы у животных разных видов. А. Sacco (1978) таким способом удалось прогнозировать сроки восстановления полноценной репродукции у иммунизированных самок.

Принципиально сходный механизм наблюдается и при активной иммунизации животных экстрактами аллогенных и ксеногенных яйцеклеток. Аллоантигены ПЗ — слабоиммуногенны. У мышей, крыс и хомяков иммунизация этим материалом без адьюванта не повреждает существенно репродуктивности [Tsunoda Y., Chang M., 1976; Gwatkin R. et al., 1977]. Применение ксеноантигенов ПЗ, дающих перекрестные межвидовые реакции, вызывает выраженное антифертильное действие, сходное с таковым при пассивной иммунизации. Продолжительность инфертильности в этом случае больше, она длится от 3 до 10 мес, в течение которых в крови иммунизированных животных циркулируют антитела. Когда титры антител снижаются, явления инфертильности проходят, и животные могут принести здоровое потомство [Aitken R., Richardson D., 1980].



При иммунизации макак растворимым материалом ПЗ свиней уже через 6 нед возникают антитела, высокий титр которых в крови держится не менее 8 мес. На этом фоне менструация и продукция эстрогенов отсутствовали. Беременность оказывалась возможной только после снижения концентрации антител. При гистологическом исследовании яичников была выявлена атрезия всех фолликулов [Gulyas B. et al., 1983]. Такие же результаты были получены другими исследователями на бабуинах и мартышках, при введении ПЗ свиней с ПАФ. Большая ценность такого подхода к искусственному подавлению фертильности состоит в том, что материал для иммунизации в неограниченном количестве может быть доставлен с бойни. Однако перед исследователями стоит задача получения более очищенного антигена, не влияющего на менструальный цикл и фолликулярные ткани.

C. Shivers и B. Dunbar (1977) первыми обнаружили у бесплодных женщин антитела к антигенам ПЗ и поставили вопрос о значении аутоиммунных реакций в инфертильности. Антитела к ПЗ чаще присутствовали в высоких титрах у бесплодных женщин, реже в контрольных группах [Dakhno F. et al., 1980]. Однако в дальнейшем было получено много доказательств того, что аллоантитела, которые в отличие от ксеногенных антител к ПЗ редко встречаются в высоком титре, сами по себе не определяют нарушения репродуктивных процессов. Данные специальной литературы по этому вопросу достаточно разноречивы. К. Hirohisa (1983) обнаружил антитела к ПЗ у 30% инфертильных женщин, у 33% фертильных женщин и у 30% мужчин, а в наблюдениях М. Kigachi и соавт. (1984) антитела к ПЗ свиней в одинаковом титре присутствуют у бесплодных и фертильных женщин, а также у мужчин. N. Rote и соавт. (1983), напротив, считают, что аутоантитела к ПЗ в невысоких титрах служат специфическим индикатором инфертильности и хронических спонтанных аборт.

Действие антител к ПЗ на ооциты и оплодотворенную яйцеклетку существенно различается, так как последняя имеет больше протективных аутоиммунных механизмов. Лимфоцитарная инфильтрация вокруг ооцитов, обработанных проназой, наблюдается уже через 24 ч [Searle R. et al., 1974], а еще через некоторое время ооциты становятся мишенью действия цитотоксических лимфоцитов [Heupel S. et al., 1969]. Здесь уместно

вспомнить и экспериментальные наблюдения D. Kirby (1969) о способности оплодотворенной яйцеклетки, даже лишенной ПЗ, длительно выживать у аллогенных сенсibilизированных самок. Устойчивым к действию аутоантител является и ооцит II порядка, окруженный ПЗ.

При анализе роли гуморальных антител к ПЗ сейчас исходят лишь из количественных показателей. В то же время есть основания думать, что антитела к ПЗ имеют и качественные различия. В. Dunbar и В. Raynor (1980) показали, что антитела к интактной ПЗ и растворимой ее фракции распознают разные детерминанты. Несмотря на неокончательно выясненную роль аутоантител в бесплодии, все же точно известно, что длительная иммунизация самок экстрактами механически или ферментативно изолированной ксеногенной ПЗ снижает плодовитость потомства. Вместе со спермопентрацией нарушается микроцицитоз белков из окружающих жидкостей в ооцит, нарушается трофика яйцеклетки, последняя не выделяет фактор, способствующий миграции к ней сперматозоидов. Этот процесс можно пассивно передать интактной самке с помощью антисыворотки к ПЗ [Папазов И. П. и др., 1980].

Клеточный иммунитет против ооцитов и, в частности, антигенов ПЗ исследован недостаточно.

### **3.7. Полиэндокринные аутоиммунные реакции**

Существуют доказательства того, что яичники, будучи тесно связанными с другими эндокринными органами, становятся мишенью поражения при системных аутоиммунных заболеваниях органов, продуцирующих стероидные гормоны. Патологические изменения надпочечников, щитовидной и паращитовидной желез могут вызывать появление аутоантител, взаимодействующих с клетками овариальных фолликулов и желтого тела. Это наблюдается, например, при адиссоновой болезни [Irvin W., Barnes C., 1974] или сахарном диабете [Van Camperhout J. et al., 1973]. В специальной литературе имеются указания о сестрах с явлениями гипопаратиреоидоза и синдрома Хашимото, у которых циркулировали в крови антитела к фолликулярным клеткам. Следствием последнего, по-видимому, являлись первично и вторично развившаяся аменоррея и сексуальный инфантилизм [Vazques A., Kenny F., 1973]. Генетически обус-

ловленный дефект в этих случаях может ассоциироваться с дефицитом Т-супрессорных лимфоцитов.

Хронический кандидоз также связан с полиэндокринным аутоиммунным синдромом, поскольку у таких больных, кроме овариальных расстройств, обнаруживаются аутоантитела к тканям яичников, к клеткам вилочковой железы (тимуса) и Т-лимфоцитам крови [Mathur S. et al., 1980]. Такие аутоантитела направлены преимущественно против Т-хелперов, что нарушает все процессы иммунорегуляции. Для понимания взаимодействия иммунной системы и репродуктивных функций необходимо учитывать влияние вилочковой железы на эндокринный статус яичника (см. главу 5). Первичные овариальные дисгенезии, связанные с хромосомными аберрациями, также часто ассоциируются с аутоиммунитетом. У таких пациенток в крови обнаруживаются антитела, особенно часто направленные против клеток щитовидной железы [Fialkow P., 1967; Daniach D. et al., 1968]. Интересно, что при некоторых генетически детерминированных формах недостаточности яичников (синдром Турнера) созревание последних в эмбриогенезе не нарушается, но после рождения не развиваются примордиальные фолликулы.

Иногда яичники оказываются вовлеченными в паротит эпидемический, хотя и не так демонстративно, как мужские семенные железы. В редких случаях осложнения паротита распространяются и на надпочечники. Эти клинические наблюдения подтверждаются и экспериментальными данными о наличии перекрестных реакций между антигенами разных эндокринных органов. У крольчих, иммунизированных тканевыми экстрактами надпочечников, развиваются патологические изменения в яичниках. Антитела к овариальным тканям, возникающие после иммунизации экстрактами яичников, удается абсорбировать соматическими клетками без примеси клеток эндокринных органов, что указывает на наличие общих антигенов в тканях репродуктивного тракта и других органов [Sacco A., Shivers C., 1973; Tsunoda Y., Chang M., 1977].

\* \* \*

Яйцеклетка развивается из ооцита, который в ходе мейоза становится гаплоидной клеткой. Оогенез начинается еще до наступления полового созревания и прерывается с менопаузой. Процесс созревания яйцеклет-

ки в овариальном фолликуле находится под строгим контролем гонадотропных гормонов (преимущественно фолликулостимулирующего и лютеинизирующего), он протекает с активным участием стероидных гормонов (эстрогенов, андрогенов, прогестерона), волнообразно продуцируемых в ходе овариального цикла. Снаружи яйцеклетка покрыта непроницаемой для макромолекул и лимфоцитов блестящей оболочкой. Ее видоспецифические рецепторы позволяют яйцеклетке взаимодействовать преимущественно с аллогенными сперматозоидами.

Антигены фолликулярной жидкости аналогичны таковым плазмы крови. На поверхности яйцеклетки найдены МНС-антигены I класса, локуса T/t, специфические антигены ПЗ. Антитела к яйцеклетке резко снижают фертильность сперматозоидов. Антисыворотки к ПЗ, образуя преципитат на ее поверхности, полностью исключают возможность яйцеклетки быть оплодотворенной. Фертильность подавляется также при иммунизации аллогенными и ксеногенными яйцеклетками.

Яичники тесно связаны с другими эндокринными органами, поэтому они вовлекаются в аутоиммунный процесс при поражении щитовидной или поджелудочной железы.

## ГЛАВА 4

### МЕСТНЫЙ ИММУНИТЕТ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА

#### 4.1. Изучение локального иммунитета

Вопрос о том, возможно ли повысить чувствительность к антигену органа или ткани, не изменив при этом общей реактивности организма, давно интересовал ученых. Еще Р. Ehrlich (1891) доказал возможность искусственного создания невосприимчивости к рицину в роговице одного глаза без изменения реакции роговицы второго глаза и генерализованного ответа. Учение о местном иммунитете разрабатывалось в начале XX века русским ученым А. М. Безредкой. Именно им были выполнены позднее многократно подтвержденные опыты по повышенной чувствительности кожи к бациллам сибирской язвы, созданию местного иммунитета кишечника к дизентерийным микробам и т. д. Положения А. М. Безредки о полной независимости местного иммунитета от общей реактивности организма были подверг-

нута критике, однако в дальнейшем стало очевидным, что кровь далеко не всегда является индикатором тех изменений, которые характерны для местного патологического процесса или ограниченного системного ответа. Многочисленные доказательства этому были получены при изучении особенностей иммунологических реакций в пищеварительном тракте, легких, сосудах, очагах воспаления и опухолевого роста, при аллергических реакциях (местная анафилаксия или феномен Артюса).

Большая роль в создании местного иммунитета принадлежит слизистым оболочкам, которые служат механическим и функциональным барьером, препятствующим проникновению в организм патогенных микроорганизмов. Одновременно эти оболочки являются иммунологическим фильтром, поскольку они интимно связаны с регионарным лимфоидным аппаратом и циркулирующими в кровотоке лимфоидными клетками и медиаторами иммунитета. Сами слизистые оболочки обычно содержат лимфоидные фолликулы и диффузно распределенные лимфоциты. Эти межэпителиальные лимфоциты, отличающиеся от малых лимфоцитов крови, служат иммуномодуляторами. Лимфоциты слизистых оболочек проявляют себя как супрессоры, естественные киллеры и Т-помощники. В-лимфоциты слизистых оболочек регулируются Т-клетками и макрофагами с выраженными антигенами Ia. Благодаря такому широкому представительству лимфоцитов и макрофагов слизистые обеспечивают развитие самостоятельных иммунных реакций на локальное и системное введение антигена.

Имуноглобулины классов M, G, A, E по-разному концентрируются в крови и в жидкостях, секретируемых слизистыми оболочками. В то время как в сыворотке крови концентрация IgM и IgG преобладает над содержанием IgA, то в секретах выше содержание IgA и IgE. В сыворотке крови IgA находится в мономерной форме с константой седиментации 7S, а в секретах он присутствует преимущественно в димерной форме с константой 11S и состоит из двух полипептидных цепей, отсутствующих в сывороточном IgA. Это так называемый секреторный SIgA, образуемый клетками железистого эпителия слизистых оболочек, он является главным антителом местной защиты. Секреторный его компонент способствует переносу IgA в слизь, где он влияет на устойчивость органов и тканей к микробной инвазии.

Многочисленные иммунологические реакции, связанные с репродукцией, имеют локальный характер, т. е. развиваются в строго определенных участках материнского организма или плодно-материнских образованиях. К этим реакциям относятся — децидуальная реакция, ответ на фертилизацию регионарных лимфатических узлов, иммуносупрессивная и иммуноабсорбционная деятельность плаценты.

#### **4.2. Гормоны и местный иммунитет**

Гипофизарные гонадотропные гормоны и стероидные гормоны, продуцируемые гонадами, оказывают на организм системный и местный эффект. Однако, если первые сразу поступают в кровоток и присутствуют там в достаточно высокой концентрации, стероиды преимущественно улавливаются местными рецепторами и действуют относительно локально. Поэтому нами большее внимание будет уделено рассмотрению иммуотропных эффектов стероидов вне беременности, нежели репродуктивным эффектам гормонов гипофиза.

Андрогены (andros — мужчина) служат естественными медиаторами активности сперматогенеза. Их локальная активность усиливается пролактином, рецепторы к андрогензависимому пролактину имеются в простате и добавочных семенных железах, а концентрация пролактина в семенной плазме выше, чем в крови. Не исключено, что иммуносупрессивное действие семенной плазмы определяется присутствием значительных количеств андрогенов и пролактина. Андрогены могут выступать и модуляторами иммунитета.

Показано, что при прочих равных условиях способность к активной выработке андрогенов ассоциируется у мышей с генами силы иммунного ответа. Низкий ответ при этом не был связан со слабо выраженными рецепторами к андрогенам и недостаточной органной реакцией на него. В свою очередь рецепторы к тестостерону и пролактину были найдены в головном мозге человека [Müller P. et al., 1981; Cianci S. et al., 1981].

Периферическое действие андрогенов, кроме уже описанного — на вторичные половые признаки, проявляется в анаболическом и миотрофическом эффектах, что выражается в стимуляции мускулатуры самцов в периоде полового созревания. В той же мере, в какой андрогены повышают массу семенников и печени, они тормозят активность тимуса.

Периферическое действие андрогенов у самок состоит в контроле за волосяным покровом гениталий. Рост тела и формирование вторичных половых признаков у них связано с эстрогенами. Меняющееся равновесие эстрогенов и прогестерона во время менструального цикла сказывается на состоянии яйцеводов, матки, шейки, влагалища, молочных желез. Разные участки женского репродуктивного тракта неодинаково чувствительны к тому или другому эстрогену.

Эстрадиол облегчает транспорт гамет и оплодотворение, увеличивает число клеток реснитчатого эпителия в фаллопиевых трубах и накопление трубной жидкости. Матка особо чувствительна к эстрогенам, которые вызывают гипертрофию и гиперплазию эндометрия, стимулируют начальную стадию роста маточных и молочных желез, облегчают прохождение сперматозоидов в полость матки, активируют деятельность коры надпочечников. Эстрадиол стимулирует в конце преовуляторной фазы развития фолликула внутриматочные рецепторы для прогестерона. Эстрогены также повышают митотическую активность цилиндрического влагалищного эпителия и секрецию им вагинальной жидкости.

Кроме воздействия на репродуктивные функции, гонадотропные гормоны активно влияют и на иммунитет. Рецепторы к эстрадиолу найдены в вилочковой железе [Thompson E., 1981], а введение эстрадиола *in vivo* резко снижает число зрелых тимоцитов [Novotny E. et al., 1983]. Отмечена способность эстрадиола подавлять реакцию Т-лимфоцитов на ФГА [Ow K. et al., 1978] и активность естественных киллеров [Seaman W. et al., 1978], эстрадиол угнетает синтез Т-помощников [Raavonen T. et al., 1981] и продукцию IgM у женщин [Weetman A. et al., 1981]. В то же время эстрадиол при беременности активирует синтез IgA в женском репродуктивном тракте [Wira R. et al., 1982] и выработку интерлейкинов макрофагами плаценты [Flynn A. et al., 1982]. Эстрон особенно активно подавляет экспрессию рецепторов Т-лимфоцитов к СЗ и эритроцитам барана [Bargal E. et al., 1984].

Прогестерон активно синтезируется желтым телом, образующимся после овуляции на месте лопнувшего фолликула. Он оказывает на женские репродуктивные органы действие, во многом противоположное эстрогенам (хотя желтое тело продуцирует прогестерон вместе с эстрадиолом). Прогестерон подавляет овуляцию, спо-

способствует переходу пролиферативной стадии эндометрия в секреторную фазу и тем самым облегчает имплантацию оплодотворенной яйцеклетки, обеспечивает торможение нервно-мышечного аппарата матки и препятствует сокращению маточной мускулатуры, в то время как эстрогены усиливают его. Недостаточность выработки прогестерона может вести к раннему самопроизвольному аборту [Csapo A., 1977]. Известен также противовоспалительный эффект прогестерона, с которым связывают отсутствие воспалительных реакций в матке во время и после родов (прогестерон и эстрогены также синтезируются плацентой).

Прогестерон в концентрациях, превышающих его физиологическое содержание в сыворотке беременных (но не в плаценте), *in vivo* способствует более длительному выживанию кожного аллотрансплантата [Simmons R. et al., 1968], а *in vitro* блокирует реакции Т-лимфоцитов на митогены и аллогенные клетки [Clemens L. et al., 1979; Niefeld J., Tormey D., 1979]. Добавление прогестерона в культуру лимфоцитов угнетало афферентную и пролиферативную стадии иммунного ответа, но не эффекторную цитотоксическую реакцию. G. Holdstock и соавт. (1982) сообщили, что под влиянием прогестерона (20 нг/мл) в СКЛ возрастает супрессорная функция клеток. С другой стороны М. O'Heagn и В. Stites (1983), использовавшие значительно более высокие концентрации прогестерона (1—10 мг/мл), напротив, отметили подавление функции клеток-супрессоров, генерируемых в культуре, что указывает на зависимость иммунологического эффекта от дозы прогестерона.

Из сказанного вытекает, что стероидные гормоны при исследовании их иммунологической активности *in vitro* чаще проявляют себя как супрессорные агенты. Это и понятно, если учесть их эволюционно-физиологическое значение. На Т-супрессорах, фенотипа ОКТ8, выделенных из грудного лимфатического протока, обнаружены рецепторы к эстрадиолу, в то время как на клетках ОКТ4 они отсутствовали [Cohen J. et al., 1983]. Рецепторы к эстрогенам и андрогенам не найдены у периферических Т-клеток, но они содержатся в эпителиальных структурах вилочковой железы и на больших лимфоидных клетках субкапсулярной зоны коры тимуса [Guiliano A. et al., 1983; Luster M. et al., 1984]. Повышение чувствительности тимоцитов к стероидным гормонам сопровождается инволюцией тимуса, что оказы-



вает по принципу положительной обратной связи эффект на периферические лимфоидные элементы, находящиеся в окружении клеток с высокой стероидной чувствительностью.

#### 4.3. Антитела в семенной плазме

В семенной плазме обнаруживаются антитела классов IgG, IgA и IgE, но крупные молекулы IgM сюда из крови не попадают. Поскольку антитела отсутствуют в просветах извитых канальцев и сети яичка, можно думать, что они проникают в семенную плазму ниже семявыносящего протока. Обычно IgG и IgA появляются в семенной плазме в тех случаях, когда резко возрастает их концентрация в крови, но даже при этом содержание IgG составляет обычно 1—2% от его уровня в сыворотке крови, а IgE — до 30%. Резкое повышение титров SIgA свидетельствует о его локальной продукции преимущественно в области простаты [Hjort T., 1977]. У мужчин, подвергнутых вазэктоми, IgG и IgA присутствуют в семенной плазме в одинаковой концентрации, что также указывает на диффузию этих антител из дистальных отделов репродуктивного тракта, преимущественно из простаты [Boettcher B., Kay D., 1983]. В простатическом секрете присутствуют в основном IgA и IgG. Эти антитела прочно абсорбируются на сперматозоидах, IgA отмываются легче, чем IgG. Считают, что IgA в большей степени ответственны за нарушение процесса пенетрации сперматозоидов через цервикальную слизь [Kay D., Boettcher B., 1983].

Спермоагглютинины обладают неодинаковой способностью к диффузии из крови в семенную плазму. Те из них, которые вызывают агглютинацию по типу «хвост к хвосту», часто оказываются и местными антителами, особенно если их титр в крови превышает 1:64. Считают, что когда у инфертильных мужчин титр таких антител тоже достигает 1:64, сперматозоиды (эякулированные) начинают склеиваться.

Антитела к сперматозоидам могут прочно связаться со сперматозоидами и не обнаруживаться в свободном состоянии в семенной плазме. Для выявления таких антител предложена реакция смешанной агглютинации, основанная на склеивании эритроцитов барана, sensibilizированных к неполным Rh(IgG)-антителам, и сперматозоидов, на которых фиксированы антиспермальные

IgG-антитела, в присутствии анти-IgG-сыворотки [Coombs R. et al., 1973; Matchur S. et al., 1979; Hendry W., Stedronska J., 1980]. Смешанная агглютинация может происходить и с эритроцитами, на которых абсорбированы IgM- и IgA-антитела в присутствии соответствующей антисыворотки. Уточнение класса антител проводится посредством полиакриламидных бусинок, покрытых анти-IgG, анти-IgM или антимоноклональным IgA. Эти непрямые методы выявления антител полезны еще и потому, что семенная плазма обладает иммуносупрессорной активностью и содержит ингибиторы компонентов комплемента [Kovary P. et al., 1978].

Выше также говорилось о том, что трансудация антител из крови в семенную плазму часто наблюдается после вазэктомии, а нарастание их концентрации и резкое увеличение титров SIgA указывает на продолжающееся проникновение сперматозоидов и недостаточность анастомозов. В таких случаях бывает показана повторная вазэктомия.

Местные антитела принимают самое активное участие в создании аутоиммунитета к сперматозоидам, ибо и прямое их цитотоксическое действие на гаметы и совместное с клеточными факторами нарушение сперматогенеза (олигооспермия, азооспермия) — частая причина мужской инфертильности.

#### **4.4. Лимфоидный аппарат женского репродуктивного тракта**

Женский репродуктивный тракт содержит скопления лимфоидных тканей, очень напоминающих пейеровы бляшки кишечника или лимфоидные скопления в бронхах (рис. 24). Кроме того, в подслизистом слое матки, влагалища, труб обнаруживается большое число плазматических клеток и Т-лимфоцитов; особенно это наблюдается у многорожавших женщин и беременных. Происхождение этих клеток не установлено окончательно, возможно они мигрируют в слизистые репродуктивного тракта из костного мозга, регионарных и отдаленных лимфатических узлов, а также по лимфатическим путям из грудного протока. Такая миграция была подтверждена иммунофлюоресцентными методами.

Шейка матки служит местом наибольшей иммунологической активности женского репродуктивного тракта, эндометрий и фаллопиевой трубы относительно бед-

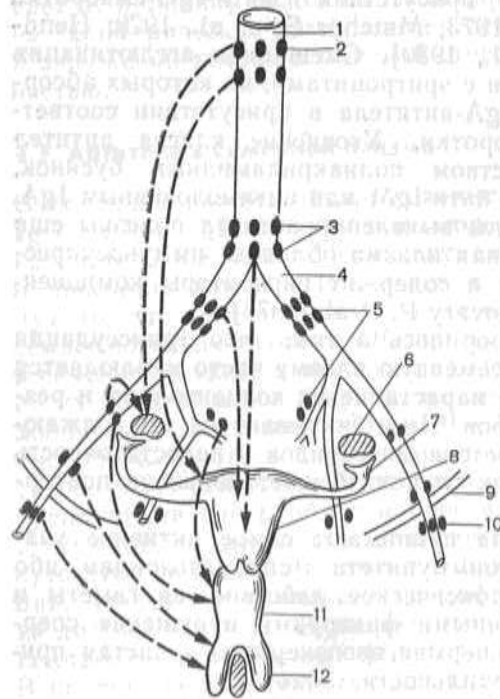


Рис. 24. Лимфатический аппарат женского репродуктивного тракта.

1 — брюшная аорта; 2 — парааортальные лимфатические узлы нижней поясничной области; 3 — общая подвздошная артерия; 4 — лимфатические узлы подвздошной области (общие, наружные, внутренние); 5 — яичник; 6 — маточная труба; 7 — матка; 8 — пупартова связка; 9 — паховые лимфатические узлы (пунктиром обозначены связи лимфатических узлов с дренируемыми ими органами); 10 — влагалище; 11 — наружные половые органы.

нее дренирующими лимфатическими сосудами, местный иммунитет во влагалище еще слабее. Внутривлагалищная иммунизация обычно вызывает локальный синтез антител, обнаруживаемых в цервикальной слизи. Именно в шейке матки при иммунизации увеличивается число плазматических клеток, в том числе и продуцирующих секреторный компонент IgA. Синтез иммуноглобулинов усиливается при воспалительных заболеваниях гениталий, причем в одних случаях преобладает IgG, а в других IgM или IgA [Schumacher G., 1980].

Многokратно было продемонстрировано, что при беременности лимфатические узлы, дренирующие матку, значительно увеличивались в размерах, в них отмечается активация пролиферативных процессов, усиленная плазматизация, клетки лимфатических узлов начинают ускоренно мигрировать в паховые или иные лимфатические узлы, их Т-клетки развивают усиленную пролиферативную реакцию в присутствии клеток самца [Ansell J. et al., 1978]. Причем у крыс на 15-й день беременности

интенсивность однонаправленной СКЛ клеток парааортальных лимфатических узлов на сингенные и аллогенные клетки самцов была значительно повышена, а на 20-й день она не отличалась от реакции небеременных [Bauminger S., Peleg S., 1978]. Последнее, вероятно, связано с постепенным накоплением супрессорных лимфоцитов. При аллогенной беременности у мышей число Ig-секретирующих клеток в селезенке увеличивается на 14-й день, а в костном мозге — на 20-й [Mattson R., 1984].

Даже единственная инъекция девственным мышам сперматозоидов от аллогенного самца сопровождается увеличением лимфатических узлов, причем пик этого увеличения приходится на 4—5-й день беременности, когда бластоциста имплантируется в матку [Beer A., Billingham R., 1976]. Многочисленные эксперименты, проведенные на инбредных мышях, крысах, сирийских хомячках, гибридах F<sub>1</sub>, показали, что иммунный ответ регионарных лимфатических узлов тем сильнее, чем больше выражены между самцом и самкой отличия по антигенам тканевой совместимости. Если при сингенной беременности лимфатические узлы репродуктивного тракта увеличиваются незначительно, то при аллогенной беременности подобные изменения выражены сильнее, но опять-таки различно при различных линейных комбинациях. Систематическая сенсibilизация самок тканевыми антигенами самца не приводит к такой перестройке местной лимфоидной системы, которая наблюдается при беременности. Однако указанные изменения распространяются лишь на местный лимфоидный аппарат, масса бронхиальных лимфатических узлов или селезенки при сингенной или аллогенной беременности не меняется. Вилочковая железа (тимус) у беременных подвергается временной инволюции, которая в свою очередь определяется выраженностью антигенных различий самца и самки.

#### **4.5. Иммунология секреторных жидкостей**

Цервикальный и маточный секреты, фолликулярная и трубная жидкости играют важную роль в иммунологии репродукции. Механические свойства вязкой фолликулярной жидкости защищает ооцит в яйцевом, создают благоприятные условия для фертилизации и транспорта оплодотворенной яйцеклетки. Маточная сре-

да помогает защите и питанию эмбриона, имплантации blastocysts. Цервикальная слизь играет роль механического и иммунологического буфера в некоторые периоды репродуктивного цикла, способствуя или предупреждая проникновение к матке сперматозоидов и бактериальных антигенов. Даже вагинальная слизь имеет иммунорегуляторное значение, способствуя селекции и утилизации сперматозоидов.

Фолликулярная жидкость содержит не менее 50% всех белков сыворотки крови, в ней присутствуют мукополисахариды и разнообразные ферменты, такие как гиалуронидаза, эндонуклеаза, коллагеназа. Последняя имеет отношение к разрыву фолликула, а гиалуронидаза регулирует пенетрацию сперматозоидов через ПЗ яйцеклетки и облегчает имплантацию blastocysts.

Стенка самого фолликула ведет себя как молекулярный фильтр, обеспечивая прохождение белков в обратной пропорции к их молекулярному весу. После внутривенного введения меченных микромолекул их можно уже через 6 мин обнаружить в фолликулярной жидкости [van Kaulia K., 1958]. Попадание из плазмы в фолликул низкомолекулярных веществ происходит значительно легче, чем продуктов с высоким молекулярным весом, к числу которых относятся антитела. Молекулярный состав фолликулярной жидкости меняется в зависимости от стадии менструального цикла. Вязкость этой жидкости снижена до овуляции за счет уменьшения содержания в ней мукополисахаридов, после овуляции яйцеклетка попадает в более вязкую среду, что объясняется увеличением концентрации в окружающей среде иммуносупрессорных мукополисахаридов и сialogликопротеидов.

Трубный секрет, количество которого увеличивается во время овуляции, имеет сходный с плазмой крови состав электролитов, но белков здесь относительно мало (около 10 мг/мл). После овуляции в слизи труб появляются новые белки, некоторые из которых обладают способностью подавлять акросомные продукты сперматозоидов (антитрипсин,  $\beta_2$ -макроглобулин), а другие — стимулируют рост blastocysts (утероглобин или blastokinin). Утероглобин продуцируется клетками железистого эпителия труб и матки, без этого продукта не может успешно пройти акросомная реакция и активация сперматозоидов. Здесь же продуцируется и лактоферрин, обладающий бактерицидной активностью, он

же может высвобождаться и нейтрофильными лейкоцитами [Masson P. et al., 1966].

В цервикальной слизи содержатся продукты лейкоцитарного происхождения, транссудаты плазмы, 70% слизи составляет муцин, белки попадают в слизь из крови. Здесь также высока концентрация лактоферрина, лизоцима, пропердина; все эти продукты относятся к категории факторов неспецифической резистентности. Вязкость слизи меняется в течение менструального цикла, особенно она усиливается после овуляции также преимущественно за счет иммунорегуляторных мукополисахаридов и сиаловых кислот. Содержание компонента в цервикальной слизи понижено по сравнению с сывороткой крови, оно меняется в разных фазах цикла [Schumacher G., 1980].

Фолликулярная жидкость человека содержит около 60% IgG, 33% — IgA и 10% — IgM (за 100% принято их содержание в сыворотке крови). У коров концентрация иммуноглобулинов граафова пузырька соответствует концентрации в сыворотке крови; после овуляции эта жидкость проникает в фаллопиеву трубу, способствуя оплодотворению и охраняя эмбрион от инфицирования [Wilkie B. et al., 1972].

В трубной жидкости постоянно обнаруживаются IgA и IgG (все его подклассы), но менее регулярно IgM. На клетках эндометрия IgA и IgG обнаруживаются как во время секреторной, так и в децидуальной стадиях, IgM присутствует лишь в следовых количествах. Иммуноглобулины распределены в строме эндометрия между железистыми клетками и на базальных мембранах клеток [Lippes J. et al., 1970]. Все виды иммуноглобулинов присутствуют и в эндометриальном секрете. Правда, некоторые авторы считают, что локальный синтез IgM и IgG в эндометрии отсутствует, а иммунная защита от патогенных микробов осуществляется только за счет секреторного SIgA, находящегося под контролем прогестерона [Kelly J., Fox H., 1979].

Показано, что разные ткани репродуктивного тракта человека способны самостоятельно синтезировать все виды иммуноглобулинов [Behrman S., Menge A., 1973]. Предполагается возможность местного синтеза иммуноглобулинов в матке и во влагалище коров [Wilkie B. et al., 1972]. У обезьян после местной и общей иммунизации микробными и спермальными антигенами в цервикальной жидкости появляются антитела класса IgG,

но не IgA, как можно было ожидать по аналогии с другими видами [Yang S., Schumacher G., 1979]. Таким образом, присутствие иммуноглобулинов в секретах слизистых оболочек обязано как местному их образованию, так и поступлению из крови, концентрация и характер антител зависит от типа и места аппликации антигена.

В цервикальной слизи человека соотношение IgA/IgG выше чем в сыворотке крови. По-видимому, это связано с активным местным синтезом IgA [Maghissi K., 1970]. IgM здесь почти не обнаруживается. Концентрация иммуноглобулинов зависит от стадии менструального цикла, так в норме колебания IgG составляют от 0,1 до 6 мг/мл, а IgA — от 0,05 до 1,4 мг/мл. Наиболее высокая концентрация обоих иммуноглобулинов достигается в середине цикла. Соотношение IgG/IgA выше в начале и в конце цикла (6/1 и 2/1 в середине цикла), но оно зависит от соответствующей концентрации Ig в других средах [Schumacher G., Yang S., 1977]. Остается неясным соотношение на разных этапах между секреторным SIgA и сывороточным мономерным компонентом.

В слизистой шейки матки обнаружены клетки, секретирующие IgA [Tourville D. et al., 1970]. В железистом эпителии матки присутствуют и клетки, ответственные за продукцию секреторного компонента IgA, здесь же имеет место образование лактоферрина, однако пока нет строгих доказательств связи обоих продуктов с синтезом локальных антител. Г. М. Савельева и соавт. (1981) считают, что содержание SIgA в цервикальной слизи отражает функциональную активность плаценты на протяжении всей беременности.

При биопсии цервикального канала у женщин, страдающих бесплодием, было найдено больше плазматических клеток, секретирующих IgA по сравнению с фертильными женщинами; содержание плазматических клеток, содержащих IgM и IgG, было в обеих группах сходным [Hutcheson R. et al., 1974]. Концентрация компонента в цервикальной слизи зависит от гормональных изменений в течение менструального цикла и возрастает при увеличении концентрации в крови эстрогенов [Lai a Fat R. et al., 1973].

В слизистой влагалища, так же как и в эндометрии, обнаруживаются лимфоидные клетки, число которых варьирует во время менструального цикла. В вагинальном секрете обнаружены IgA и IgG, однако очевидно,

что иммуноглобулины и комплемент вагинального секрета смешиваются с таковыми цервикальной слизи [Rebello R. et al., 1975].

#### 4.6. Локальный синтез антител

Соображения о местной продукции антител основываются во многом на наблюдениях о синтезе антител слизистыми оболочками, граничащими с внешней средой — пищеварительного и дыхательного трактов. По-видимому, это есть общий принцип для слизистых тканей, содержащих иммунокомпетентные клетки, железистый аппарат, и находящихся вблизи сферы действия различных антигенов. Эпителиальный барьер многих слизистых оболочек состоит из кубических, трубчатых и цилиндрических клеток, которые являются секреторирующими железами, отделенными друг от друга внутриклеточными перегородками, но сообщающимися вблизи апикальной части клетки общей циркуляцией.

Локальный иммунный ответ в виде продукции антител может воспроизводиться непосредственным контактом слизистой с антигеном. Синтез иммуноглобулинов, осуществляемый местными лимфоидными элементами, относительно независим от общего гуморального ответа [Ogra P., Kargson D., 1969]. Таким образом, существует локальная защитная система, которая служит первичным барьером, препятствующим проникновению антигенов из внешней среды в организм. В тканях содержание антител может быть выше, чем в сыворотке крови [Edwards R., 1972], однако нет окончательных доказательств, что в таких случаях не имеет места частичная трансудация антител из сыворотки крови.

Антитела могут продуцироваться секреторными клетками яичника, зрелым фолликулом, железистым эпителием тела или шейки матки, слизистой поверхностью влагалища, а у мужчин — в семявыносящих протоках или добавочных половых железах. У женщин скорость морфологических изменений, обусловленная продолжительностью овариального цикла, оказывает влияние на локальную секрецию антител.

Изучение характера секреции иммунологически активных продуктов мужским и женским репродуктивными трактами может дать ключи к пониманию физиологии местного иммунитета. Трудности изучения локальной иммунной системы женского репродуктивного трак-



та состоят прежде всего в сложности получения чистых образцов секретируемых жидкостей без возможных транссудатов крови, клеточных или слизистых примесей.

В маточном и цервикально-вагинальном экстрактах достаточно часто обнаруживаются антитела против бактерий, вирусов, простейших, сперматозоидов, белков семенной плазмы [Edwards R., 1969]. Неясным остается вопрос о том, являются ли они только продуктом локального иммунного ответа.

Имеется много свидетельств того, что локальная продукция антител в репродуктивном тракте реальна. Прямая влагалищная аппликация бактериальных антигенов у женщин может обеспечить более высокие местные титры антител, чем в сыворотке крови [Straus E., 1961]. Вирусные антигены, *Candida albicans*, сперма ведут также к локальному синтезу IgA (исключительно секреторный его компонент) и местной продукции антител [Waldman R. et al., 1972]. В отсутствие циркулирующих антител к бактериям и антигенам АВ0 групп крови локальные антитела этого типа обнаруживались в цервикальной слизи некоторых женщин [Parish W. et al., 1967]. Антитела к дифтерийному анатоксину и IgA могут синтезироваться тканевыми культурами влагалища и цервикальными тканями [Bell E., Wolf B., 1967].

Факт системной иммунизации через влагалище первым был показан McCartney (1923), установившим, что при половой передаче инфекции *Trichomonas Foetus* антитела образуются только в матке и не поступают в кровотоки (как и сам антиген, их вызвавший). Иммунизация кроликов против столбняка путем введения столбнячного анатоксина в смеси с алюмокалневыми квасцами внутривенно, в подушечки лап и в маточный рог оказалась одинаково успешной. Антитела при этом равным образом активно вырабатывались в лимфатических узлах, селезенке, влагалище, матке и даже аппендиксе [Batty J., Wagback S., 1955]. Женщины, иммунизированные внутривагинально вакциной против *Candida albicans*, продуцировали IgA-антитела, которые выявлялись исключительно в цервикальной слизи. При вакцинации другими путями наряду с антителами IgA, характерными для вагинального ответа, регистрировались и IgG-антитела внутриматочного происхождения [Waldman R. et al., 1972].

В нормальных условиях поступление спермы в женский репродуктивный аппарат не вызывает заметного

иммунного ответа. Однако, если животные были иммунизированы теми же антигенами парентерально, то местная аппликация семени может стимулировать резкий подъем их титра в крови [Behrman S., Otani Y., 1963]. Многими авторами были описаны антитела к сперматозоидам в жидкостях репродуктивного аппарата женских особей, которые относятся к классу иммуноглобулинов IgG и IgA, но убедительных доказательств, что эти антитела регулируют фертильность, до настоящего времени не получено.

Одними из первых доказательства присутствия антител в цервикальной слизи человека привели W. Parish и соавт. (1967). С помощью спермоцитотоксической реакции антитела в секрете ими были найдены у 3 из 48 бесплодных женщин. Активность этих антител не была связана ни с таковой в сыворотке тех же женщин, ни с результатами исследования спермоагглютининов. Спермоиммобилизины в цервикальной жидкости оказывают соответствующий эффект и при отсутствии комплемента [Ikuta K. et al., 1980]. Местный титр антител к сперматозоидам более четко коррелирует с инфертильностью, чем концентрация противоспермальных антител в крови женщин [Ashitaka G. et al., 1964], однако и он сам по себе не служит бесспорным доказательством инфертильности.

В настоящее время для иммунодиагностики бесплодия параллельно используют несколько серологических тестов, таких как спермоиммобилизация, спермоагглютинация и непрямая флюоресценция. Реакцию считают положительной, если титр противоспермальных антител в сыворотке крови составляет 1:32 и выше, а в цервикальном секрете — 1:16 и выше [Scarselli G. et al., 1979]. В сыворотке крови чаще выявляются спермоагглютинины (обычно IgM), в цервикальном секрете — спермоиммобилизины и антитела, определяемые флюоресцентным анализом (чаще IgG и IgA), что доказывает возможность их локального синтеза. Поскольку цервикальная слизь служит барьером на пути поступления сперматозоидов из влагалища в матку, местные спермоиммобилизины нарушают пенетрацию этих клеток и особо их капацитацию [Isojima S. et al., 1978].

Кроме цервикальной жидкости, антитела против сперматозоидов часто содержатся в жидкости фаллопиевых труб, причем и здесь их присутствие не определяется титром соответствующих антител в крови [Ping W.,

1979]. Антитела к антигенам сперматозондов обнаруживают и в соскобе эндометрия, что было отмечено, в частности, у проституток [Schwimmer W. et al., 1967]. Эти локальные антитела являются, вероятно, причиной повреждения и отторжения бластоцисты вследствие нарушения процессов овуляции, фертилизации и имплантации. Известно, что предварительная инкубация сперматозондов в среде, содержащей фолликулярную жидкость, приводит к увеличению акросомальной протеолитической активности; добавление же противоспермальных антител сильно подавляет этот процесс.

И. П. Папазов (1977) наряду с набором серологических и клеточных методик использовал для оценки иммунологического статуса у бесплодных женщин и анализ местного антиспермального иммунитета (оценка способности сперматозондов мигрировать в аутологической и донорской семенной плазме и через цервикальную слизь в период овуляции). Им была обнаружена высокая степень корреляции между реакциями спермоиммобилизации, цитотоксическим действием на сперматозоиды сыворотки и иммунных лимфоцитов, непрямой иммунофлюоресценции. У мужчин прослежен четкий параллелизм общего и местного противоспермального иммунитета. У женщин с бесплодием невыясненной этиологии общий иммунитет обнаружен в 33%, а местный в 27% случаев; при «органическом» бесплодии цифры соответственно были 11,2% и 6,4%; у фертильных и беременных женщин, как и у девушек, противоспермальный иммунитет отсутствовал.

Суммируя сказанное, можно признать, что местные антитела могут подавлять фертильность несколькими путями. Антитела усиливают фагоцитарную активность макрофагов в генитальном тракте, вместе с компонентом осуществляют цитотоксический эффект по отношению к сперматозоидам, затрудняют полноценную пениляцию мужских гамет через цервикальную слизь, препятствуя капацитации сперматозондов и подавляют их физиологическую селекцию в женском репродуктивном тракте [Beer A., Neaves W., 1978].

Лечение женского бесплодия, обусловленного противоспермальными антителами проводят разными способами. Для иммуносупрессии применяют метилпреднизолон (7 сут по 90 мг) или кортикостероиды. Такая гормональная терапия в 16—22% случаев приводит к снижению титра антител и в последующем — к бере-

менности [Shulman S. et al., 1978]. Следует указать на опасность иммуносупрессивной терапии для развития плода. Преодоление иммунного бесплодия может быть достигнуто искусственным осеменением спермой мужа. Свежеэякулированную сперму через тонкую полиэтиленовую трубку неоднократно вводят в полость матки с интервалом в 4—6 ч до наступления овуляции с применением хорионического гонадотропина (до 6000 МЕ). Положительный результат удается получить только при резком снижении титра антител [Isojima S. et al., 1979]. При мужском бесплодии сперматозоиды отмывают центрифугированием в изотоническом растворе хлорида натрия, ресуспендируют их в растворе альбумина и в дальнейшем инсеминируют. Одновременно мужчинам назначают кортикостероиды [Haas G. et al., 1980]. Резкое усиление подвижности сперматозоидов у инфертильных мужчин иногда достигается перенесением клеток в нормальную семенную плазму, где отсутствуют не только антитела, но и другие токсические продукты, препятствующие спермальному реотаксису.

#### **4.7. Местный клеточный иммунитет**

Клеточно-опосредованный иммунитет может быть зарегистрирован самыми разными способами: *in vivo* по кожной реакции — ГЗТ и динамике отторжения аллотрансплантата, а также в реакциях *in vitro* — бласттрансформации лимфоцитов, цитотоксическим тестом, по продукции регуляторных лимфокинов и монокинов.

Доказательств местного клеточного иммунитета в женском репродуктивном тракте немало. Уже говорилось, что в течение беременности у мышей выявляется повышенная пролиферативная активность лимфоцитов в поясничных и подвздошных парааортальных лимфатических узлах, поскольку было показано, что отток лимфы от матки осуществляется в них. А. Beer и R. Billingham (1974) показали, что сингенные и особенно аллогенные сперматозоиды после внутриматочного введения вызывают значительное увеличение массы регионарных лимфатических узлов и вдвое укорачивают срок внутриматочно пересаженных кожных трансплантатов. J. Ansell и соавт. (1978) сравнивали у самок мышей массу лимфатических узлов и миграцию лимфоцитов при аллогенной и сингенной беременности. При аллогенной беременности максимального увеличения лимфа-

тические узлы, дренирующие матку, достигали через 14—16 сут, а бронхиальные узлы и селезенка не изменялись. Усиленная миграция лимфоцитов в регионарные (матка) лимфатические узлы еще более стимулировалась предварительной пересадкой кожи от самца отцовской линии. Изменения регионарного лимфоидного аппарата при беременности были более стойкими, чем при иммунизации девственных самок аллогенными или ксеногенными эритроцитами.

С. И. Колесников и Л. М. Морозова (1985), используя метод трансплантации бластоцист беременным самкам мышей показали, что аллогенные бластоцисты вызывают увеличение массы лимфатического узла со стороны пересадки, накопление в нем бластных клеток и плазматиков.

Ж. McLeon и соавт. (1980) изучали пролиферацию лимфоцитов в паховых и подколенных лимфатических узлах при беременности у крыс. О пролиферации Т-клеток судили по числу больших пиронинофильных клеток в Т-зонах, а о пролиферации В-клеток по количеству плазматических клеток в В-зонах. Выраженная пролиферация Т- и В-клеток выявлялась на 2-й день беременности и сохранялась до 6-го дня, а на 10-й — угасала. Авторы считают, что в постимплантационном периоде степень иммунизации самок эмбриональными антигенами снижается.

Однако вывод об эффективности внутриматочной иммунизации, особенно по отношению к антигенам эмбриона, существенно зависит от аранжировки эксперимента. Д. Rukavina и соавт. (1979) имплантировали подкожно и в матку аллогенную кожу от самцов беременным, небеременным и псевдобеременным самкам крыс. Затем производили пересадку от того же донора кожи на спину; эти повторно пересаженные лоскуты кожи отторгались у самок по ускоренному типу. Наиболее отчетливо эта усиленная реакция была выражена тогда, когда в первом случае донорскую кожу помещали внутриматочно. Еще быстрее трансплантаты отторгались, если их пересаживали через 5 сут после родов, что свидетельствовало об ускоренном распознавании МНС-антигенов самца во время беременности и развитии беременными самками стойкого трансплантационного иммунитета.

Можно думать, что различные антигены неодинаково иммуногенны при различных путях поступления (введе-

ния) в организм. Так, общий гуморальный и клеточный иммунитет у обезьян против ряда бактериальных антигенов при влагалищной их аппликации был слабее, чем при подкожной иммунизации [Yang A., Chumacher G., 1979]. Возможно, что местный иммунитет женского репродуктивного тракта к аллоантигенам, а особенно антигенам сперматозоидов, усилен по сравнению с ответом на микробные антигены. Последнее может объясняться, в частности, локальным бактерицидным действием иммуноглобулинов, особенно SIgA. Кроме того, следует иметь в виду существование специфических и неспецифических супрессорных клеток, стимулируемых беременностью (см. 7.2).

Примером местной клеточной реакции ГЗТ может служить резко выраженная аллергия к семенной плазме, наступающая непосредственно после полового акта и продолжающаяся в течение суток. Первое описание такой реакции дали В. Halpern и соавт. (1967). Симптомами ее были отеки слизистых полового тракта, языка, гортани, эритематозная сыпь, болезненные судороги при мочеиспускании, позже наблюдались астматическое дыхание и даже потеря сознания. Указанный симптомокомплекс может повторяться и даже усиливаться при каждом следующем сношении [Mumford D. et al., 1978]. В некоторых случаях локальные аллергические реакции к семенной плазме были не столь выраженными: вульвовагинит, сыпь и болевые ощущения отмечались в течение 72 ч [Jones W., Gale A., 1978]. Антигенный фактор, ответственный за эту аллергическую реакцию, оказался гликопротеином с низкой молекулярной массой, богатый сиаловыми кислотами. Антитела, возникающие к этому фактору, относились преимущественно к классу IgE.

#### **4.8. Иммунологический статус матки**

Наряду с феноменами локально усиленного иммунитета, были описаны анатомические зоны, где иммунитет не развивается. Так, еще в 1948 г. Р. Medawar показал, что аллогенные и даже ксеногенные клетки длительно выживают при пересадке их в переднюю камеру глаза, в мозг, в жировую клетчатку, где они не прорастают сосудами и ограждены от действия иммунных лимфоцитов. Такие зоны получили наименование иммунологически привилегированных. Позже подобные свойства

были описаны для семенников и защечных мешков у сирийских хомячков.

D. Kirby (1965) предположил, что матка может быть иммунологически привилегированной, по крайней мере по отношению к аллогенному фетоплацентарному комплексу. Против этой точки зрения сразу же возникли контраргументы. Известно, что внематочная беременность (в трубах, яичниках, брюшной полости) сопровождается достаточно длительным развитием зародыша, лишённого внутриматочной защиты. Искусственная пересадка бластоцист в эктопические участки (под капсулу почки, в селезенку, в мозг) также не сопровождается выраженной реакцией отторжения. Наиболее длительный срок развивались зародыши, пересаженные вместе с трофобластом, целостность которого при пересадке не нарушалась.

Клетки аллогенных опухолевых и нормальных тканей, пересаженных в матку небеременным животным, подвергаются там быстрому разрушению. Если же трансплантацию тканей производить беременной самке (до имплантации бластоцисты) или псевдобеременной самке (девственной, но обработанной эстрогенами), то в такой гормонально подготовленной матке чужеродные клетки выживают значительно дольше, чем в контроле [Beer A., Billingham R., 1974, 1976]. Когда подопытных самок до беременности иммунизировали клетками будущего донора трансплантата, то внутриматочные пересаженные аллогенные ткани быстро разрушались. Таким образом, сенсбилизация, предшествующая трансплантации, нарушает условия выживания аллогенных клеток в беременной матке [Kirby D., 1968]. Эти эксперименты были расценены как свидетельство сохранности и нормального функционирования афферентного звена иммунитета в матке даже в условиях беременности.

Позже было более убедительно показано, что не матка способствует сохранению зародыша, а комплекс гормональной иммуносупрессии и плодно-материнских защитных приспособлений: трофобласта, плаценты, иммунорегуляторных лимфоцитов.

Ранее указывалось, что когда животным непосредственно в полость матки вводят суспензию аллогенных эпидермальных клеток, лейкоцитов или сперматозоидов, а также помещают туда кожный аллотрансплантат, то вслед за этим отмечается значительное увеличение лимфатических узлов, дренирующих матку. Отмытые эпи-

эпидидимальные сперматозоиды, введенные непосредственно в матку крысам, мышам и сирийским хомячкам, хотя и вызывают резкое увеличение лимфатических узлов, но не стимулируют развития трансплантационного иммунитета. Если такие же дозы эпидидимальных сперматозоидов вводили в подушечки лап, то это не сенсибилизировало реципиента к кожному аллотрансплантату донора спермы [Beer A., Billingham R., 1976]. Следовательно, ответ лимфатических узлов, дренирующих матку, связан именно со сперматозоидами, а не с какими-либо иными клеточными примесями. Остается неясным физиологический смысл раннего иммунного местного ответа на сперматозоиды: ограничивает ли он иммунизаторный эффект МНС-антигенов отцовского гаплотипа, служит ли первым сигналом для включения супрессивных механизмов или является стимулом успешного формирования плаценты? А. Beer и R. Billingham (1976) предположили, что при местном воздействии сперматозоидов имеет место соматическая фертилизация большого количества клеток эпителия матки, что сопровождается синтезом в них аллоантигенов отцовского типа. По их мнению, местный ответ лимфатических узлов репродуктивного тракта указывает на наличие иммуновспомогательной функции сперматозоидов, которая требует дальнейшего изучения.

Этот эффект увеличения лимфатических узлов, дренирующих матку, как уже было сказано, наиболее отчетливо проявляется при аллогенной, но не сингенной беременности. При этом не исключается образование гуморальных антител к трансплантационным антигенам отцовского гаплотипа, но не происходит развития клеточного трансплантационного иммунитета (иначе не была бы возможной следующая беременность к данному набору антигенов). Возможно, что иммунологическая перестройка в местном лимфоидном аппарате при беременности и иммунизации сперматозоидами предусматривает усиленный синтез лимфоцитов-супрессоров и растворимых в сыворотке блокирующих факторов.

Биологический эффект местной реакции матки иллюстрируют наблюдения за необычным изменением ее структур при взаимодействии с аллогенными клетками, которое А. Beer и R. Billingham (1976) назвали Recall Flare (RF) — «запоздалой вспышкой». Суть этого явления сводится к следующему. Вслед за первичной иммунизацией самок крыс трансплантационными антигенами



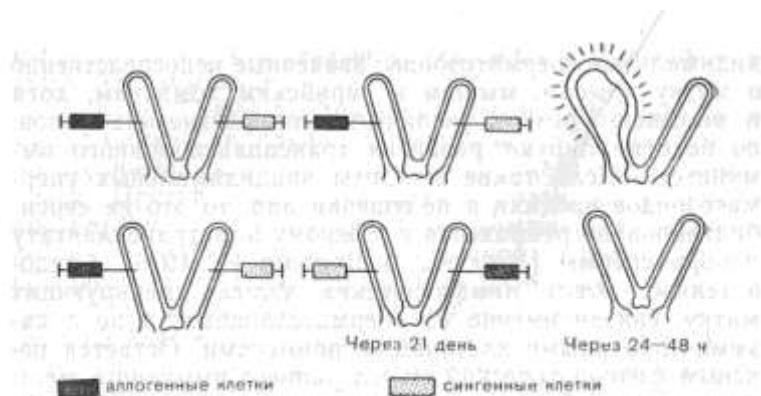


Рис. 25. Схема опыта — реактивное воспаление в роге матки крысы после местного введения аллогенных, но не сингенных клеток по A. Bear и R. Billingham (1976).

Объяснение в тексте.

самца, вводимыми непосредственно в хорошо выраженный у грызунов рог матки (антигеном могут служить живые аллогенные эпидермальные клетки самца, клетки селезенки, лимфатических узлов, отмытые эпидидимальные сперматозоиды и даже кожный лоскут), матка приобретает способность отвечать усиленной реакцией на повторное введение тех же антигенов. При повторной местной аппликации клеток того же генотипа через 24—48 ч в матке развивается воспалительный процесс, слизистая ее инфильтрируется лейкоцитами, развивается выраженный отек — в полости матки накапливается экссудат. Через 3—4 дня реакция прекращается, явления воспаления исчезают, размеры органа становятся прежними. Иммунологический характер этой реакции определяется тем, что она имеет место лишь в случае введения аллогенных, но не сингенных клеток и развивается только тогда, когда повторное введение клеток осуществлялось от того же или сингенного с ним донора. Если первый раз вводили клетки от самца одной линии, а вторично — от самца иного генотипа, то RF отсутствовала (рис. 25). Полагают, что RF обязана своим развитием Т-лимфоцитам, которые сохраняются в слизистой матке и реализуют иммунологическую память о ранее действовавшем антигене.

Биологический смысл этой реакции иллюстрируется опытами по следующему межлинейному скрещиванию животных. В эксперименте девственных самок крыс им-

мунизировали, вводя в рог матки живые эпидермальные клетки от самцов разных линий. Через 3 нед после локальной иммунизации самки были скрещены с самцами. В тех случаях, когда беременность наступала от донора эпидермальных клеток или сингенного с ним самца, численность приплода и общая масса плаценты были больше, если зачатие происходило со стороны специфически иммунизированного рога матки. Если зачатие имело место со стороны рога матки, не претерпевшего RF, плодовитость была меньшей. Из этого следует, что повторная встреча с трансплантационными антигенами самца способствует развитию мощного трофобласта и усилению репродуктивной функции самки. То, что ответственными за этот феномен факторами являются именно трансплантационные антигены, вытекает из возможности получения RF в экспериментальных условиях с помощью любых МНС-содержащих клеток самца. Очевидно, что в естественных условиях указанные изменения обязаны исключительно сперматозоидам.

Поскольку именно трофобласт и плацента в целом выполняют при беременности роль иммунологического буфера между матерью и плодом, то вполне понятна стимулирующая роль максимально несовместимых с материнским организмом гамет мужского происхождения. У сингенных животных эти различия обусловлены лишь мужской Y-хромосомой, но с увеличением антигенных отличий организмов самца и самки репродуктивная способность последней повышается, и ее экспериментальным доступным показателем служит местная реакция матки — RF. Это наблюдение соответствует результатам экспериментов D. Kirby (1969), показавшего, что искусственная пересадка зигот происходит тем успешнее, чем более выражены антигенные (линейные) отличия между самцом и самкой. Применение иммуносупрессивных факторов отрицательно сказывается на репродукции, как в момент имплантации бластоцисты, так и при последующем развитии плода.

Это последнее положение позже было иллюстрировано самыми различными наблюдениями. После применения преднизолона (1 мг/кг), азатиоприна (3 мг/кг) и циклофосфида (3 мг/кг) начиная с 5-го дня имплантации бластоцисты у беременных крыс замедлялось развитие плаценты и повышался процент мертворожденных плодов. Параллельное применение иммуностимулирующих препаратов (БЦЖ, *Corinebacterium parvum*

и т. д.) несколько снижало в эксперименте неблагоприятное действие иммуносупрессоров на плаценту и потомство [Scott J. et al., 1977]. Аналогичные последствия применения иммуносупрессивных препаратов имели место и в клинике. И. Ренельтова и соавт. (1978) приводят анализ репродуктивных функций у 48 женщин, подвергнутых в возрасте 25—58 лет пересадке почки с последующей медикаментозной терапией, угнетающей иммунитет. Через 1—8 мес после операции восстановление менструального цикла наступило у 25 женщин, из них лишь 6 женщин в возрасте 19—27 лет забеременели. Авторы обработали данные специальной литературы о 79 беременностях у 64 женщин с пересаженной почкой. В 20% случаев беременность ухудшала функцию трансплантата и в 4-х случаях женщины погибли в течение первого года после родов. Из 57 новорожденных от этих женщин около 50% родились недоношенными с массой менее 2500 г, у них наблюдались нарушения адrenaловой системы с гипоплазией лимфоидной ткани и хромосомные aberrации. Таким образом, искусственные воздействия, подавляющие иммунитет, предшествующие беременности или имеющие место в ее ходе, нарушают течение беременности и пагубно сказываются на развитии потомства.

\* \* \*

В женском и мужском репродуктивном тракте отчетливо выражены явления местного (локального) иммунитета. В первую очередь это связано с высокой местной концентрацией стероидных половых гормонов (андрогенов, эстрогенов, прогестерона), оказывающих преимущественно супрессорное действие на реакции клеточного иммунитета.

В семенной плазме может присутствовать незначительная концентрация IgG и IgA (но не IgM), которые проникают из крови, если концентрация противосперматозоидных антител в ней достаточно высока.

В слизистых и подслизистых слоях женского репродуктивного тракта содержится много иммунорегуляторных лимфоцитов, особенно богата ими шейка матки и эндометрий. Значительное число этих клеток — Т-супрессоры и В-лимфоциты, продуцирующие местные антитела (SIgA). Локальный синтез антител доказывается повышением их титра после местной аппликации антигена.

В секретах женского репродуктивного тракта присутствуют факторы неспецифического иммунитета (лизозим, пропердин), а также иммуноглобулины всех классов. У бесплодных женщин особенно часто обнаруживаются местные антитела против сперматозоидов. При беременности Т- и В-лимфоциты мигрируют в лимфатические узлы, дренирующие матку. Особенно увеличивается масса и объем местных лимфатических узлов к периоду имплантации яйцеклетки. Увеличение узлов выражено тем более, чем сильнее выражены МНС-различия самца и самки, но оно отмечается и при сингенной беременности. Введение в эксперименте аллогенных клеток (сперматозоидов, клеток кожи, селезенки) в один рог матки у мышей вызывает локальную клеточную реакцию, которая выражается в гиперергическом отеке при повторном местном введении клеток того же генотипа. Если после этого со стороны того же рога развивалась беременность, то масса потомства и его количество увеличивались. Таким образом, для полноценного развития беременности лимфоидный аппарат женского репродуктивного тракта должен получить информацию об отцовских аллоантигенах.

Применение лекарственных иммуносупрессоров отрицательно сказывается на течении и исходе беременности.

## ГЛАВА 5

### ИММУНОБИОЛОГИЯ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

#### 5.1. Комплексная регуляция гонадотропными гормонами

Прогресс существующих представлений о гормональной регуляции репродуктивной системы явился результатом многолетних кропотливых исследований. На первом этапе (1920—1940 гг.) были описаны основные гонадотропные гормоны и регуляторные взаимодействия между половыми органами и гипофизом. Затем было показано, что и функции самого гипофиза регулируются отделом мозга, называемого гипоталамусом, а тот в свою очередь находится под контролем еще более высокоорганизованных структур головного мозга (ретикулярной формации, лимбических отделов, эпифиза). В 60-е годы широкое распространение получили радиоиммунологические методы, позволяющие с высокой точностью определять концентрации гормонов в жидкостях организма. Затем

на мембранах клеток были найдены рецепторы, чувствительные к соответствующим гормонам, что приблизило нас к пониманию тонких механизмов их регуляции. Наконец, в последнее время показано, что и клетки иммунной системы являются мишенями для реализации действия гонадотропных гормонов.

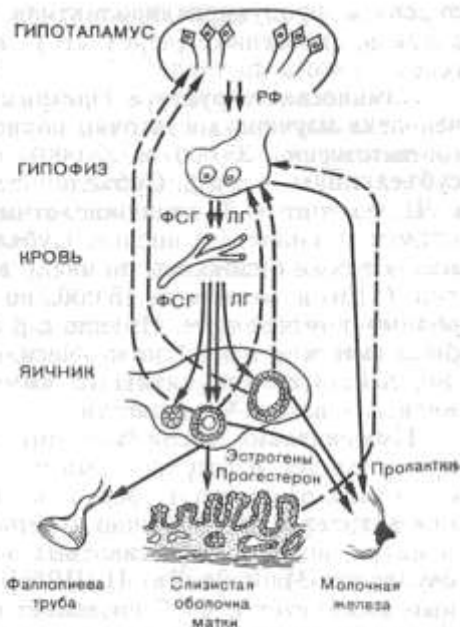
Гормональные факторы, регулирующие репродуктивную деятельность и имеющие прямое отношение к фертилизации, можно подразделить на три основные категории: а) биологические регуляторы гипоталамического происхождения; б) гормоны гипофиза; в) стероидные гормоны (андрогены, эстрогены, прогестерон), продуцируемые мужскими и женскими гонадами, желтым телом и плацентой.

Гипоталамус — относительно маленькая область головного мозга, выполняющая множество жизненно важных функций, каждая из которых связана с определенной группой высокоспециализированных клеток — ядер гипоталамуса. Эти ядра образуют скопления нейронов, обладающих секреторной активностью, вырабатывающие рилизинг-факторы — РФ, иначе называемые либеринами, которые затем поступают в гипофиз через систему порталных кровеносных сосудов. Именно на уровне гипоталамуса замыкается огромная обратная информация, поступающая через вегетативную нервную систему организма, здесь нервные импульсы преобразуются в координирующие эндокринные сигналы.

Гипофиз, вес которого у взрослого человека составляет 500 мг, получает с РФ стимулирующие и тормозящие сигналы от гипоталамуса. РФ преимущественно влияют на секрецию (выделение) гипофизарных гормонов, а не на их продукцию. Пока установлено наличие девяти РФ, три из которых к настоящему времени синтезированы: тиреотропный, соматотропный и гонадотропный РФ [В. М. Дильман, 1983]. Передняя доля гипофиза (аденогипофиз) включает в себя гонадотрофы — базофильные клетки, содержащие гранулы ФСГ и ЛГ, и лактотрофы — ацидофильные элементы, содержащие пролактин. Секреция ФСГ и ЛГ гипофизом определяется одним гипоталамическим РФ (ФСГ/ЛГ-РФ), который представляет собой декапептид с мол. м. 1183. Уровень зависит от другого низкомолекулярного нейrogормона гипоталамуса — катехоламинового допамина.

ФСГ/ЛГ-РФ является стимулятором высвобождения гипофизарных гонадотропинов (рис. 26). Последнее ре-

Рис. 26. Схема прямых (—) и обратных (---) связей гонадотропных гормонов человека и их влияния на органы-мишени.



гулируется двумя механизмами: различной частотой и амплитудой нейронной импульсации гипоталамуса и модуляцией чувствительности гипофиза к действию РФ. Если активность нейронов гипоталамуса подавить антителами к РФ, то синтез ФСГ и ЛГ снижается или исчезает. На чувствительность гипофиза к РФ оказывают влияние и стероиды. Введение животным антисыворотки к РФ вызывает подавление синтеза гонадотропных гормонов в гипофизе, угнетение продукции стероидных гормонов в половых железах, обратное развитие вторичных половых признаков.

Допамин действует на лактотрофы иначе, чем РФ на гонадотрофы. Экзогенный допамин при введении его человеку или животным подавляет продукцию пролактина. Перерыв в секреции допамина или его транспорте в гипофиз сопровождается усилением синтеза пролактина. Это указывает на то, что допамин действует как пролактинингибирующий фактор. Открыт и ретроградный ток крови из гипофиза в гипоталамус, который также может объяснить феномен отрицательной обратной связи пролактина. Стероиды (эстрогены) также способны стиму-

лирование продукции пролактина, но и тот, в свою очередь, косвенно (через ЛГ) влияет на стероидогенез.

Химическая структура гипофизарных гонадотропинов человека изучена достаточно полно. ФСГ и ЛГ (мол. м. соответственно 35 000 и 28 000) включают в себя две субъединицы —  $\alpha$  и  $\beta$ . Субъединица  $\alpha$  одинаковая у ФСГ и ЛГ, состоит из 89 аминокислотных остатков с заметной примесью сиаловых кислот. Субъединицы  $\beta$  обоих гормонов также одинаковы по числу аминокислотных остатков (115) и мол. м. — 15 000, но отличаются по углеводным компонентам. Именно с  $\beta$ -субъединицей связаны биологические и иммунологические отличия ФСГ и ЛГ, она действует как активный иммуноген и стимулирует антитела высокой avidности.

Иммунизация самок животных ксеногенным ФСГ сопровождается расстройствами продукции эстрогенов, отсутствием овуляции и фертилизации. Пассивное введение антител к ФСГ обычно вызывает атрофию яичников и матки, подавляет у животных эструс, но не влияет на овуляцию [Madhwa Raj H., 1976]. Искусственно созданный иммунитет к ФСГ позволяет отметить видовые особенности проявлений этого гормона. У самок грызунов пассивное введение антител к ФСГ может даже стимулировать подъем его уровня в крови. У самцов грызунов введение антисыворотки к ФСГ не влияет на сперматогенез, а у обезьян — заметно угнетает созревание сперматозоидов [Murty G. et al., 1979].

Биологическое действие ЛГ меньше подвержено видовым отличиям. Активная и пассивная иммунизация ЛГ вызывает резкое замедление созревания вторичных фолликулов в яичниках, у самцов атрофируются семенные каналцы и простата, наступает асперматогенез [Nieshlag E., 1975]. Введением аллогенного ЛГ, ассоциированного с белковым носителем, у самок бабуинов удавалось добиться подавления овуляции на протяжении 4—8 мес [Stevens V., 1973]. Антитела к ЛГ, вводимые в постимплантационном периоде, уже через 24 ч нарушают развитие беременности у мышей, кроликов, крыс и обезьян [Madhwa-Raj H., 1976; Moudgal N. et al., 1978]. Это указывало на необходимость ЛГ для формирования желтого тела, продукции им прогестерона, полноценной имплантации бластоцисты. У людей удается создать аутоиммунитет к любому гонадотропному гормону при конъюгации его с выбранным адъювантом, что является

предпосылкой для разработки антифертильных вакцин [Talwar G., 1983].

В той же мере, в какой РФ влияет на выработку гипофизарных гонадотропинов, последние определяют синтез половых стероидных гормонов в семенниках, яичниках и желтом теле. Общая эндокринная регуляция репродуктивных функций характеризуется закономерной особенностью: гормоны-антагонисты продуцируются в одном и том же органе или в единой функциональной системе. Механизмы саморегуляции достигаются многообразными положительными и отрицательными обратными связями. В зависимости от дозы гормона отмечается прямой или обратный эффект. Обычно малые дозы периферических гормонов стимулируют активность вышележащих регулирующих отделов, а большие дозы подавляют их. ФСГ и ЛГ способствуют созреванию фолликулов и продукции эстрогенов и прогестерона, а те в постовулярной стадии овариального цикла по механизму отрицательной обратной связи угнетают синтез гипофизарных гонадотропинов (см. рис. 26).

Концентрации ФСГ и ЛГ, с одной стороны, и прогестерона, с другой, находятся в отрицательной обратной связи. Однако этот эффект реализуется через эстрадиол, который подавляет синтез ФСГ и ЛГ при относительно высокой концентрации прогестерона в плазме (у людей 4—8 нг/мл). При низкой концентрации прогестерона (менее 1 нг/мл), наоборот, усиливается положительная обратная связь эстрадиола с ФСГ и ЛГ, концентрация их нарастает.

Для полноценной подготовки матки к беременности необходимо последовательное влияние на нее эстрогенов и прогестерона. Антитела к эстрадиолу и прогестерону предотвращают созревание фолликулов, овуляцию, фертилизацию, транспорт blastocисты, ее имплантацию [Edwards R., 1976]. Достаточно нарушения одного компонента в этом хорошо согласованном гормональном ансамбле, чтобы нарушилась фертилизация или извратилось развитие беременности. Минимальные дозы моноклональных антител к прогестерону блокируют развитие и имплантацию раннего зародыша у 100% животных [Wright L. et al., 1982]. Патологический эффект может быть обусловлен снижением не только концентрации циркулирующего гормона, но и его связывания клеточными рецепторами. В равной мере нежелательные последствия может иметь и нефизиологическое повышение



концентрации репродуктивных гормонов. В клинике было показано, что как недостаточность, так и повышенный уровень ФСГ вызывает асперматогенез.

Положительные и отрицательные обратные связи гипофизарных гонадотропинов, эстрогенов, прогестерона и тестостерона у женщин и мужчин являются тонким регулятором местных и общих иммунорегуляторных процессов, они служат основой нормальной деятельности репродуктивного тракта в обычных условиях и при наступлении беременности.

### **5.2. Иммунологические взаимоотношения гамет при оплодотворении**

При половом акте во влагалище женщины поступает 3—5 мл спермы, в которой содержится 200—500 млн. сперматозоидов. Сперма попадает преимущественно в задний свод влагалища, куда обращена влагалищная часть шейки матки. Наружное отверстие канала шейки матки соприкасается со спермой, скопившейся в заднем своде, что благоприятствует проникновению сперматозоидов из кислой среды влагалища в более подходящую для них щелочную среду матки. Период овуляции является наиболее благоприятным для прохождения спермы, так как вязкость слизи под влиянием эстрогенов уменьшается, а эластичность стенок влагалища и матки увеличивается [Moghissi K., 1971].

Вскоре после поступления спермы в женский репродуктивный тракт она коагулируется в желатиноподобный сгусток. Коагулирующие продукты вырабатываются в простате и семенных пузырьках. Все это способствует удержанию спермы во влагалище.

По мере дальнейшей транспортировки сперматозоидов они обнаруживаются в снижающихся концентрациях от влагалища, в многочисленных криптах маточного канала и до яичного конца яйцевода [Morton D., 1970]. Участки сохранения спермы являются биологически необходимыми, ибо они улучшают выживаемость сперматозоидов в репродуктивном женском тракте [Bedford M., 1970]. Специализированные участки сохранения спермы получили название «сперматотек», они описаны у беспозвоночных, позвоночных и млекопитающих [Austin C., 1964]. Некоторые отложения спермы подвергаются интенсивному фагоцитозу макрофагами, проникающими из стенок генитального тракта. Фагоцитарная

функция макрофагов особенно выражена в периоде овуляции, она не зависит непосредственно от гормональных влияний. Макрофаги с поглощенными сперматозоидами встречаются в слизистой оболочке матки, но в большинстве они поступают в регионарные лимфатические узлы, в которых происходит характерное перераспределение Т- и В-клеток.

Человеческие сперматозонды, длина которых составляет несколько микронов, должны пересечь 30—40 см протяженности мужского и женского репродуктивного трактов, что в 100 000 раз больше их собственного размера. Поступлению сперматозондов в матку способствуют сокращения ее мускулатуры, во время которых наружный зев шейки приоткрывается, оттуда выступает слизистая пробка, которая обволакивается спермой в заднем своде влагалища и втягивается обратно в шейку матки. Дальнейшее продвижение сперматозондов (особенно в дистальных отделах женского репродуктивного тракта) обязано их реотаксису — движению против тока жидкости со скоростью 2—3 мм/мин. Обычно сперматозонды достигают полости матки через 30—60 мин, а через 2 ч они попадают в маточные трубы, где возможна их встреча с яйцеклеткой (у человека сперматозонды могут достигать маточные трубы и за 30 мин). Такой быстрый переход не может быть связан только с движениями самих сперматозондов, он также связан с сокращениями маточной мускулатуры (хотя беременность может происходить и в отсутствие оргазма).

Выживаемость сперматозондов в женском генитальном тракте зависит во многом от свойств семенной жидкости, в частности ее видоспецифических компонентов (табл. 7). Подвижность сперматозондов сохраняется дольше, чем их фертильность. Ксеногенные сперматозонды, искусственно инсеминированные в половые пути самки, практически полностью погибают в нижних отделах репродуктивного тракта и не достигают яйцевода.

Миграции сперматозондов способствуют также иммуносупрессивные свойства семенной плазмы и поверхностные антигены, общие у сперматозондов с антигенами маточного секрета. Напротив, местные противосперматозондные антитела подавляют транспорт мужских гамет и предупреждают капацитацию. Антитела также могут оказывать влияние на процессы овуляции, фертилизации и имплантацию оплодотворенной яйцеклетки.

Таблица 7. Выживание (в часах) оплодотворяющих гамет в женском репродуктивном тракте у млекопитающих [по M. Johnson и B. Everitt, 1980]

Млекопитающие	Сперматозонды	Яйцеклетки
Человек	30—45	6—24
Корова	30—48	8—12
Овца	30—48	15—25
Лошадь	140—150	6—8
Свинья	25—50	8—10
Мышь	6—12	6—15
Кролик	30—36	6—8

Капацитация — утрата сперматозоидами поверхностных гликопротеиновых антигенов, прежде всего SCA, приобретенных ими в придатке семенника и семенной жидкости, может произойти во время инкубации в яйцеводe, в маточной жидкости, в вагинальном секрете [Aopima S. et al., 1973]. В физиологических условиях она происходит в эстрогенподготовленной матке. При капацитации происходит не только устранение поверхностных антигенов с плазматической мембраны сперматозоидов, но и их внутримембранная реорганизация. У большинства изученных видов эти изменения происходят в яйцеводах, но у человека ситуация менее ясна, так как требования, предъявляемые к капацитации, могут быть удовлетворены за счет инкубации *in vitro* в культуральной среде [Aopima S. et al., 1978]. Капацитация сама по себе еще недостаточна для осуществления финальной стадии фертилизации.

Вслед за капацитацией сперматозоид претерпевает процесс активации или акросомную реакцию (рис. 27), в ходе которой из акросомы высвобождаются ферменты (преимущественно гиалуронидаза), способные растворить гиалуроновую кислоту, склеивающую фолликулярные клетки. Вследствие этого клетки лучистого венца разъединяются и перед сперматозоидами открывается поверхность ПЗ яйцеклетки. Акросомную реакцию, по-видимому, стимулируют какие-то медиаторы яйцеклетки, так как моноклональные антитела к ПЗ подавляют эту реакцию (см. 3.5). Применение антисыворотки к акросомной гиалуронидазе блокирует расплавление фолликулярных клеток лучистого венца. Вслед за акросомной реакцией меняется характер движений хвоста

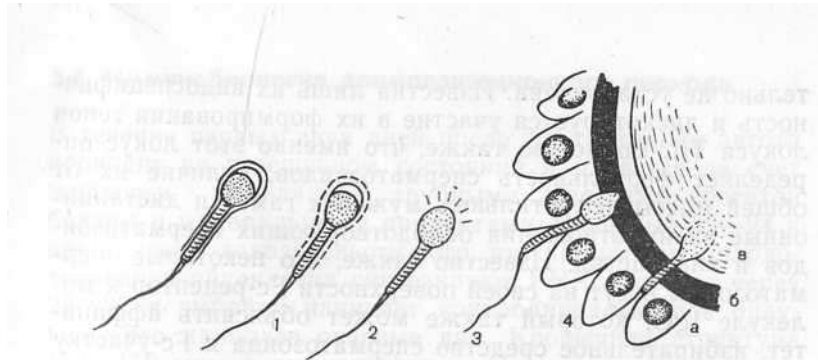


Рис. 27. Схема акросомной реакции и пенетрации сперматозоида в яйцеклетку.

1 — сперматозоид во время капацитации; 2 — сперматозоид претерпевает акросомную реакцию; 3 — сперматозоид пенетрирует прозрачную зону; 4 — головка сперматозоида погрузилась в яйцеклетку (а — лучистый венец; б — прозрачная зона; в — цитоплазма яйцеклетки).

сперматозоида, они становятся более эпизодичными с широкой амплитудой.

После того как несколько сперматозоидов касаются поверхности прозрачной яйцеклетки (рис. 28), один из них (фертилизующий сперматозоид), сделав несколько энергичных движений хвостом, начинает пенетрировать ПЗ. Акросомальная шапочка его полностью разрушается, разоблачая внутреннюю акросомальную мембрану, которая крепко связывается с ПЗ яйцеклетки. Движения сперматозоида и его пенетрация через ПЗ протекает с активным участием другого акросомального фермента — акрозина, локализующегося во внутренней мембране акросомы. Связь сперматозоида с ПЗ происходит с участием распознающих участков мужских и женских гамет — рецепторов, природа которых оконча-

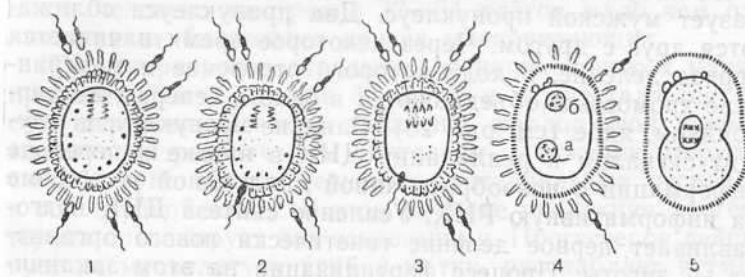


Рис. 28. Схема оплодотворения.

1 — приближение сперматозоидов к яйцеклетке; 2 — акросомная реакция; 3 — сперматозоид проникает через лучистый венец и прозрачную зону; 4 — образование мужского (а) и женского (б) пронуклеуса; 5 — диплоидная зигота.

тельно не установлена. Известна лишь их видоспецифичность и дискутируется участие в их формировании генов локуса T/t. Возможно также, что именно этот локус определяет фертильность сперматозоидов, отличие их от общей массы нефертильных мужских гамет и дистанционные взаимоотношения оплодотворяющих сперматозоидов и яйцеклетки. Известно также, что некоторые сперматозоиды несут на своей поверхности Fc-рецептор к молекуле IgG, который также может объяснить аффинитет, избирательное средство сперматозоида к Fc-участку яйцеклетки. Последние принимают участие в презиготическом отборе сперматозоидов, так как среди сперматозоидов, достигших яйцевода, большинство содержит указанный Fc-рецептор [Allen G., Bourne F., 1978; Sethi K., Brandis M., 1980; Witkin S. et al., 1980].

После проникновения одного сперматозоида в яйцеклетку меняется состав мукопротеинов ПЗ, и она становится непроницаемой для других сперматозоидов («зональная реакция», предупреждающая триплоидию). С помощью пограничных белковых ферментов и акрозина яйцеклетка освобождается от акросомы, а головка сперматозоида поступает в перивителлиновое пространство, где попадает в «ловушку» микроворсин яйцеклетки. Постакросомальная область головки сперматозоида с лабильной плазматической мембраной погружается в цитоплазму ооцита, где и происходит полное слияние гамет. Оно совпадает со вторым мейотическим делением ооцита, которое было «заморожено» в ранней фазе оогенеза и стимулируется проникновением сперматозоида. Созревшее ядро яйцеклетки известно как женский пронуклеус. В цитоплазме яйца сперматозоид теряет хвост, и его набухшее ядро, где активируется синтез белка, образует мужской пронуклеус. Два пронуклеуса сближаются друг с другом. Через некоторое время начинается первое деление, в ходе которого отцовские и материнские хромосомы объединяются в одном, теперь уже диплоидном, ядре (см. рис. 28). Слияние пронуклеусов служит сигналом к репликации ДНК в клетке и передаче информации о новообразованной диплоидной хромосоме на информативную РНК. Усиление синтеза ДНК подготавливает первое деление генетически нового организма — зиготы. Процесс фертилизации на этом заканчивается.

Время между овуляцией и фертилизацией у женщин находится в пределах от 12 до 24 ч.

### 5.3. Иммунология доимплантационного периода

В течение первых двух дней после фертилизации зигота проводит во взвешенном состоянии и питается за счет жидкости, выделяемой трубными железами, богатой белком и минеральными продуктами. В первые 22—24 ч нет никаких доказательств того, что хромосомы оплодотворенной яйцеклетки синтезируют РНК. Но уже через 22—27 ч эмбрион начинает контролировать свое будущее. Это наиболее опасные дни. Крошечная структура (70—150 мкм в диаметре) напоминает матери о факте своего существования. Если такой информации нет, то может произойти аборт и восстановление материнского овариального цикла.

На этом этапе происходит дробление зиготы сначала в меридиальной плоскости на 2 клетки-бластомеры (blastos — зародыш, meros — часть), а затем по экватору — на 4 клетки. Несмотря на увеличение числа клеток, зародыш почти не увеличивается в размерах, возникающие при дроблении клетки поначалу малодифференцированы, однородны. Дальнейшее чередование борозд дробления приводит к образованию стадии морулы (morula — тутовая ягода) — плотного клеточного скопления из 12—16 бластомеров (рис. 29). Постепенно в центре зародыша скапливаются крупные темные бластомеры (внутренняя клеточная масса), из которых впоследствии образуются эмбрион и внезародышевые части, а их окружают светлые и относительно мелкие бластомеры, которые позже образуют трофобласт. При прохождении через трубу между этими двумя зародышевыми зачатками образуется небольшая полость, заполненная жидкостью, т. е. формируется бластоциста. Бластоциста человека на уровне 32—64 клеток мало чем отличается от бластоцист других млекопитающих.

Транспортировка зародыша по направлению к матке продолжается в течение 5—6 сут и осуществляется за счет перистальтических движений фаллопиевой трубы, выстланной реснитчатым эпителием. Движению морулы способствуют также мерцания эпителиальных ресничек и ток трубной слизи. В этом периоде продукция прогестерона превалирует над эстрогенами. Прогестерон действует на мускулатуру труб и матки, расслабляет истмический сфинктер.

Ранняя дифференцировка зародыша зависит не только от гормональных влияний и продуктов маточных же-

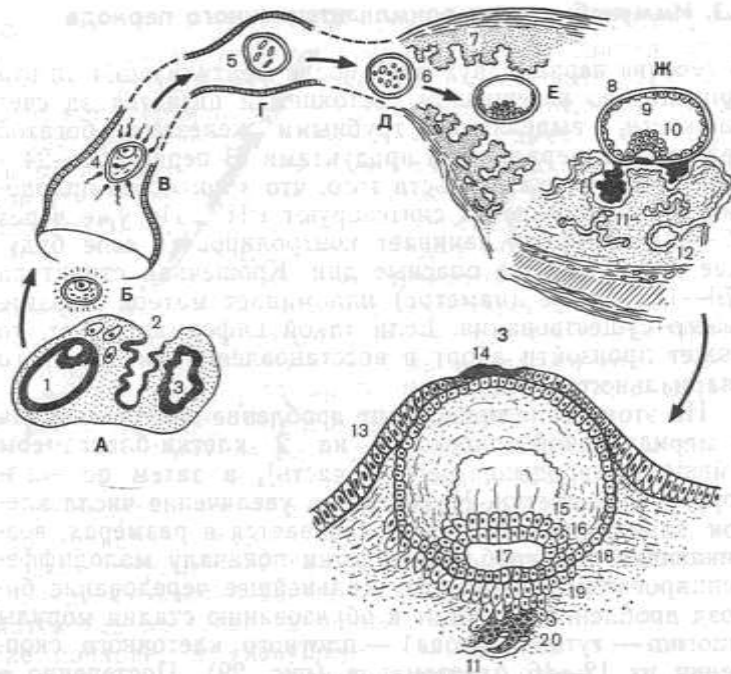


Рис. 29. Схема фертилизации, имплантации и раннего развития эмбриона человека.

А — яичник; Б — яйцеклетка; В — оплодотворение в дистальном отделе маточной трубы; Г — ранняя бластоциста на стадии 4 бластомеров (2 дня); Д — морула на стадии 12—16 бластомеров (4 дня); Е — свободная бластоциста (5 дней); Ж — имплантация поздней бластоцисты (6 дней); З — раннее развитие зародыша человека. 1 — зрелый фолликул; 2 — разорванный фолликул; 3 — желтое тело; 4 — оплодотворенная яйцеклетка; 5 — бластоциста в яйцеводе; 6 — полость матки; 7 — слизистая оболочка матки; 8 — прозрачная зона; 9 — трофобласт; 10 — внутренняя клеточная масса; 11 — кровеносные сосуды слизистой матки; 12 — железы слизистой матки; 13 — эпителий матки; 14 — сгусток фибрина; 15 — энтодерма; 16 — эктодерма зародышевого листка; 17 — амнион; 18 — цитотрофобласт; 19 — синцитиотрофобласт; 20 — лакуна крови (на 11—12-й день развития).

лез, но и от автономных веществ, присущих самой бластоцисте. Это доказывает возможность развития оплодотворенной яйцеклетки в многоклеточный эмбрион при ее трансплантации в эктопические места: в переднюю камеру глаза, мозг, семенники, селезенку и брыжейку, т. е. в участки организма, относительно мало чувствительные к действию гормонов.

В первые дни на поверхности зиготы обнаруживаются специфические антигены, появляющиеся на стадии четырех бластомеров и слабее экспрессированные на

бластоцисте. Обработка бластоцист мышей кроличьей антисывороткой к этому антигену нарушала нормальное развитие эмбриона [Johnson L., Calarco P., 1980]. Бластоцистная жидкость оказывает ингибирующий эффект на пролиферацию аллогенных лимфоцитов в присутствии митогенов, т. е. обладает иммуносупрессивной активностью, которая, возможно, связана с присутствием гистамина [Dey S. et al., 1981].

Супрессивным эффектом обладает и среда, в которой культивируют бластоцисту. Это было показано на модели смешанной культуры лимфоцитов и образования цитотоксических Т-лимфоцитов [Biton S. et al., 1983]. Угнетение иммунной реакции происходило в афферентной, но не эфферентной фазах, и *in vivo* она может быть связана с индукцией супрессорных клеток. Возможно, что иммунопротективное свойство продуктов, продуцируемых бластоцистой, связано с фактором ранней беременности.

Теоретически и практически важный вопрос о присутствии антигенов тканевой совместимости на ранних этапах развития зародыша был предметом многолетней дискуссии. Ряд исследователей придерживался мнения, что антигены комплекса МНС выражены уже на стадии ранней бластоцисты. С. Кгсо и Е. Goldberg (1977) показали наличие H-2K- и H-2-антигенов уже на стадии 8-клеточного эмбриона. К. Cozad и С. Wagner (1981) отмечали на ранних стадиях развития экспрессию лишь некоторых аллелей H-2 ( $K^d$  и  $D^k$ ), в то время как другие аллельные специфичности не проявлялись ( $D^b$ ,  $D^d$  и  $K^k$ ). При этом иногда на бластоцистах присутствовали H-2-антигены, которые отсутствовали на лимфоцитах взрослых мышей тех же линий. В клетках мышинной морулы и доимплантационных бластоцистах коров и овец были найдены также молекулы  $\beta_2$ -микроглобулина, ковалентно связанные с H-2-комплексом [Peterson P. et al., 1978].

Методом радиоиммунной преципитации с антисыворотками к H-2 G. Webb и соавт. (1977) обнаружили самостоятельный синтез H-2-антигенов в бластоцистах, искусственно выращиваемых в культуральной среде, уже через 96 ч после оплодотворения R. Searle и соавт. (1976) также отметили наличие H-2-антигенов у эмбрионов мышей на стадии 8 бластомеров, морулы и бластоцисты, причем в ходе дальнейшей имплантации эти антигены маскировались. Зародыши, полученные из матки



на 10-й день после имплантации, несли на поверхности значительно меньше антигенов комплекса МНС, чем бластоцисты 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> дня.

J. Dishle и соавт. (1977) считают, что трудности обнаружения аллоантигенов отцовского гаплотипа на всех этапах развития зародыша объясняются маскировкой их сialомуцинами материнской сыворотки крови. Не только на бластоцисте, но даже на лимфоцитах новорожденных HLA-антигены, унаследованные от отца, экспрессированы значительно слабее, чем HLA материнского происхождения. Взаимодействие HLA-антисывороток с лимфоцитами плода и новорожденного становится более явным после их трехкратного отмывания. Гонадотропные гормоны также могут маскировать аллоантигены зародыша, обработка выделенных бластоцист мышей эстрадиолом в течение 14 ч уменьшает связывание с ее поверхностью антител к H-2-антигенам на 70% [Hakanson S., 1980]. S. Hakanson и K. Sundquist (1975) удаляли после фертилизации яичники и поддерживали жизнеспособность бластоцист мышей ежедневным введением прогестерона. На таких искусственно сохраняемых живых бластоцистах H-2-антигены выявлялись значительно легче, чем на зародышах беременных и неоперированных животных.

Косвенным доказательством наличия аллоантигенов у раннего зародыша служат опыты *in vivo* с пересадкой бластоцисты. Когда мышам аллогенную бластоцисту трансплантировали под капсулу почки, она в отличие от длительно переживающего аллогенного трофобласта разрушалась [Edwards R. et al., 1975; Kirkwood K., Billington W., 1981]. Еще быстрее отторгался ранний зародыш в тех случаях, когда реципиент был предварительно иммунизирован аллогенными клетками от взрослого донора, идентичного донору бластоцисты. Нарушение целостности ПЗ бластоцисты мыши антисывороткой к H-2-антигенам беременной самки приводило к гибели неимплантированного зародыша, если же антисыворотку вводили сразу после имплантации, то зародыш не страдал [Heupel S. et al., 1969].

Наряду с тем имеется много указаний на то, что в доимплантационной бластоцисте состав аллоантигенов отцовского происхождения редуцирован. Дефицит H-антигенов на мышинных и крысиных бластоцистах был связан с сильными антигенами тканевой совместимости (H-2 у мышей и Ag-B у крыс), но не касался слабых

H-антигенов и отцовского H-Y-антигена [Billington W. et al., 1977; Ferguson F., Palm J., 1977; Jenkinson E., Owen V., 1980]. Аллоантигены материнского происхождения на бластоцисте выявляются с помощью непрямой иммуофлюоресценции на всех стадиях до имплантации, в то время как отцовские H-2-антигены не связывались со специфическими антителами от стадии двух бластомеров и до зародыша 4<sup>1</sup>/<sub>2</sub> дня. Это касалось как внутренней клеточной массы, так и клеток первичной трофобластической эктодермы [Miggleton-Harris A., Johnson M., 1976].

Положение вещей значительно прояснилось после того, как в эксперименте стали применять моноклональные антитела к MHC-антигенам. С помощью ауторадиографии P. Lala и P. Kim (1983) показали, что доимплантационная бластоциста мыши 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> дня содержит отцовские антигены MHC только I, но не II класса и ее иммуногенность относительно снижена. На этой же стадии на бластоцисте экспрессированы и специфические трофобластические антигены [Miyaono T., Iritani A., 1983].

#### 5.4. Иммунобиология имплантации

Бластоциста человека на 6—7-е сутки внутриутробного периода прикрепляется (прилипает) к эпителию эндометрия и начинает активно внедряться в слизистую матки, наступает имплантация. Этот процесс зависит от ряда физиологических механизмов. Первичный трофобласт выделяет ферменты типа гиалуронидазы, литически действующие на эпителий матки и способствующие инвазии бластоцисты в подлежащие ткани. Маточные железы в свою очередь секретируют ряд веществ, облегчающих имплантацию. К числу их относится утероглобулин (бластокинин) — белок с низкой мол. м., способный проникать через ПЗ и действовать на бластоцисту еще до ее прикрепления к эпителию матки (первый этап парабיוза между матерью и плодом). Вслед за ним маточные железы начинают секретировать другой низкомолекулярный фермент — зонализин, который вызывает рассасывание ПЗ и способствует спаянию эмбриона с клетками эндометрия. К этому времени эндометрий и миометрий подготовлены к восприятию бластоцисты гонадотропными гормонами.

Активность прогестерона в лютеальной фазе овариального цикла побуждает матку продуцировать секрет, богатый белками и сахарами. Имплантация происходит

во время прогестерондоминированной фазы. Но если животных в этом периоде искусственно лишить эстрогенов, эмбрион не прикрепляется к стенке матки, а сохраняется в свободном состоянии в ее полости, метаболизм blastocysts снижается, ПЗ не рассасывается. Для полноценной имплантации необходимо сочетанное, доминирующее поочередно действие гормонов, неодинаковое у представителей разных видов.

В зависимости от особенностей имплантации животные разных видов делятся на инвазивные, когда зародыш эрозирует эпителий, стромальные клетки, соединительную ткань и даже кровеносные сосуды матки, и неинвазивные, у которых эпителий матки сохраняет целостность и участвует в образовании плаценты. Сроки поступления эмбриона в матку и имплантации варьируют у разных видов (табл. 8).

Имплантация протекает быстро: в течение первых суток blastocyst погружается в слизистую оболочку более чем на половину, а за следующие сутки полностью. Заживление дефекта над погружившейся в слизистую оболочку blastocyst завершается за 4—5 сут. В тканях, окружающих имплантированную blastocyst, уси-

Таблица 8. Дни образования взаимосвязей эмбрион — мать (после оплодотворения) у разных млекопитающих [по М. Johnson и В. Everitt, 1980]

Млекопитающие	Поступление эмбриона в матку	Прикрепление к стенке матки	Регрессия желтого тела при отсутствии оплодотворения	Беременность
<b>Инвазивные</b>				
собака	4—6 (?)	14—21	61	61 <sup>1</sup>
мышь	3	4,5	10—21	21
крыса	3	4,5—5,5	10—12	22
кролик	3,5	7—8	12	28—30
человек	3—5	6 (?)	12—14	270
<b>Неинвазивные</b>				
овца	2—4	16	16—18	145—150
свинья	2—4	18	16—18	114
корова	3—4	30—45	18—20	282
лошадь	4—5	30—40	20—21	340

<sup>1</sup> У некоторых видов (собака) лютеальная фаза длится на протяжении всей беременности. У других (мышь, крыса, кролик) коитус эквивалентен наступлению беременности, поэтому лютеальная фаза продлевается за счет нейрогенной стимуляции гипофиза.

ливается васкуляризация и происходит отложение гликогена. Когда слизистая оболочка расплавляется трофобластом, вокруг яйца образуется тканевый распад, являющийся питательной средой для зародыша (эмбриотроф). Имплантация заканчивается (у человека за 3 нед) с инвазией зародыша в децидуальную оболочку матки. Последняя служит источником питания, иммунорегуляторной зоной и основой развития плаценты.

Процессы регуляции развития и дифференцировки эмбриона с момента оплодотворения и до имплантации являются очень четко отлаженными. Так, в эксперименте не удается добиться имплантации в гормонально подготовленный эндометрий сингенной яйцеклетки, не достигшей в своем развитии стадии 6-дневной бластоцисты.

Для зародыша млекопитающих и человека характерно раннее и мощное развитие трофобласта. Уже через 8—9 сут после оплодотворения яйцеклетки человека отчетливо прослеживается дифференцировка трофобласта на 2 слоя: внутренний, обращенный к полости бластоцисты (цитотрофобласт), и наружный, прилежащий к слизистой оболочке матки (синцитиотрофобласт). На трофобласте сразу же образуются ворсинки, значительно увеличивающие площадь его соприкосновения с эмбриотрофом. Если развитие и дифференцировка трофобласта происходит раньше физиологического срока, то имплантация бластоцисты может произойти до ее попадания в полость матки, в яйцевоме или даже брюшной полости, в итоге развивается внематочная беременность (при затруднении прохождения яйцеклетки через фаллопиеву трубу).

Цитотрофобласт представлен однородным эпителием, изолированные клетки которого митотически делятся и постепенно окружают бластоцисту тонкой оболочкой. Синцитиотрофобласт обладает выраженной способностью к инвазии в материнские ткани, его ворсины разветвляются и все глубже погружаются в слизистую оболочку матки. Клетки синцитиотрофобласта делятся амитотически, в дальнейшем этот слой трофобласта бывает представлен многоклеточной массой. На этом этапе ворсины трофобласта состоят из цитотрофобласта (клетки Лангханса), покрытого синцитиотрофобластом. В первом часто обнаруживаются митозы, во втором — они редки; видимо синцитиотрофобласт растет за счет постепенно сливающихся клеток цитотрофобласта. Ветвящиеся

ся ворсины синцитиотрофобласта разрушают стенки сосудов слизистой оболочки матки и оказываются погруженными в излившуюся кровь — лакуны. Именно через эти ворсины происходит снабжение зародыша кислородом и питательными веществами, содержащимися в материнской крови, продуктах деятельности маточных желез («маточное молоко») и разрушенных клеток слизистой оболочки. В дальнейшем лакуны сливаются между собой, образуя межворсинчатое пространство между слизистой оболочкой матки и трофобластом.

Дефект ткани, образовавшийся на месте имплантации бластоцисты, вначале закрывается сгустком фибрина, а затем восполняется клетками слизистой оболочки матки. Зародышевый пузырь все глубже погружается в стенку матки. Клетки синцитиотрофобласта продуцируют стероидные гормоны, через их каналы также происходит выделение продуктов метаболизма плода. В этом слое трофобласта начинается синтез хорионического гонадотропина, а во второй половине беременности — ряда протеолитических и гликолитических ферментов. Именно из синцитиотрофобласта образуются элементы хориона, которые в дальнейшем дают начало плодной части плаценты. Элементы синцитиотрофобласта способны проникать в кровоток матери в количестве до 100 000—200 000 клеток в сутки, но они никогда не обнаруживаются в лимфатических узлах, дренирующих женский репродуктивный тракт. Скорость тока крови через децидуальную оболочку матки и трофобласт составляет около 500 мл/мин.

К концу 2-й недели внутриутробного периода развития наружный слой плодного пузыря человека представлен слоем цитотрофобласта и разросшимся синцитиотрофобластом, крепко спаянным с окружающей слизистой оболочкой и лакунами излившейся крови. Слой синцитиотрофобласта постепенно теряет четкое клеточное строение и превращается в сплошную цитоплазму с множеством ядер. К этому времени формируются зародышевые листки эмбриона и мезодерма врастает в трофобласт, который окружает бластоцисту. Так образуется мезодермальная сердцевина вторичных или окончательных ворсин. Трофобласт с вросшей мезодермой образует хорион. Под трофобластом располагается слой незародышевой мезодермы с остатками жидкости. Внутри плодного пузыря образуется желточная и амниотическая полости.

При изучении аллоантигенов трофобласта, как и при исследовании антигенов тканевой совместимости бластоцисты, были получены разнородные результаты. Большинство авторов указывает, что на мембранах клеток трофобласта и внезародышевых органов (желточный мешок) уже на самых ранних стадиях развития экспрессированы материнские и отцовские МНС-антигены I класса, но антигены II класса (Ia) отсутствуют.

Групповые АВ0-антигены слабо выражены на элементах трофобласта [Szulman A., 1972; Loke Y., Ballard A., 1973]. То, что эти антигены не замаскированы внеклеточными субстанциями, было показано электронно-микроскопически [Goto S. et al., 1976]. Авторы нашли низкое содержание А- и В-групповых антигенов в человеческом трофобласте даже после обработки его различными ферментами. Существуют отдельные указания на отсутствие в клетках трофобласта Rh (D)-антигенов [Goto S. et al., 1980].

Имплантация также сопровождается взаимодействием между иммуноглобулинами матери и зародыша. Еще перед имплантацией мышинного зародыша плазматические клетки, синтезирующие IgA, инфильтрируют железы эндометрия и полость матки. На 5-е сутки после имплантации здесь появляется IgG и позже IgM. Те же Ig в незначительных количествах обнаруживаются в эндодерме зародыша 6—10 сут. В его кровотоке попадает лишь IgG, а IgA и IgM играют какую-то роль в регуляции развития эмбриона, отличающуюся от гормональной регуляции [Rachman F. et al., 1984].

### 5.5. Фактор ранней беременности

Фактор ранней беременности — ФРБ, впервые описанный Н. Morton и соавт. (1974), является специфической для беременности иммуносупрессивной субстанцией, появляющейся у мышей на материнских лимфоцитах и в сыворотке крови уже через 4—6 ч после скрещивания, а у женщин через 24—48 ч после фертилизации [Morton H. et al., 1976, 1977]. Лабораторной моделью для изучения этого фактора послужила реакция розеткообразования лимфоцитов с эритроцитами барана, которую ФРБ заметно тормозит. ФРБ присутствует в крови и моче, а также в плацентарных экстрактах во время двух первых триместров беременности, его не находят у небеременных и инфертильных женщин.

ФРБ подавляет иммунологические свойства ранее сенсibilизированных лимфоцитов [Noonan F. et al., 1979]. Возможно, что именно его примесь сообщает иммуносупрессивный эффект таким плацентарным гормонам, как хорионический гонадотропин и плацентарный лактоген. Продукция ФРБ, однако, опережает развитие гормональных функций плаценты, так как он появляется в надосадочной жидкости при культивировании человеческой яйцеклетки уже через 48 ч после ее оплодотворения *in vitro* [Smart Y. et al., 1981]. Его так и называют «фактор яйцеклетки — первый сигнал беременности» [Cavanach A. et al., 1980]. Недавно обнаружена ассоциация ФРБ с IgA [Roberts T., Smart Y., 1983] и способность ФРБ побуждать Т-хелперы к синтезу блокирующих факторов [Morton H., 1984].

Молекулярная природа ФРБ-комплекса изучена неполно. У мышей были обнаружены две формы ФРБ: компонент с большой молекулой (молекулярная масса 200 000), который превращается в меньшую молекулу после удаления белкового носителя, и низкомолекулярный компонент, представленный двумя субчастицами —  $\alpha$  и  $\beta$ . ФРБ- $\alpha$  продуцируется в яйцеводах и фиксируется на лимфоцитах. ФРБ- $\beta$ -субчастица синтезируется желтым телом в ответ на сигнализацию от фертилизованного яйца, она присутствует в сыворотке и связана с пролактином [Clarke F. et al., 1980; Morton H. et al., 1980]. ФРБ- $\beta$  появляется несколько позже, чем ФРБ- $\alpha$ , но, по-видимому, оба эти компонента тормозят распознавание лимфоцитами оплодотворенной яйцеклетки не только в доимплантационном периоде, но и после внедрения бластоцисты в слизистую оболочку матки. Есть все основания думать, что ФРБ является не только самым первым показателем наступившей фертилизации, но и наиболее ранним иммуносупрессорным агентом, предотвращающим отторжение бластоцисты.

### 5.6. Децидуальная реакция

К моменту имплантации бластоцисты набухшая слизистая оболочка матки находится в секреторной фазе, ее железы гипертрофированы секретом, клетки стромы содержат гликоген, гликопротеиды, мукополисахариды, в них повышено содержание всех микроэлементов, необходимых для питания зародыша. Пролиферация и трансформация стромальных клеток эндометрия в непосредственной близости к эмбриону стимулирует специализа-

цию тканей, называемую децидуальной реакцией. У грызунов характерные децидуальные клетки в эндометрии появляются только в ответ на попадание плода в полость матки. У людей «предецидуальные» клетки, морфологически не отличимые от децидуальных клеток при беременности, возникают в эндометрии на поздней лютеальной фазе оварияльного цикла даже в отсутствие эмбриона [Finn C., 1977].

Видоизмененная слизистая оболочка матки, со всех сторон окружающая внедрившееся яйцо, в дальнейшем превращается в материнскую часть плаценты (децидуальная оболочка). Децидуальная оболочка предназначена не только для защиты и развития плода, но и для выведения его наружу. Она отторгается вместе с плацентой. Превращение эндометрия в децидуальную оболочку у беременной женщины происходит на высоте продукции эстрогенов, в течение первых 14 нед беременности эта оболочка интенсивно развивается. Здесь продуцируется ряд веществ типа тромбопластина, усиливающих расплавление тромбов и способствующих снижению свертываемости крови, излившейся в полость между ворсин трофобласта.

Известно, что децидуальная оболочка выполняет трофическую функцию, разделяет плоды при многоплодной беременности, ограничивает инвазию трофобласта в глубокие слои матки, несет эндокринные функции. Возможную иммунологическую роль децидуальных клеток предположили еще D. Kirby и соавт. (1966), показав, что бластоциста  $4\frac{1}{2}$  дня (мыши) не развивается под капсулой почки у специфически аллоиммунизированных мышей, но нормально созревает в децидуальной оболочке псевдобеременных мышей той же линии. Кожный аллотрансплантат, помещенный в децидуальную слизистую псевдобеременной матки, выживает значительно дольше, чем в других местах у того же реципиента [Beer A. et al., 1971] или в матке девственных самок [Watnick A., Russo R., 1968; Kaye M. et al., 1974]. Кожный аллотрансплантат, пересаженный в децидуальную оболочку беременным самкам, не только дольше сохранялся, но и слабо стимулировал образование аллоантител [Beer A., Sio J., 1982].

Эти данные были интерпретированы в плане блокады афферентного звена иммунного ответа, так как у предварительно иммунизированных беременных и псевдобеременных самок децидуальная оболочка не ока-



зывала защитного влияния на кожный аллотрансплантат (эфферентное звено иммунитета не нарушалось). Теория афферентной блокады была предложена D. Kirby и T. Cowell (1968). Позже стало ясным, что кожа содержит значительно больше МНС-антигенов, нежели эмбрион (особенно антигенов II класса). Поэтому возможно, что по отношению к плоду децидуальная оболочка может блокировать и эфферентное звено иммунитета, как это наблюдается в отношении перевиваемых опухолей [Wilson J., 1963]. Эфферентная блокада подразумевает не подавление распознавания чужеродных антигенов, а местное супрессорное действие на иммунные лимфоциты продуктов, выделяемых децидуальной слизистой (возможно совместно с трофобластом).

Было также показано, что экстракты децидуальной ткани подавляют разнообразные иммунологические эффекты: выработку антител клетками селезенки взрослых животных [Globerson A. et al., 1976], пролиферативный ответ лимфоцитов на аллогенные клетки и поликлональные митогены [Golander A. et al., 1981]. R. Slapsys и D. Clark (1982, 1983) продемонстрировали наличие в эндометрии, особенно — в децидуальной оболочке, беременных мышей, антигенонеспецифических супрессорных клеток, не принадлежащих Т-серии (см. 7.2).

Вместе с очевидной способностью проявлять локальную иммуносупрессивную активность децидуальная оболочка является местом иммунологического распознавания чужеродных антигенов эмбриона. У мышей макрофаги и клетки маточного эпителия фагоцитируют элементы развивающегося трофобласта [Billington W., 1969]. Это может предотвращать рециркуляцию клеток трофобласта у матери и снижать развитие специфической сенсибилизации. У людей децидуальная оболочка оказывается инфильтрированной лимфоцитами на ранней и поздней стадиях беременности и, возможно, она принимает участие в формировании фибриноидного слоя плаценты [Azab J. et al., 1972]. У лошадей лимфоцитарная реакция в децидуальном слое выражена сильнее при ксеногенной (от осла), а не аллогенной беременности [Allen W., Moore R., 1972].

До настоящего времени не выяснено, является ли децидуальная реакция лишь локальным ответом слизистой эндометрия на гормональные сигналы или сюда происходит миграция клеток из других мест. Существует мнение, что в децидуальную слизистую оболочку мигри-

руют клетки из костного мозга [Kearns M., Lala P., 1982]. Меченные аллогенные клетки селезенки и макрофаги от гибридов F<sub>1</sub>, вводимые радиационным химерам, затем обнаруживали у 50% беременных мышей в децидуальной оболочке. J. Bulmer и C. Sunderland (1983) выявили с помощью моноклональных антител общий лейкоцитарный антиген, присущий с одной стороны децидуальной ткани человека на 8—10-й неделе беременности, а с другой — Т- и В-лимфоцитам и нормальным киллерам. O. Bergard и соавт. (1978) показали, что все децидуальные клетки мышей содержат на поверхности H-2-антигены, у половины из них представлен характерный для Т-лимфоцитов антиген Thy-1 и рецептор Fc к IgG. P. Lala и соавт. (1983), используя моноклональные антитела, показали, что типичные децидуальные клетки и децидуальные макрофаги мыши содержат лишь следы антигена Ia, присущего 45—55% клеток селезенки. Антиген Thy-1, обнаруживаемый у 97—99% тимоцитов, на 8-й день беременности содержался на 13—14%, а на 12-й день — на 36—63% децидуальных клеток.

С помощью моноклональных антител к децидуальным тканям мышей было изучено распределение специфического антигена, названного Dec-1. Он присутствовал на большинстве зрелых децидуальных клеток (на 26% клеток — 8-й день беременности и на 63% — 12-й день) и практически не определялся на децидуальных макрофагах и лимфоцитах [Lala P., Kearns M., 1983]. У людей децидуальные клетки ткани активно связывают моноклональные антитела к трансферрину и ряду дифференцировочных антигенов, но не взаимодействуют с антителами и антигенами МНС [Johnson P., Bulmer J., 1984].

Децидуальные ткани человека продуцируют также специфические растворимые белки [Umapathysivam K., Jones W., 1981]. Они оказывали на эндометрий эффект, подобный действию прогестерона, и могли проникать в амниотическую жидкость [Joshi S., et al., 1980]. Следовательно, развитие децидуальной реакции сопровождается синтезом новых цитоплазматических и мембранных антигенов, часть которых, возможно, лишена видовой специфичности. Антисыворотка, полученная иммунизацией кроликов экстрактами децидуальной оболочки крыс, при введении ее крысам в первые дни беременности подавляла децидуальную реакцию, а при введении на 12—14-й день беременности вызывала аборт [Ioshinada K., 1974].

### 3.7. Внутриматочные секреты

В пред- и постимплантационном периоде эндометрий находится в стадии секреторной активности. Маточные железы при этом продуцируют ряд биологически активных секретов, из которых лучше других изучен утероглобулин (другие названия —  $\beta$ -у-глобулин или бластокинин). Этот гликопротеин (мол. м. 15 000) составляет около 70% всех белков, секретируемых маточными железами крольчих и его синтез зависит от прогестерона. У других млекопитающих были также обнаружены белки, обладающие сходной с утероглобулином активностью [Daniel J., 1976]. Они появляются в ближайшие дни после овуляции, стимулируют созревание бластоцисты, так как проникают через ПЗ, и принимают активное участие в процессах имплантации. Макромолекулы, идентичные утероглобулину, были найдены в маточных секретах женщин [Daniel J., 1973; Wolf D., Mastroianni L., 1975].

Белок маточного секрета женщин, сходный с утероглобулином, является димером с мол. м. 50 000. Он был изолирован из децидуальных тканей и обозначен как  $\alpha_2$ -маточный протенин [Sutcliffe R. et al., 1980]. Этот белок содержится также в миометрии, тканях хориона, амниона, в амниотической жидкости. По-видимому, местом его первичного синтеза являются децидуальные ткани, а в других участках репродуктивного тракта он появляется уже вторично.

Попытки воздействия на ранние стадии беременности с помощью антисывороток к утероглобулину не дали очевидных результатов из-за трудностей выделения его для иммунизации в относительно чистом виде. M. Johnson (1974) получил у морских свинок антисыворотку против эпителия матки беременных крольчих и абсорбировал эту антисыворотку кроличьей сывороткой и высушенным экстрактом печени. Эта антисыворотка была частично специфична к кроличьему утероглобулину, ее введение в матку крольчихам (6—7 сут беременности) подавляло развитие эмбриона и процесс имплантации. Однако эффект этот был непостоянным, так как в полости матки концентрация утероглобулина настолько велика, что его нейтрализация требует применения антисывороток с чрезвычайно высоким титром антител.

### 5.8. Вилочковая железа при беременности

Вилочковая железа (тимус) принимает участие во взаимоотношениях между гипоталамусом и гипофизом и играет важную роль в развитии и созревании семенников и яичников [Bazedovsky M., Sorokin E., 1974]. Неонатальное удаление вилочковой железы (тимэктомия) ведет к угнетению функций яичника и созревания фолликулов у мышей и крыс [Nishizuka Y., Sakakura T., 1969; Hattori M., Brandon M., 1977], а ретрансплантация сингенной вилочковой железы устраняет указанные расстройства [Sakakura T., Nishizuka Y., 1972]. Мыши nude, у которых отсутствует вилочковая железа, относительно инфертильны из-за плохого созревания овариальных фолликулов [Lintern-Moore S., Pantelouris E., 1976]. Овариальные дисфункции были описаны после удаления вилочковой железы и у взрослых людей [Michael S., 1979].

Беременность сопровождается временной инволюцией вилочковой железы. Снижение массы вилочковой железы у беременных самок мышей и крыс отмечается при сингенной, особенно заметно при аллогенной, беременности, а также при пересадке в матку аллогенной blastocysts (даже в случаях ее неприживления) [Колесников С. И., Морозова Л. М., 1985]. К 14 сут беременности масса вилочковой железы уменьшается в 3—4 раза по сравнению с исходной, а перед родами снижается еще больше, но эти показатели зависят от линейных различий между родителями [Leeming C. et al., 1984]. Состояние атрофии вилочковой железы сохранялось в течение 3 нед после родов [Phuc L. et al., 1981a]. Атрофия вилочковой железы происходит преимущественно за счет лимфоцитов кортикального слоя (как и при стрессовых реакциях), состояние лимфоцитов мозгового слоя вилочковой железы (тимуса) при этом заметно не нарушается. При беременности снижается не только количество тимоцитов, но и их функциональная активность. Так уже на 10-й день беременности ответ Т-лимфоцитов мышей на митогены (ФГА, КонА) заметно ослаблен. Обработка тимоцитов беременных мышей нейраминидазой восстанавливала их пролиферативную активность в присутствии митогенов. Это указывает на «маскировку» рецепторов тимоцитов продуктами эндогенного происхождения. Однако ответ тимоцитов на аллоантигены в смешанной культуре при этом существенно не меняется

[Phuc L. et al., 1981]. Инволюцию вилочковой железы связывают с комбинированным влиянием на нее стероидных половых гормонов и опосредованно — через систему кортикостероидов действием надпочечников. Введение самкам экзогенного эстрадиола ведет к снижению циркулирующих гормонов вилочковой железы [Allen L. et al., 1984].

Интересно, что предварительная (до беременности) иммунизация самок аллогенными кожными трансплантами или ксеногенными эритроцитами полностью предотвращает инволюцию вилочковой железы, а иммунизация после наступления беременности такого влияния не оказывает. Искусственное предотвращение инволюции вилочковой железы не сказывалось на исходе беременности [Clarke A., 1979].

Здесь следует указать, что вилочковая железа — орган, не способный к регенерации, обеднение его лимфоидными клетками (часто обозначаемое как атрофия) наблюдается не только при беременности, но и при опухолевом росте, пернициозной анемии, хроническом гломерулонефрите, внезапной смерти («статус тимико-лимфатикус»), а гипертрофические изменения вилочковой железы наблюдаются при инфекционных процессах и искусственной иммунизации бактериальными антигенами и аллоантигенами.

\* \* \*

Гипоталамус с помощью гонадотропного релизинг-фактора регулирует секрецию гипофизом ФСГ, ЛГ и пролактина, которые в свою очередь контролируют продукцию половых стероидов в гонадах. Антисыворотки к любому из этих гормонов вызывают в эксперименте подавление овуляции и обратное развитие вторичных половых признаков. Между всеми тремя этажами регуляции гонадотропинов существуют многочисленные обратные сигналы, извращающиеся при недостаточности или избытке любого из гормонов. Искусственный иммунитет к отдельному гонадотропину позволяет оценить его видоспецифический вклад в процессы репродукции, участие в развитии беременности.

Презиготический отбор яйцеклеток мужских гамет осуществляется, вероятно, под контролем антигенов локуса Т/t и МНС. Фертильность сперматозоидов во многом зависит от их антигенной трансформации и секретов

внутриматочной среды. Капацитации и акросомной реакции способствуют медиаторы яйцеклетки.

Транспорт зиготы к матке происходит в иммуносупрессорной среде, вклад в которую вносят сперматозоиды, бластоцистная жидкость, ФРБ. ФРБ продуцируется оплодотворенной яйцеклеткой, он является самым первым индикатором наступившей беременности. На ранней бластоцисте экспрессированы МНС-антигены I класса отцовского и материнского происхождения,  $\beta_2$ -микроглобулин, наличие антигенов МНС II класса дискутируется.

После имплантации бластоцисты в матку начинается развитие трофобласта, ранняя стадия которого характеризуется недостатком МНС-антигенов (маскировка эндогенными мукополисахаридами?). В более позднем трофобласте МНС-антигены I класса обнаруживаются закономерно. Имплантация сопровождается взаимодействием иммуноглобулинов матери и зародыша. Раннее развитие трофобласта и его дифференцировка необходимое условие выживания эмбриона.

Децидуальная реакция слизистой матки также является и иммунорегуляторным актом. Экстракты из клеток децидуальной слизистой подавляет иммунологические реакции. Сюда происходит миграция клеток из костного мозга. В маточном содержимом в это же время находят и другие иммуносупрессорные белки типа утероглобулина.

Вилочковая железа при беременности подвергается временной инволюции, причиной которой являются стероидные гормоны яичников, трофобласта и, возможно, ФРБ.

## ГЛАВА 6

### ИММУНОБИОЛОГИЯ ПЛАЦЕНТЫ

#### 6.1. Эволюция плаценты

Плацента (placenta — пирог, лепешка) — важнейший орган беременности, обеспечивающий обмен веществ между матерью и плодом, защиту последнего от инфекционных агентов и от иммунной системы матери, гормональную подготовку матери к родам и последующей лактации. Плод находится в полной зависимости от состояния матери (защита, питание). Активация метаболических процессов сопровождается мобилизацией им-

мунологических механизмов. Гормоны плаценты, ее растворимые и фиксированные иммуносупрессорные факторы, почти полная механическая непроницаемость плаценты для лимфоцитов и материнских антител делают ее уникальным иммунорегуляторным барьером. Максимальное же сближение никогда не смешиваемых систем циркуляции крови плода и матери делают возможным именно здесь переход к плоду кислорода, минеральных и органических веществ. Нарушение целостности плацентарного барьера ведет к гибели плода и прекращению беременности. Плодная часть плаценты генетически не идентична с матерью. Но антигены тканевой совместимости плаценты отцовского происхождения не являются мишенью для материнских лимфоцитов, поскольку они замаскированы сиаломуцином, мукополисахаридами и трансферрином материнского происхождения.

Эволюция плаценты связана с развитием способов репродукции. Первые ее аналоги — оболочки эмбриона появились у пресмыкающихся и далее длительно совершенствовались. Формирование амниотической оболочки явилось решающим эволюционным шагом в приобретении относительной независимости зародыша. Выход организмов из водной среды на сушу сопровождался изменением способа кладки яиц; пресмыкающиеся откладывают яйца в песок, что вызвало необходимость создания в яйце собственной водной среды, предохраняющей зародыш от высыхания и механических повреждений.

У млекопитающих яйцеклетка после овуляции уже не выделяется во внешнюю среду, а остается в организме. Чем более высоко развиты живые организмы, тем длительнее срок созревания оплодотворенной яйцеклетки в утробе матери. Так у мышей и крыс беременность длится 3 нед, у кроликов — 4 нед, у собак — 2 мес, у свиней — 4 мес, у овцы — 5 мес, у человекообразных обезьян (шимпанзе и орангутангов) — 8 мес, у людей — 9 мес.

Роль плодных оболочек меняется по мере эволюции репродуктивного аппарата. На промежуточной стадии развития животного мира между амфибиями и млекопитающими (клячатые организмы) еще отсутствует орган деторождения — матка. Яйца в яйцеводах лишь проходят первые фазы сегментации, после чего самки откладывают их во внешнюю среду. Впервые матка в филогенезе появляется у сумчатых, однако связь эмбриона со слизистой оболочкой матки непродолжительна и

непрочна. Лишь на следующей стадии развития млекопитающих (у плацентарных) матка оказывается приспособленной к долговому вынашиванию и защите плода, для чего важен тесный контакт ее слизистой с оболочками плода. У млекопитающих же возникает новое образование внезародышевой эктодермы — трофобласт, который со временем образует сплошной покров вокруг зародыша. Длительное совместное существование организмов требует тесного контакта плодного и материнского кровообращения, поэтому пластинка трофобласта, всегда их разделяющая, становится все тоньше.

По мере совершенствования репродуктивной системы млекопитающих количество слоев эмбриональных и плодных оболочек<sup>1</sup> уменьшается, одновременно возрастает их проницаемость для питательных веществ и задержка (разрушение или отражение) потенциально опасных иммунологических эффекторов. Примерами такой дифференцированной оболочки являются желточный мешок и ворсинчатый хорион (см. 5.4). Внезародышевые оболочки рассматривают в качестве своеобразных адаптационных органов, вынесенных на периферию и способных с помощью разнообразных метаболитов и рецепторов сохранять постоянство индивидуальной, отличной от матери внутренней среды зародыша и плода [Брусилковский А. И., 1976; Савченков Ю. И., Лобынцева К. С., 1980; Колесников С. И., Морозова Л. М., 1985].

Направленную дифференцировку претерпевает и слизистая оболочка самой матки. Изменения ее подчинены нескольким биологическим задачам: наиболее полному снабжению зародыша питательными веществами и кислородом за счет тесного контакта с ворсинами трофобласта (увеличение площади соприкосновения с зародышем), предохранению от избыточного размножения клеток трофобласта и инвазии его в подлежащие слои матки, иммунологической защите бластоцисты и эмбриона (иммуносупрессии) и, наконец, отторжению вместе с плодом в родах. Целенаправленность этих изменений приводит к созданию децидуальной оболочки, воспринимающей оплодотворенное яйцо и участвующей в создании плаценты. Среди плацентарных животных различа-

<sup>1</sup> Первый период беременности — эмбриональный, за которым следует фетальный период. С 4-го месяца беременности зародыш называют плодом, а эмбриональные оболочки — фетальными или плодными.



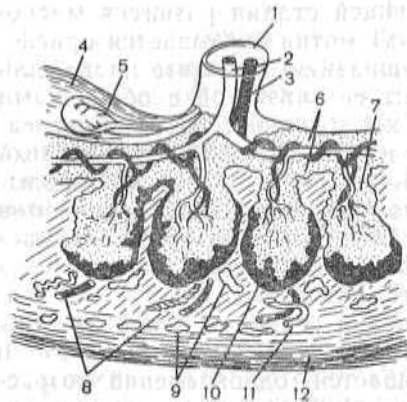


Рис. 30. Строения плаценты человека.

1 — пупочный канатик; 2 — пупочная артерия; 3 — пупочная вена; 4 — амнион; 5 — желточный мешок; 6 — хорнион; 7 — ворсины хорниона; 8 — сосуды матки; 9 — железы слизистой оболочки матки; 10 — лакуны материнской крови; 11, 12 — децидуальные клетки.

ют более ранние виды, не имеющие децидуальной ткани и обладающие ею. Материнская часть, принимающая участие в создании плаценты, является таким образом эволюционно более поздней.

Децидуальная оболочка неравномерна. Наиболее наружная ее часть, прилежащая к миометрию матки и дающая начало всем другим децидуальным клеткам, называется основной, базальной. Эта часть богата децидуальными железами, вырабатывающими гормоны, она представляет собой зону эндометрия между эмбриональным хорнионом и базальным слоем самого эндометрия. Базальная часть децидуальной оболочки является материнской частью плаценты, в ней содержатся общие полости межворсинчатого пространства, куда притекает и оттекает кровь из сосудов базального слоя. Здесь же ветвятся ворсины хорниона (рис. 30). После отторжения плаценты при родах от этого слоя остаются лишь обрывки оболочки.

Внутренняя часть децидуальной оболочки представлена пристеночным и капсулярным слоями, обрамляющими плодный пузырь. В пристеночном слое, выстилающем слизистую оболочку матки, где нет хорниона, содержатся железистые клетки, богатые гликогеном, там же присутствуют многочисленные лимфоциты, моноциты, макрофаги и гранулоциты. Эти слои выполняют временную роль, капсулярный слой функционирует лишь до 2-го месяца беременности, пристеночный слой подвергается обратному развитию при активном росте плодного пузыря во второй половине беременности. Максимального развития децидуальная оболочка достигает на

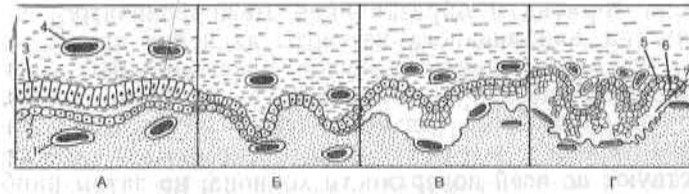


Рис. 31. Схематическое изображение типов плацентации.

А — эпителиохориальная плацента; Б — десмохориальная; В — эндотелиохориальная; Г — гемохориальная; 1 — слизистая оболочка матки с сосудами; 2 — эпителий матки; 3 — трофобласт; 4 — соединительная ткань хориона с сосудами; 5 — цитотрофобласт; 6 — синцитиотрофобласт; 7 — лакуны крови.

3—4-м месяце беременности, к 14-й неделе ее толщина равна 8 мм, затем она утончается. Можно думать, что децидуальная оболочка главную иммуносупрессорную функцию выполняет в первой половине беременности. В опытах на мышах было показано, что супрессорная активность децидуальных лимфоцитов на ранних сроках беременности была значительно выше, чем в родах [Daya S. et al., 1985].

Сформировавшаяся плацента состоит из плодной и материнской части. Первая представлена тонкой пластинкой амниона и толстой хориона, вторая — преимущественно децидуальной оболочкой. У разных классов млекопитающих строение плаценты неодинаково, биологическое совершенствование этого органа определяется степенью разветвления ворсин хориона внутри слизистой оболочки матки, интимностью соединения плодных оболочек с децидуальной площадью сближения кровообращения матери и плода. Совершенствование плаценты касается не столько увеличения ее общей массы, сколько строения и увеличения пространства соприкосновения материнской и плодной пластин.

В наиболее просто устроенных эпителиохориальных плацентах (рис. 31) хорион только прилегает к углублениям слизистой оболочки матки, не нарушая ее целостности (такая плацента — у свиней, бегемота, лошади, кита). В десмохориальных плацентах (у жвачных животных) и эндотелиохориальных (у хищных млекопитающих) ворсины хориона ветвятся сильнее, они начинают нарушать целостность слизистой матки и кровеносных сосудов и погружаются в излившуюся материнскую кровь. В гемохориальных плацентах интимный контакт ворсин хориона с маткой достигается лабиринтоподобным ветвлением

ворсин хориона и образованием межворсинчатого пространства, заполненного несвертывающейся кровью матери (такова плацента грызунов, насекомоядных млекопитающих, обезьян и человека). У грызунов ворсины хориона образуются только со стороны, с которой яйцо имплантировалось в матку, у человека они сначала присутствуют по всей поверхности хориона, но затем наиболее сильно ветвятся в том участке, куда подходят почечные сосуды. Наиболее разветвленные ворсины хориона прикрепляются к базальной пластине децидуальной оболочки. Мезодермальные ворсины хориона, несущие сосуды плода, покрыты снаружи слоями клеток цитотрофобласта, служащих своеобразной диффузионной мембраной. Во второй половине беременности эти клетки трофобласта подвергаются фибриноидному перерождению и уплощаются, не теряя при этом свойства оставаться непроницаемыми для макромолекул.

Характерная структура плаценты оказывается уже полностью сформированной к концу 1-го месяца беременности, что намного опережает темпы дифференцировки эмбриональных тканей. В дальнейшем происходит постепенное уменьшение толщины трофобластического покрова ворсин, сближение кровеносного русла плода и крови межворсинчатых пространств, развитие капиллярной сети. В состав зрелых хориальных ворсин входит синцитиотрофобласт, лежащий под ним цитотрофобласт, подстилающая его базальная мембрана, соединительнотканная строма ворсин с кровеносными капиллярами. Плацента человека состоит из долек (более 200), каждая из которых представляет собой лепешку 15—20 см в диаметре. Материнская кровь циркулирует вокруг тонких концевых ворсин, содержащих фетальные капилляры. Общая площадь ворсин составляет около 16 м<sup>2</sup>, капилляров — 12 м<sup>2</sup>. Такое анатомическое строение представляется наиболее идеальным для обеспечения роста и развития плода.

На 20-й неделе беременности плацента человека занимает около половины матки, а к концу беременности одну ее треть. Отсутствие роста плаценты не означает ее старения или функциональной инволюции. Во 2-й половине беременности, когда клетки трофобласта, выстилающие ворсины хориона, превращаются в фибриноидную массу и уплощаются, иммуносорбирующая и нейтрализующая функция плаценты становится еще более активной.

Клетки цитотрофобласта зрелой плаценты (слой Лангханса) относительно слабо дифференцированы. В их цитоплазме много вакуолей и гликогена. Слой синцитиотрофобласта истончается и уплощается. В цитоплазме его клеток выявляются митохондрии, эндоплазматический ретикулум, пластинчатый комплекс и липидные участки. Во 2-й половине беременности поверхность трофобласта все больше покрывается аморфным и плотным фибриноидным слоем (слой Нитабуха). Стенки ворсин, а вместе с ними и объем плаценты, уплощаются и становятся меньше, рост новых ворсин прекращается.

Фибриноидное вещество внутри плаценты имеет смешанное плодно-материнское происхождение. Оно предотвращает инвазию трофобласта в децидуальную оболочку и наоборот. Морфологически фибриноидный слой не имеет клеточной структуры, это однородная масса окрашивающаяся эозином в розовый или красный цвет. Считают, что в образовании фибриноида участвуют клетки децидуальной оболочки и трофобласта (они образуют гликопротеин), а также плазма крови матери (мукополисахаридный компонент). В фибриноидных отложениях плаценты обнаружены IgG матери и плода [Johnson P. et al., 1977].

Фибриноидный слой содержит сульфатированные протеогликаны, которые теоретически должны содержать отрицательный заряд, а потому — отталкивают материнские лимфоциты, мембрана которых тоже несет отрицательный заряд. Таким образом, киллерные Т-лимфоциты, даже если они активно образуются в материнском организме, будут электростатическими силами удерживаться от соприкосновения с поверхностью трофобласта. Возможно также, что здесь нейтрализуются те отцовские антигены, которые присущи плоду, ибо фибриноидный слой сам по себе неиммуногенен. Таким образом фибриноид осуществляет эфферентную блокаду иммунологической реакции матери на плод.

## **6.2. Гормональные функции плаценты**

Плацента — это уникальная железа периода беременности, вырабатывающая широкий набор гормонов и специфических белков. Здесь продуцируются не только гонадотропные гормоны, но и гормон, стимулирующий кору надпочечников, эстрогены, прогестерон, андрогены, тканевые гормоны — серотонин, гистамин, ацетилхолин, простагландины и др. Следует отметить, что фетопла-

центарный комплекс проявляет замечательную эндокринную экспансию и постепенно утверждает полный гормональный контроль над матерью.

На факт непосредственной или опосредованной стимуляции плацентой АКТГ указывает ряд исследователей. Представляют интерес наблюдения об улучшении общего состояния больных коллагенозами и синдромом Аддисона при беременности. Напротив, после родов у матери происходит обострение аутоиммунных процессов (системная красная волчанка, ревматоидный полиартрит), что может быть связано с гормональными воздействиями или с иммуносупрессорными продуктами плаценты [Froelich Ch. et al., 1980]. Гиперфункция коры надпочечников при беременности может быть связана с самостоятельным синтезом плацентой АКТГ или депонированием в ней кортикотропинов гипофизарного происхождения. Удаление гипофиза у беременных крыс ведет к быстрой инволюции надпочечников. Возможно, что плацента стимулирует в гипофизе синтез АКТГ и тиреотропного гормона (синтез последнего, вероятно, осуществляет и сама плацента).

За счет своих многочисленных ферментов плацента способна превращать определенные биологически неактивные вещества в гормоны или переключать синтез с одного гормона на другой. Так под влиянием плацентарных ферментов прегнолон превращается в прогестерон, а эстрадиол — в эстрон. Сама по себе плацента не синтезирует эстрогены, но деконъюгирует и высвобождает в циркуляцию эстрон и эстриол из стероидных продуктов в печени и надпочечниках плода.

Прогестерона плацента человека продуцирует до 250 мг в сутки, особенно активно этот гормон синтезируется во II и III триместрах беременности. Уже через 2 ч после удаления плаценты содержание прогестерона в крови резко падает. У беременных с плохим развитием эмбриона, как и при опухолях трофобласта и пузырном заносе, продукция прогестерона резко снижена. Плацента синтезирует прогестерон автономно. Он необходим для метаболизма фетальной печени, а также может оказывать стимулирующее действие на кору надпочечников. Прогестерон также поддерживает локальную иммуносупрессию в плаценте, избирательно блокируя активированные Т-клетки [Stites D. et al., 1983]. Имеются сведения о том, что плацента синтезирует и РФ, сходный с РФ гипофиза [Gibbons J. et al., 1975].

Релаксин, открытый Hisaw (1929), вызывает во время беременности расслабление мускулатуры и лонного сочленения. В продукции релаксина стимулирующую роль играют факторы децидуального происхождения. Плацента также синтезирует и другие гормоны — меланостимулятор, вазопрессин, окситоцин, инсулин и т. д.

Показано, что плацентарные гормоны действуют не только на организм беременной, но и на плод. Существует мнение, что активная деятельность плаценты между 1-м и 3-м месяцами внутриутробного развития связана с основными процессами гисто- и органогенеза. Плацента в этом периоде обеспечивает плод всеми необходимыми для его развития гормонами [Цирельников Н. Н., 1980]. Проникающие в плод эстрогены — эстрадиол и эстрон, прогестерон и другие вещества подвергаются дальнейшему превращению.

Наряду с продукцией гормонов, действующих системно или непосредственно на рецепторный аппарат матки, плацента является и важнейшим звеном в цепи превращения биологически активных веществ (гистамин, ацетилхолин и др.), адресующихся к плоду. Нет сомнения, что гормоны с изученной физиологической функцией являются в то же время и иммуномодуляторами, но об этой стороне их действия пока приходится больше догадываться, чем оперировать фактами.

Из плацентарных гормонов человека наибольшее внимание исследователей издавна привлекали к себе гонадотропины — плацентарный лактоген человека (ПЛЧ или хорионический соматомаммотропин) и хорионический гонадотропин (ХГТ).

ПЛЧ экстрагирован из плаценты в 1956 г. и вскоре после этого его получили в очищенном виде. ПЛЧ имеет мол. м. 21 600 и включает 190 аминокислотных остатков, из которых 160 у него общие с ХГТ. Этот гормон продуцируется синцитиотрофобластом, антисыворотка к нему дает перекрестные реакции с плацентарным лактогеном животных других видов. ПЛЧ влияет на белковый, жировой, углеводный обмены, а также вызывает эффекты, аналогичные действию гормонов — соматотропный, лютеотропный, лактогенный, потенцирует действие ХГТ. ПЛЧ обладает свойствами гормона роста, его кооперация с пролактином контролируется эстрогенами. В крови беременных женщины ПЛЧ появляется на 6-й неделе беременности, к 30-й неделе его концентрация достигает 200 нг/мл, а затем его содержание стабилизируется. Кон-

центрация ПЛЧ в тканях плаценты во время беременности колеблется от 100 до 200 мг/г.

ПЛЧ угнетает пролиферативный ответ Т- и В-лимфоцитов человека и мыши на ФГА, липополисахарид и митоген лаконоса, в то время как другой гормон плаценты — тиреотропный, такого иммуносупрессорного действия не оказывал [Hammaström L. et al., 1979; Mehrotra N., 1982].

Активная иммунизация химически очищенным плацентарным лактогеном совместно с иммуностимуляторами (поли-А/поли-У) нарушала у крыс и кроликов имплантацию бластоцисты, но не вызывала резорбции или аборта уже имплантированного эмбриона [Gusdon J., 1976]. В то же время пассивный перенос лимфоцитов от мышей, иммунизированных ПЛЧ, прерывал беременность у сингенных реципиентов [Howe C., 1975]. V. Stevens (1976), сочетая иммуностимуляцию поли-А/поли-У или ПАФ с иммунизацией очищенным ПЛЧ, добился у обезьян выраженного антифертильного эффекта, который прямо не зависел от уровня в крови антител к ПЛЧ. Иммунизация не нарушала овариаальный цикл у бабуинов, но в 12 из 13 случаев беременность заканчивалась самопроизвольным абортом (между 22—27-м днями беременности). Фертильность у активно иммунизированных ПЛЧ животных подчас не восстанавливалась годами. Гистологическое исследование матки выявило при этом характерную картину обширной лимфоцитарной инфильтрации, что свидетельствовало о развитии аутоиммунитета.

Пассивный иммунитет к плацентарному лактогену, создаваемый у беременных животных введением сыворотки с высоким титром антител к ПЛЧ, также приводил к абортному исходу. Однако антисыворотки, используемые при этом, взаимодействовали *in vitro* не только с плацентарным лактогеном, но и многими иными эмбриональными и плацентарными антигенами [Gusdon J. et al., 1974]. Особенно активно антисыворотка к ПЛЧ взаимодействовала с соматотропным гормоном гипофиза и пролактином, что исключило возможность применения вакцинации ПЛЧ.

### **6.3. Хорионический гонадотропин**

Хорионический гонадотропин (ХГТ) называют еще специфическим гормоном беременности, поскольку он появляется в крови и в моче только во время беременности

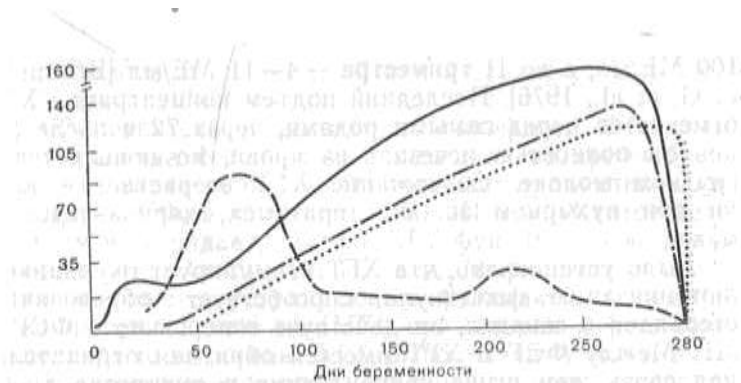


Рис. 32. Концентрация некоторых гормонов в крови беременных женщин.

По вертикали — концентрация в крови (нг/мл): прогестерона (—), эстрогенов (- · -), плацентарного лактогена человека (...), хорионического гонадотропина (- -); по горизонтали — дни беременности.

и исчезает вскоре после родов. Несмотря на то что наши знания о ХГТ насчитывают немногим более 50 лет, сведения о наличии необычайной активности мочи беременных были известны еще древним египтянам. На папирусе, составленном около 300 лет до н. э., было записано: «Чтобы определить, беременна ли женщина, заставьте ее помочиться на какое-либо растение. Если утром растение окажется увядшим, женщина не беременна. Если растение свежо, она беременна». Наличие ХГТ в моче беременных было впервые установлено J. Halban (1905), который предположил, что плацента является источником субстанций, оказывающих влияние на течение беременности. Определение ХГТ в диагностических целях нашло повсеместное применение — реакция Ашгейма — Цондека [Ascheim S., Zondec B., 1927] для диагностики беременности.

ХГТ продуцируется клетками синцитиотрофобласта, в моче он впервые обнаруживается на 8-й день беременности, затем его концентрация быстро нарастает и между 60-м и 80-м днями беременности достигает максимума. Ранняя плацента продуцирует до 100 000 МЕ ХГТ ежедневно. В пике продукции ХГТ плацента содержит его до 600 МЕ на 1 г ткани. Вслед за этим содержание ХГТ вновь снижается (до 20 МЕ — 16 нед беременности), в это время усилен синтез ПЛЧ, а между 210-м и 240-м днями беременности наблюдается второе усиление его продукции (рис. 32). В материнской крови пик наибольшей концентрации ХГТ в I триместре — до



100 МЕ/мл, а во II триместре — 4—11 МЕ/мл [Braunstein G. et al., 1976]. Последний подъем концентрации ХГТ отмечается перед самыми родами, через 72 ч после родов он полностью исчезает из крови, но появляется в грудном молоке. Содержание ХГТ возрастает в крови при пузырном заносе, тератомах, хорионэпителиомах.

Было установлено, что ХГТ стимулирует овуляцию и лютеинизацию фолликула, способствует образованию стероидов в гонадах, он действует синергично с ФСГ и ЛГ. Между ФСГ и ХГТ имеется обратная отрицательная связь, чем выше концентрация в сыворотке крови ХГТ, тем заметнее падает уровень ФСГ. Это действие ХГТ предупреждает изменения в эндометрии, характерные для менструального периода, благодаря чему беременность сохраняется. ХГТ также стимулирует синтез предшественников эстрогенов, а сами эстрогены угнетают продукцию ХГТ. Соотношение этих репродуктивных гормонов объясняет изменения кривой содержания ХГТ при беременности. ХГТ имеет структурное сходство с ЛГ, он действует на рецепторы к ЛГ, а потому стимулирует функции желтого тела, которое необходимо для поддержания беременности в течение первых 7 нед [Heap R. et al., 1979]. Значение лютеотропного эффекта ХГТ особенно ярко проявляется в первые 3 нед беременности. Между 3-й и 7-й неделями это влияние плаценты ослабевает. Возможно, что и другие пока неизвестные факторы беременности влияют на лютеотропный эффект в этом периоде [Talwar G., 1979].

При беременности прекращаются циклические изменения, присущие обычно женскому организму, причем вещество, противодействующее многочисленным физиологическим гонадотропным гормонам, также должно быть и гонадотропином и гормоном. Для того чтобы выключить мощные эндокринные воздействия, кроме продуктов деятельности желтого тела, этот ингибирующий секрет должен содержаться у беременной в высокой концентрации и должен продуцироваться в определенное время и исчезать после беременности. Именно таким продуктом, возникшим в процессе эволюции, и является ХГТ, который в первые месяцы беременности еще до формирования функционально зрелой плаценты становится главным гормональным регулятором. Наиболее рано ХГТ появляется у беременных приматов, возможно, он поступает в кровь еще из доимплантационной бласто-

цисты [Saxena B. et al., 1974] или из раннего трофобласта [Hearn J., 1980].

ХГТ препятствует выделению гипофизом ФСГ, так как созревание фолликулов в яичниках во время беременности нецелесообразно. Он тормозит продукцию в гипоталамусе РФ, в частности, ФСГ/ЛГ-РФ. Желтое тело при этом не страдает, так как ХГТ функционально эквивалентен ЛГ. На том этапе, когда формирование плаценты завершено, регулирующие функции ХГТ перенимают продуцируемые ею ПЛЧ, прогестерон и фетально-плацентарные эстрогены. ХГТ, выполняющий такую важную физиологическую роль, должен одновременно обладать и иммунопротективными функциями.

ХГТ — это гликопротеид с мол. м. 38 000 и высоким содержанием углеводов (до 30%). Его молекула состоит из двух нековалентно связанных субъединиц.  $\alpha$ -Частица ХГТ включает 82—92 аминокислотных остатков и является почти идентичной с таковой ФСГ, ЛГ и тереотропного гормона.  $\beta$ -Частица специфична для ХГЧ ( $\beta$ -ХГЧ), но напоминает также  $\beta$ -частицу ЛГ, она состоит из 147 аминокислотных остатков. Различные варианты ХГТ могут быть изолированно получены от пациентов с пузырьным заносом, в крови которых ХГТ более активен, чем в моче или в трофобласте [Pala A. et al., 1973].

Некоторые соображения заставляют думать, что важность ХГТ при беременности состоит не только в его лютеотропной функции. Во-первых, пик его секреции наблюдается до заметного увеличения желтого тела. Во-вторых, ХГТ продуцируется в течение всей беременности, а желтое тело — преходящая железа. В-третьих, культивируемые лютеальные ткани стимулируются малыми дозами ХГТ, не более 50—200 МЕ [Rice B., Savard K., 1964]. Имеются соображения, что ХГТ у приматов стимулирует дифференцировку яичек и надпочечников плода [Joffe R. et al., 1977] и оказывает местный иммуносупрессорный эффект.

При оценке последнего высказывалось соображение, что преходящая инволюция вилочковой железы у беременных возникает вследствие действия ХГТ [Сперанский В. В., 1972]. Отмечено, что кожные аллотрансплантаты у мышей под влиянием инъекций ХГТ человека (ежедневно по 1500 МЕ) переживают значительно дольше, чем в контроле [Pearse W., Kaiman H., 1964; Kaye M. et al., 1973]. ХГТ человека подавляет реакцию

бласттрансформации лимфоцитов кроликов, морских свинок, мышей и человека на ФГА, КонА и в СКЛ [Adcock E., 1974; Nap T., 1974; Morici A. et al., 1976]. Эффект является обратимым и зависит от дозы. Очищенные и грубые препараты ХГТ оказывают разное действие на пролиферацию лимфоцитов, грубые препараты супрессируют ответ лимфоцитов на ФГА в дозе 100 мкг/мл (но не 500 мкг/мл), очищенные препараты вызывают супрессию только в высоких дозах, более 5000—10 000 МЕ/мл [Cadwell J., et al., 1975; Morici J. et al., 1976].

В то же время ряд авторов считает, что чистые фракции ХГТ вообще не обладают супрессорной активностью [Stevens V., 1979]. Хроматографический анализ показал, что иммуносупрессию вызывает не сам ХГТ, а его нейтральные примеси — плазменные белки беременных с мол. м. 20 000—40 000 [Morse J., 1976]. Интересную гипотезу об активации ХГТ созревания лимфоцитов-супрессоров высказали В. Serrou и R. Senelar (1975). Т. Fuchs и соавт. (1982) считают, что ХГТ угнетает иммунореактивность только у женщин, так как в Y-хромосоме присутствуют гены, подавляющие способность ХГТ индуцировать лимфоциты-супрессоры. Поскольку предварительная кастрация мышей снижает тормозящее действие ХГТ на реакции ГЗТ, считают, что его иммуносупрессорная регуляция осуществляется через гонады [Bartocci A. et al., 1983].

Нами был исследован препарат человеческого ХГТ фирмы «Рихтер» (ГДР) с мол. м. 25 000. Для изучения влияния ХГТ на взаимодействие антител с антигеном его добавляли в разных концентрациях к стандартному разведению антилимфоцитарной сыворотки (АЛС) фирмы «Shoag» (Франция), вызывающему в присутствии компонента гибель 100% лимфоцитов человека. В отдельных сериях ХГТ использовали для предварительной обработки лимфоцитов до соединения их с АЛС. Действие ХГТ на клеточный иммунитет изучали в реакциях бласттрансформации лимфоцитов с ФГА и в СКЛ беременной и ее мужа или доноров (табл. 9).

Добавление ХГТ в систему (АЛС+комплемента+лимфоциты) не снижало цитотоксического действия АЛС даже при применении высоких доз гормона. Цитотоксические свойства АЛС проявлялись и в тех случаях, когда в реакцию вводили лимфоциты, предварительно обработанные ХГТ. При инкубации АЛС с разными доза-

Таблица 9. Влияние ХГТ на цитотоксический эффект антилимфоцитарной сыворотки к лимфоцитам

АЛС, разведения	Лимфоциты	Интенсивность реакции
АЛС (1:80) без ХГТ	Не обработанные ХГТ	++++
АЛС (1:80) без ХГТ	Обработанные ХГТ в дозах 50, 100 и 300 МЕ/мл в течение 3 ч, а затем отмытые	++++
АЛС (1:20—1:80), инкубированная с ХГТ в дозах 50, 100 и 300 МЕ/мл в течение 30 мин	Не обработанные ХГТ	++++
АЛС (1:20—1:80), обработанные ХГТ в дозе 30 МЕ/мл в течение 3 ч	Обработанные ХГТ в дозе 300 МЕ/мл в течение 1—3 ч	-/++

ми ХГТ в течение 30 мин интенсивность цитотоксической реакции также не снизилась. Снижение активности взаимодействия антител с лимфоцитами удалось наблюдать только в тех случаях, когда большие дозы гормона (300 МЕ/мл) применяли для разведения АЛС и ими же обрабатывали лимфоциты, вводимые в реакцию через 3 ч после начала инкубации с ХГТ (см. табл. 9). Все это указывает на трудность подавления с помощью ХГТ взаимодействия антител с клеточными антигенами.

При добавлении ХГТ к культуральной среде 199 с 20% нейтральной АВ-сыворотки дозы гормона 50—100 МЕ/мл отчетливо снижали реакцию бласттрансфор-

Таблица 10. Влияние ХГТ на реакцию бласттрансформации лимфоцитов с ФГА, % бластов

Донор лимфоцитов	Без ХГТ, контроль	С добавлением ХГТ, МЕ/мл					
		20	50	100	150	200	300
Беременная женщина	54	55	58	38	24	9	0
То же	55	52	53	59	50	38	27
» »	84	79	68	58	38	26	13
» »	54	50	37	35	24	15	5
Небеременная женщина	66	59	21	12	7	1	0
То же	45	50	18	14	3	2	0
Мужчины	81	78	54	—	53	51	42
»	70	68	50	50	37	35	27

Таблица 11. Влияние ХГТ на реакцию бласттрансформации лимфоцитов с ФГА в смешанной культуре лимфоцитов, % бластов

Доноры лимфоцитов	Без ХГТ, контроль	С добавлением ХГТ, МЕ/мл					
		20	50	100	150	200	300
Беременная + муж	4,45	4,0	3,8	2,1	0		
То же	0,75	2,3	0,3	0			
» »	8,25	6,7	5,8	3,0	1,5	0	
» »	1,95	2,4	1,5	1,0	0		
» »	3,95	1,5	0,7	0,2	0		
» »	6,2	6,0	3,2	2,0	1,4	1,0	0
» »	4,6	4,4	3,5	2,0	2,0	0,7	0
Небеременные женщины	9,0	8,7	4,8	2,8	2,1	0	
То же	6,2	6,0	3,8	2,2	1,8	0,3	0
Мужчины	6,3	5,7	2,2	0,6	0,2	0,2	0
То же	7,2	6,6	4,4	3,8	0,8	0,8	0,6

мации лимфоцитов с ФГА как у беременных женщин, так и у доноров (табл. 10). Аналогичная картина была отмечена при постановке двусторонней реакции СКЛ беременной и мужа или СКЛ доноров (женщины и мужчины). Дозы ХГТ — 200—300 МЕ/мл полностью подавляли реакцию (табл. 11). Следует отметить, что концентрации ХГТ, подавляющие в наших опытах реакции цитотоксического гуморального и клеточного иммунитета, в несколько раз превосходили концентрацию ХГТ в сыворотке женщины III триместра беременности.

Естественно, что между реакциями *in vivo* и *in vitro* нельзя делать полной аналогии. Иммунологическая активность неочищенных препаратов почти всегда выше, чем очищенных их фракций. Это связано не только с количественным изменением содержания биологически активных веществ, но и с эффектом дозы и комплексного участия дериватов в модуляции иммунного ответа. Иммуносупрессорное действие очищенной  $\beta$ -субъединицы ХГТ показано с достаточной очевидностью [Hammarström L. et al., 1979; Mehrotra N., 1982]. Кроме того, местная высокая концентрация ХГЧ, достигаемая именно в плаценте, определяет локальную иммуносупрессию в области отграничения тканей эмбриона от матери. Понятно, что отраженная, более низкая, чем в тканях, концентрация ХГТ в крови или в моче никак не свидетельствует о его локальном действии, тем более, что гормон продуцируется исключительно в клетках синцитиотрофобласта.

Долгое время считалось, что ХГТ присущ только приматам, но затем этот гормон был обнаружен у животных многих видов [Heagn J., 1980]. Как было экспериментально выяснено, ХГТ необходим не только в ранний период беременности, но и в поздний. При ряде патологических состояний в период беременности и их терапии в клинике мониторинг содержания ХГТ является наиболее информативным. Содержание в сыворотке крови субстанций, блокирующих клеточный иммунитет субстанций или их утрату — при пузырьном заносе, также связывают с  $\beta$ -ХГТ [Ho P. et al., 1983]. Содержание ХГТ и блокирующих факторов сыворотки при физиологическом течении беременности указывает на важность присутствия этих биологических компонентов на всех этапах развития беременности. Получены обнадеживающие результаты при создании антифертильных вакцин на основе  $\beta$ -ХГТ [Jones W., 1982].

#### **6.4. Антигены плаценты**

В настоящей главе мы не рассматриваем все плацентарные антигены — не только из-за их множества, но и потому, что при беременности некоторые антигены обнаруживаются не только в плаценте — плацентарные белки PP1—PP7, по Н. Sedlaček и соавт. (1976),  $\alpha$ -2-гликопротеин и др. Особый интерес для иммунолога представляют аллоантигены тканевой совместимости — структуры, расположенные на границе между тканями матери и плода, и те плацентарные антигены, которые специфически влияют на иммунорегуляторные реакции при беременности.

**Антигены тканевой совместимости.** С помощью моноклональных антител к разным аллелям локуса H-2-антигены тканевой совместимости (МНС) I класса отцовского и материнского гаплотипов были отчетливо обнаружены на клетках мышинного трофобласта (9—16 сут) [Sunderland Ch. et al., 1981; Raghupathy R. et al., 1982]. Слабые трансплантационные антигены локусов H-3 и H-6 появлялись на клетках эктоплацентарных конусов еще раньше — 6—8-е сутки беременности [Sellens M. et al., 1978; Jenkinson E., Searle R., 1981]. Если на 16-й день беременности МНС-антигены несли только 60% трофобластов, то к 18 сут число таких клеток возрастало до 93%, а плотность их расположения напоминала таковую на клетках вилочковой железы [Chatterjee-Hastouni S., Lala P., 1979]. Антитела к МНС-антигенам I класса фик-

сировались преимущественно на поверхности лабиринтного трофобласта, представляющего пограничную зону между матерью и плодом. Именно эти участки плаценты купаются в материнской крови и тесно контактируют с ее иммунокомпетентными клетками. Антигены МНС в наибольшей мере были присущи цитотрофобласту мышей, в меньшей — клеткам спонгиозотрофобласта и отсутствовали на гигантских клетках [Lala et al., 1983]. Антигены МНС II класса на плаценте мышей показать не удалось [Chatterjee-Hasrouni S., Lala P., 1982].

Перфузия плаценты антисывороткой к отцовским МНС-антигенам позволила выявить принципиальную возможность перехода этих антител через неповрежденную плаценту к капиллярам плода. Однако наиболее активно меченные антитела сорбировались на островках стромальных клеток плаценты [Chatterjee-Hasrouni S., Lala P., 1982]. Это доказывает относительную неуязвимость плода по отношению к цитотоксическим антителам, возникшим у беременной к отцовскому гаплотипу. Именно наличие в плаценте МНС-антигенов, присущих отцу, позволяет ей служить своеобразным иммуносорбентом и защищать плод от гуморальных факторов материнского иммунитета.

Аналогичные наблюдения были сделаны и в отношении плаценты человека. Ауторадиографическое исследование с моноклональными антителами позволяет дифференцировать клетки трофобласта по присутствию в них антигена Тгор-2 [Lipinski M. et al., 1981] и особо — клетки синцитиотрофобласта с характерной для них щелочной фосфатазой [Sunderland Ch. et al., 1981]. При изучении плацент, полученных от женщин (медицинский аборт) с беременностью (7—14 нед), было установлено, что уже 7 нед плацента содержит в достаточном количестве антигены МНС I класса (HLA-A, -B, -C), но почти не несет антигенов II класса (Iг). Косвенные данные о наличии в некоторых тканях плаценты антигенов МНС II класса были получены на основании того, что у женщин с антителами к HLA-DR-отца передача этих антител плоду не происходит [Tongio M. et al., 1983]. Антигены МНС II класса были найдены внутри стромы ворсин трофобласта также в плацентах, полученных в родах [Sunderland Ch. et al., 1981]<sup>1</sup>. В соединительной

<sup>1</sup> Позже было показано, что плацента человека на 16-ой неделе развития содержит HLA II класса только серии DP, а в родах DP, DR и DQ (Edwards J. et al., 1985).

ткани амниохориона человека описаны крупные клетки с цитоплазматическими отростками и мелкими ядрами, избирательно фиксирующие моноклональные антитела к HLA-DR [Jenkins D. et al., 1983].

Плотность антигенов МНС I класса обоих родительских гаплотипов на клетках цитотрофобласта (5—8 нед) составляла около 75% от уровня лимфоцитов крови [Montgomery B., Lala P., 1983]. На клетках самого наружного клеточного слоя плацентарных ворсин (синцитиотрофобласта) антигенов МНС I и II классов обнаружить не удалось [Lala P. et al., 1983]. Судить о том, находятся ли антигены МНС I класса в цитотрофобласте в замаскированном или свободном виде трудно, так как применение коллагеназы для получения клеточной суспензии в большинстве экспериментов было по существу демаскирующей процедурой.

В принципе исследования, проведенные на мышинных и человеческих плацентах, дали совпадающие результаты, так как вторичные гигантские клетки трофобласта мыши аналогичны клеткам синцитиотрофобласта человека. На этих клетках отмечался дефицит МНС-антигенов, в то время как в более глубинно залегающих структурах плаценты обнаруживались антигены МНС I класса. С помощью моноклональных антител было также установлено присутствие антигенов МНС I класса на основной мембране трофобласта и в стромальных клетках ворсин [Goto S., Tomodo Y., 1983; Redman C. et al., 1983]. Молодые ворсины в первом триместре беременности лучше абсорбировали анти-HLA-антисыворотки и антитела к  $\beta_2$ -микроглобулину, чем зрелые [Yamashita K. et al., 1983].

Место введения моноклональных антител непосредственно в кровотоки беременным женщинам и последующее ауторадиографическое их исследование в тканях плаценты является новым подходом к изучению локализации антигенов МНС *in vivo*. Таким способом T. Wegmann и соавт. (1983) удалось показать наличие антигенов HLA-A, -B и -C (I класса) в желточном мешке и на спонгиозотрофобластических клетках, находящихся в прямом контакте с материнской циркуляцией. Антитела к этим антигенам не попадают в циркуляцию плода только потому, что они фиксируются на клетках плаценты и на фрагментах HLA-антигенов отцовского гаплотипа, частично представленных в кровотоке самой беременной. R. Raghupathy и соавт. (1981, 1982) считают,



что плотность МНС-антигенов I класса в зрелой плаценте возрастает именно из-за необходимости осуществления иммуносорбирующих функций.

Более отчетливо, особенно на ранних стадиях формирования плаценты, МНС-антигены обнаруживаются на клетках трофобласта, культивируемых *in vitro* [Loke Y. et al., 1971; Sellens M. et al., 1978]. Лучшая экспрессия аллоантигенов на клетках клеточной культуры может быть до известной степени связана с загрязнением ее нетрофобластическими элементами и посторонними молекулами, сорбирующимися на длительно культивируемых клетках. Тем не менее клетки раннего спонгиозного трофобласта, поддерживаемые в культуре, лучше связывают анти-МНС-антитела, чем гигантские клетки мышинного трофобласта, что соответствует наблюдениям, проведенным *in situ*.

Косвенным доказательством присутствия в клетках плаценты аллоантигенов служит факт иммунологического распознавания клеток плаценты *in vitro* аллогенными, но не сингенными или аутологичными лимфоцитами [Wegmann T., 1981; Sunderland Ch. et al., 1981]. Распознавание сопровождается цитотоксическим действием, оказываемым лимфоцитами на клетки трофобласта [Трунова Л. А. и др., 1978; Taylor P., Napcock K., 1975; Paul S., Jaikhani B., 1982]. Отмытые лимфоциты матери оказывают более сильный литический эффект на клетки мишени плаценты, чем на клетки плода, сыворотка беременных содержит субстанции, блокирующие эту иммунологическую активность [Taylor P., 1980]. С другой стороны показано, что лимфоциты матери менее сенсibilизированы к плаценте, чем к плоду [Новиков В. Д. и др., 1980], что можно поставить в прямую связь со степенью МНС-отличий (с плодом у матери имеется более существенная антигенная разница).

Клетки опухолей трофобластического происхождения (хорионкарцинома и др.) специфически связывают антитела к отцовскому HLA гаплотипу [Shaw A. et al., 1979]. Женщины, которые никогда не получали гемотрансфузий, но у которых был пузырьный занос при первой беременности, продуцируют специфические противотцовские HLA-антитела [Yamashita K. et al., 1983]. Все это также поддерживает мнение о том, что трофобластические элементы плаценты содержат отцовские МНС-антигены.

Сказанное, по-видимому, не относится к амниотиче-

ской оболочке, трансплантация которой добровольцам не сопровождалась заметной реакцией отторжения и образованием цитотоксических антител против клеток амниона [Akle C. et al., 1981].

В отличие от указанной точки зрения ряд авторов [Faulk W., McIntyre J., 1979, 1981] придерживались мнения, что клетки хорионического трофобласта и у мышей, и у людей полностью лишены всех МНС-антигенов. Предполагалось, что именно антигенная нейтральность плаценты позволяет успешно развиваться беременности, несмотря на иммунологическое распознавание матерью антигенов плода. Однако позже те же авторы сообщили о том, что моноклональные антитела к антигенам МНС I класса позволили им выявить соответствующие рецепторы на клетках эндovasкулярного трофобласта [Faulk W., McIntyre J., 1983].

**Антигены синцитиотрофобласта.** Повышенный интерес к антигенам этого слоя плаценты обусловлен его интимным контактом с кровотоком матери. Благодаря методу очистки поверхностных антигенов микроворсин синцитиотрофобласта, разработанному N. Smith и соавт. (1974) и модифицированному M. O'Sullivan и соавт. (1982), из него удалось получить растворимый материал для хроматографии и последующего выделения чистых фракций. Иммунизация кроликов очищенными фракциями позволила изучить свойства этих антигенов, условно названных ТА1 (трофобластные антигены, дающие первый хроматографический пик) и ТА2 (те же антигены, дающие второй пик) [Faulk W. et al., 1979].

Антисыворотка к ТА1-группе антигенов избирательно подавляла реакцию в СКЛ без снижения неспецифического пролиферативного ответа лимфоцитов на поликлональные митогены и индекса миграции лейкоцитов в капиллярах [McIntyre J., Faulk W., 1979]. Антигены ТА1 являются видоспецифичными, так как антитела к ним подавляют СКЛ только с участием клеток человека, но не бабуинов или других животных, а в иммунофлюоресценции антисыворотка к ТА1 взаимодействует исключительно с человеческим синцитиотрофобластом [Faulk W. et al., 1979]. В такой же мере и антисыворотка к аналогичным трофобластным антигенам бабуинов не подавляла СКЛ человеческих лимфоцитов.

Авторы цитированных работ считают, что ТА1 присущ только цито- и синцитиотрофобласту человеческого хориона. Он не встречается в крови мужчин и небере-

менных женщин, а появляется лишь во II триместре беременности. Концентрация его быстро повышается и медленно падает после родов (к 10-м суткам). Содержание ТА1 в крови при нормальной беременности и преэклампсии одинаково. ТА1 не идентичен другим плацентарным белкам, таким как ПЛЧ, ХГТ и др.

Физиологическое его значение состоит в подавлении иммунологического ответа на МНС-антигены плода. Это подчеркивается тем, что введение антител к ТА1 усиливает распознавание аллоантигенов *in vivo* [McIntyre J., Faulk W., 1979]. Наличие ТА1 предупреждает развитие РТПХ при контакте лимфоцитов плода с лимфоцитами матери. При этом, как показали опыты с обработкой клеток в СКЛ, ТА1-антигены влияют на антигенстимулирующие, а не отвечающие клетки, т. е. обеспечивают ингибцию афферентного звена иммунного ответа.

Последнее соображение подтверждается также тем, что все попытки обнаружить иммунный ответ на сами ТА1-антигены оказались безрезультатными. В качестве антигена при этом исследовали эритроциты, обработанные хлоридом хрома и нагруженные ТА1, в реакции пассивной гемагглютинации ответ на ТА1 в аллогенной системе отсутствовал [Faulk W. et al., 1979].

Антисыворотки к мембранам клеток трофобласта, дающим второй хроматографический пик, позволили выделить группу антигенов ТА2, присутствующих не только на трофобластических клетках. Эти антигены выявляются на эндотелии и стромальных клетках хорионических ворсин. Особенно важно, что такие антигены обнаруживаются и на мембранах лимфоцитов, это побудило назвать их также лимфоцит-трофобласт перекрестными (TLX) антигенами [McIntyre J., Faulk W., 1982]. Как и ТА1, эти антигены видоспецифичны: антисыворотка к ТА2 в отличие от антисыворотки к ТА1 почти полностью истощается человеческими лимфоцитами, хотя между антигенами лимфоцитов-киллеров и ТА2 имеются определенные различия [Faulk W., McIntyre J., 1983].

Сравнительный анализ разных сывороток показал, что среди TLX-антигенов имеется по крайней мере 3 группы, не связанные с антигенами HLA и АВ0. Подобно групповым антигенам А и В, эти антигены могут встречаться вместе и обособление, т. е. 1-я и 3-я группы TLX являются отдельными, а вторая состоит из обоих компонентов. Анти-TLX-сыворотки не выявляют антигенов HLA, но это не исключает возможности их взаимо-

связи. Различия в аллотипах TA2 (TLX) и HLA, а также непостоянный характер обнаружения последних в синцитиотрофобласте позволили выдвинуть предположение о том, что TLX служат экстраэмбриональными маркерами тканевой совместимости [Hsi B. et al., 1982].

Последнее соображение очень важно для объяснения некоторых вопросов иммунологии репродукции. Для формирования нормальной беременности необходимо иммунологическое распознавание женским организмом чуждых ей отцовских антигенов, входящих в состав гетерозиготного плода. Важно это, в частности, для формирования плаценты. Но у линейных животных отличия по MHC-антигенам между родителями и потомством исключены или крайне ограничены (мужской Y-антиген), а репродуктивность при этом сохраняется. Возможность проявления другой, более скрытой по сравнению с H-генами, гетерозиготности (по TLX-антигенам, аллелям локуса T/t или другим признакам) объясняет и феномен обязательного иммунологического распознавания самкой антигенов самца у генетически сближенных организмов, и уже отсюда — предотвращения отторжения плода. Отличия по TLX-антигенам плода и матери могут только стимулировать супрессорные механизмы иммунитета, как это было показано на инбредных мышах (см. 7.2).

Высказано предположение о том, что антигены TLX ответственны за стимуляцию продукции блокирующих факторов в крови беременных женщин [Faulk W., McIntyre J., 1981]. Эти растворимые субстанции, химическая природа которых еще недостаточно выяснена, предохраняют эмбрион от цитотоксических реакций трансплантационного иммунитета матери (см. 7.3). Такое предположение получило экспериментальное подтверждение: мембраны клеток трофобласта оказались способны влиять на продукцию материнскими лимфоцитами МИФ и аутологичные клетки трофобласта были при этом эффективнее, чем аллогенные [Rocklin R. et al., 1982]. Далее было также подтверждено распознавание материнскими лимфоцитами поверхностных антигенов трофобласта при беременности [Davies M. et al., 1982]. Указанные факты были использованы W. Faulk и J. McIntyre (1983) для объяснения иммунных механизмов некоторых форм спонтанных аборт у людей (см. 9.1). Таким образом, антигены TLX играют центральную роль в процессе распознавания антигенов пло-

да материнским организмом и в иммунологической защите бластоцисты.

Результаты исследований антигенов синцитиотрофобласта могут иметь существенное значение не только для анализа явлений иммунитета при беременности. Если эти антигены относятся к категории слабых антигенов МНС и они осуществляют защиту бластоцисты, то вполне вероятно их применение для подавления РТПХ при аллотрансплантации костного мозга, когда налицо существенные отличия по МНС-антигенам донора и реципиента. Как показали предварительные исследования, обработка трофобластическими компонентами снижает активность Т-лимфоцитов-хелперов [Hayes R., Claman H., 1982, 1983]. Экстраполяция таких возможностей на другие ситуации, когда требуется снизить активность взаимодействий, связанных с МНС-различиями (применение TLX-антигенов), или, наоборот, — повысить распознавание лимфоцитами МНС-антигенов (применение антисыворотки к TLX-антигенам), позволяет высказать интересные и практически важные предположения.

**Специфические антигены плаценты.** К этой группе относятся разнообразные белки, содержащиеся в плаценте, но которые могут встречаться и в других органах. Функция этих белков окончательно не выяснена. К числу их могут быть отнесены трофобластический  $\beta_1$ -гликопротеин и  $\alpha_2$ -микроглобулин, приоритет в открытии которых принадлежит отечественным ученым.

Впервые трофобластический  $\beta_1$ -гликопротеин (ТБГ) был открыт в сыворотке беременных женщин Ю. С. Татариновым и В. Н. Масюкевичем в 1970 г. Позже он был найден и в экстрактах плаценты [Татаринов Ю. С. и др., 1974, 1980]. Этот белок, синтезируемый трофобластом на ранних стадиях его развития, в крови появляется уже на 18—20-й день после оплодотворения и далее сохраняется в течение всей беременности на уровне 200—400 мкг/мл, несколько повышаясь в III триместре. Перед родами содержание в крови ТБГ резко снижается, а через 3—4 нед после родов его уже обнаружить не удается. При злокачественном перерождении клеток трофобласта в хорионкарциному продукция ТБГ продолжается, что облегчает диагностику трофобластических опухолей и оценку эффективности проводимой терапии [Татаринов Ю. С., 1983].

Идентификация ТБГ осуществляется с помощью иммунохимических методов: иммуноэлектрофорезом, им-

мунодиффузией и т. д. Химическая очистка ТБГ позволяет получить к нему специфические антисыворотки в ксеногенной системе, что облегчает его обнаружение [Соколов А. В. и др., 1978]. Это гликопротеин с мол. м. 110 000—120 000. Фрагмент ТБГ с мол. м. 65 000 был найден в моче беременных женщин [Bohn H., Kranz T., 1973]. ТБГ может комплексоваться с макроглобулинами сыворотки крови, в частности, имеющими подвижность  $\alpha$ -глобулинов.

Физиологическое значение ТБГ при беременности окончательно не выяснено, но показана его иммуносупрессивная активность. Обработка стимулирующих лимфоцитов очищенными препаратами ТБГ или внесение их в культуральную жидкость в дозе 6 мкг/мл и выше подавляло пролиферативный ответ отвечающих лимфоцитов в СКЛ [Татаринов Ю. С. и др., 1980]. Это показало не только супрессорное действие растворимых фракций ТБГ, но и наличие у этих белков аффинитета к клеточной поверхности лимфоцитов. Возможно, последние несут не только известные рецепторы к  $\alpha_2$ -микроглобулину,  $\alpha$ -фетопротейну или IgG, но и рецепторы к ТБГ. И. И. Головистиков и соавт. (1980) показали, что лимфоциты, стимулированные КоА, в присутствии ТБГ более интенсивно подавляли деление лимфоцитов, чем клетки, стимулированные одним КоА. Это свидетельствует о том, что ТБГ может способствовать *in vivo* индукции лимфоцитов-супрессоров, как это показано по отношению к ХГТ и другим плацентарным антигенам [Alpert F. et al., 1978; Fuchs T. et al., 1981]. В указанных работах также отмечена способность ТБГ в концентрации 6—60 мкг/мл угнетать пролиферативный ответ клеток на Т-митогены (ФГА) и В-стимуляторы (митоген лаконоса). Эти концентрации ТБГ являются физиологическими, поскольку во II триместре беременности наблюдается такой же его уровень, а в III триместре он повышается.

$\alpha_2$ -Микроглобулин фертильности (АМГФ) впервые был идентифицирован как новый антиген плаценты Д. Д. Петруниным и соавт. (1976). Позже его также обнаружили в сперме, семенных пузырьках, менструальной крови и эндометрии в последние дни менструального цикла [Петрунин Д. Д. и др., 1980]. Сначала этот белок называли  $\alpha_2$ -микроглобулин, но после выявления его в незначительных количествах в органах, не имеющих отношения к репродуктивной функции (сердце, мозг, печень, поч-

ки, селезенка и др.), стали обозначать АМГФ как плацентарный белок периода беременности.

Вначале считали, что АМГФ, как и ТБГ, имеет хорионическое происхождение, однако позже при раздельном исследовании экстрактов внематочно развивающегося плода и выделений из матки после тубэктомии удалось доказать его синтез в децидуальной части плаценты [Петрунин Д. Д. и др., 1982]. Этот белок на первых неделях беременности определяется в экстрактах ткани плаценты и в амниотической жидкости (в I триместре беременности соответственно 407,6 и 18,7 мкг/мл), далее его концентрация снижается вплоть до полного исчезновения из амниотической жидкости к концу беременности. Кривая содержания АМГФ коррелирует с изменением концентрации ХГТ (последний, возможно, регулирует синтез АМГФ при беременности) и находится в обратном отношении с концентрацией ФСГ (т. е. вне беременности АМГФ контролируется ЛГ). АМГФ является также неотъемлемым компонентом развития репродуктивных функций у мужчин и женщин, поскольку его находили в достаточно высокой концентрации в сперме и экстрактах эндометрия второй половины менструального цикла (соответственно 23,0 и 17,6 мкг/мл). В сыворотке крови он появляется в следовых количествах лишь в I триместре беременности.

Идентификацию АМГФ также проводили иммунохимически с помощью иммунодиффузии, диск-электрофореза, иммунофлюоресценции [Петрунин Д. Д. и др., 1978]. Тот же антиген под названием РР<sub>14</sub> был описан Н. Bohn (1982). Это сиалогликопротеин с мол. м. 25 000—42 000 (мономер и димер) с константой седиментации 3,55 S. Белки с аналогичными свойствами были описаны под названием «маточный  $\alpha$ -глобулин» [Sutcliffe R. et al., 1978] и «прогестеронзависимый эндометриальный протеин» [Joshi S. et al., 1980]. Предполагают, что АМГФ связан с обменом простагландинов. Он участвует в их метаболизме при лизисе в родах клеток децидуальной части плаценты, что имеет следствием стимуляцию миометрия [Петрунин Д. Д. и др., 1983; Bohn H. et al., 1982]. Иммуномодулирующее действие АМГФ не изучено.

Плацентарные антигены этой группы не являются аллоантигенами, т. е. антисыворотки к ним можно получить только в ксеногенной системе. Важно, что антисыворотки к плацентарным антигенам перекрестно реагируют с экстрактами из ряда внутренних органов, особен-

но при осложнении течения беременности. При ранних токсикозах беременности содержание АМГФ в крови повышается в 2—3 раза [Петрунин Д. Д. и др., 1982]. Это может быть следствием нарушения проницаемости барьера между фетоплацентарным комплексом и кровью матери, специфические белки плаценты при том могут вызывать аутоиммунное поражение почки, печени и других внутренних органов именно за счет перекрестнореагирующих антигенов.

#### **6.5. Рецепторы к IgG**

У потомства приматов, кроликов, морских свинок пассивный иммунитет создается за счет прямого перехода материнских IgG-антител к плоду, концентрация которых в крови плода оказывается выше материнской. У потомства других животных — мышей, крыс, кошек, собак формирование пассивного иммунитета связано преимущественно с вскармливанием материнским молоком, хотя и в этом случае происходит трансплацентарный переход IgG.

Еще в 1966 г. F. Vrambell высказал гипотезу о том, что отдельные материнские глобулины проникают через плаценту благодаря способности прикрепляться к рецепторам на плазматической мембране, что защищает глобулины от разрушения лизосомальными ферментами в процессе пиноцитоза и дальнейшего клеточного транспорта. К тому времени уже было известно, что хотя часть глобулинов может усваиваться плодом приматов из амниотической жидкости, все же главный путь передачи антител к нему от матери — трансплацентарный. Введение беременным обезьянам меченых аллогенных сывороточных белков и последующее (через 8—24 ч) изучение их содержания у плода, полученного кесаревым сечением, показало, что IgG переходят в плазму крови плодов в 10—20 раз быстрее, чем альбумины. Содержание тех же белков в амниотической жидкости было минимальным. Такие же результаты были получены у новорожденных с атрезией пищевода, которые не могли внутриутробно усваивать амниотическую жидкость.

В 1970 г. F. Vrambell экспериментально доказал, что у кроликов, плацента которых, как и плацента человека, построена по гемохориальному типу, выработанные ими активно или пассивно введенные IgG проходят через



стенку желточного мешка и далее поступает в циркуляцию плода. Когда беременным самкам отдельно вводили меченные Fab- и Fc-фрагменты IgG, то Fc-фрагменты поступали в кровоток быстрее. Эти фрагменты, сами не обладающие активностью антител, являются главным участком молекулы IgG, распознавание которой облегчает передачу всей молекулы антитела. Ксеногенные и аллогенные антитела класса IgM пассивно не передаются. IgM и IgA через плаценту не проходят, причем если для IgM это может быть связано с его относительно высокой мол. м., то для IgA, похожего на IgG, это может объясняться лишь отсутствием афинных рецепторов. Ввиду того что у приматов желточный мешок развит значительно слабее, решающим является поступление антител из материнской крови в плацентарные лакуны, откуда они поступают в фетальные капилляры ворсин трофобласта.

Наличие рецепторов к IgG на плаценте доказывается относительно просто: при смешивании клеток плаценты с эритроцитами, обработанными аллогенными антигенами через 1 ч первые образуют большое число розеток, которые отсутствуют при смешивании с интактными эритроцитами [Elson J. et al., 1975]. Такие же розетки с нагруженными эритроцитами образуют макрофаги плаценты [Johnson P., Matre R., 1979]. По-видимому, рецепторы, связывающие IgG, расположены на плаценте достаточно редко, так как иммунные растворимые комплексы или агрегированный IgG фиксируются на трофобласте хуже, чем эритроциты, нагруженные IgG [Matre R. et al., 1977]. Последние являются более крупными частицами и перекрывают сразу несколько Fc-рецепторов плаценты. Т. McNabb и соавт. (1976) рассчитали, что число рецепторов Fc к IgG на плаценте человека колеблется от  $2 \cdot 10^{12}$  до  $2 \cdot 10^{15}$  на 1 мг мембранного белка, они сосредоточены в основном на плазматической мембране синцитиотрофобласта.

Интимный механизм переноса IgG от матери к плоду окончательно не выяснен. Было высказано соображение о том, что ворсины захватывают частицы IgG, подвергают их пиноцитозу, стенки пузырька устойчивы к действию протеолитических ферментов, они проходят через клетки трофобласта и попадают в кровоток младенца, где IgG высвобождается [Wild A., 1975]. G. Wood и соавт. (1978) показали, что уже на 1-м месяце беременности клетки синцитиотрофобласта содержат высокочув-

ствительные Fc-рецепторы к мономерному сывороточному IgG и к его комплексу с антигенами. Такие же рецепторы содержались в гигантских многоядерных клетках трофобласта и многочисленных плацентарных макрофагах. После обработки ткани плаценты коллагеназой и трипсином в выделенной взвеси клеток содержится до 35% макрофагов, большинство из которых составляют фетальные клетки, способные фагоцитировать материнский IgG [Wilson C. et al., 1983]. Fc-рецепторы к IgG присутствуют также на сосудистом эндотелии плода.

На границе материнского организма с плодом преобладают Fc-рецепторы к моноклональному IgG, а в стро-ме плаценты — к комплексам IgG с антигеном. Отсюда вытекает двойственная роль Fc-рецепторов плаценты: с одной стороны они способствуют переходу свободных IgG материнских антител к плоду, а с другой — защищают плод от иммунных комплексов, образующихся в кровотоке матери или в самой плаценте, так как такие комплексы могут быть опасными для плода. Плацента является местом абсорбции цитотоксических антител к МНС-антигенам отца именно за счет своих Fc-рецепторов к IgG [Wegmann T. et al., 1979].

Другой пример связывания плацентой — ревматоидный фактор, который задерживается Fc-рецепторами. Те антитела класса IgG, которые обладают органной специфичностью и не образуют в плаценте комплекса с антигеном, переходят к плоду и могут стать источником заболевания. Так, например, обстоит дело с антителами при миастении Грейвса и другими аутоантителами, обуславливающими у новорожденных заболевания, имеющиеся у их матерей [Scott J., 1976]. Такая же участь постигает и IgG-антитела к резус-антигену Rh(D). Образование комплекса антител к Rh(D)-антигенам происходит уже в эндотелии сосудов плаценты, почему она часто страдает при Rh-иммунизации [Jones C., Fox H., 1978].

Связывание IgG более характерно для доношенной, чем недоношенной плаценты [Johnson P., Matre R., 1979], и это понятно, так как перенос значительных количеств материнских антител через плаценту начинается во II триместре и приходится в основном на III триместр беременности [Gitlin D., Biasucci A., 1969]. Fc-рецепторы к IgG являются гликопротеинами с мол. м. 28 000 (IgG1), 46 000 (IgG2), 70 000 (IgG3) и 115 000 (IgG4). Оптимальное связывание IgG происходит при pH 5,0—

6.5. Наиболее эффективно связываются IgG1 и IgG3 [Johnson P., Brown P., 1981]. Уровень общего IgG и каждого его субкласса в сыворотке новорожденных выше, чем в крови матери. У доношенных детей уровень IgG в крови выше, чем у недоношенных. При агаммаглобулинемии IgG в крови новорожденных отсутствует.

Fc-рецепторы к IgG присутствуют не только в плаценте, но и на клетках кишечника плодов разных видов животных, благодаря которым пассивный иммунитет поддерживается антителами, поступающими с грудным материнским молоком.

#### 6.6. Иммунологические свойства клеток и экстрактов плаценты

Несмотря на то что в клеточной взвеси плаценты лимфоидных клеток меньше, чем макрофагов, их все же удается выделить в очищенном виде. Лимфоидные клетки из плаценты мышей BALB/c, полученные на 16—20-й день беременности, в отличие от клеток селезенки взрослых небеременных мышей развивали сниженный пролиферативный ответ на КонА, ФГА и митоген лактоноса, в то же время нормально реагировали на липополисахарид. Обработка лимфоидных клеток плаценты антисывороткой к Т-лимфоцитам совместно с компонентом полностью устраняла пролиферативную активность, что говорит о Т-зависимости лимфоцитов плаценты. Плацентарные и трофобластические лимфоциты не взаимодействовали в СКЛ с облученными (стимулирующими) лимфоцитами мышей С57BL и не генерировали цитотоксических эффекторных клеток [Pavia Ch., Stites D., 1981]. Авторы считали, что отсутствие пролиферативного ответа в СКЛ со стороны плацентарных лимфоидных клеток не связано с присутствием лимфоцитарных супрессоров, а определяется низким содержанием на них МНС-антигенов. Однако дальнейшие исследования показали, что добавление клеток трофобласта мышей (16—18 сут беременности) к сингенным клеткам снижало пролиферативный ответ тех на аллогенные лимфоциты в СКЛ и угнетало образование цитотоксических лимфоцитов пропорционально количеству добавляемых клеток трофобласта (снижение на 10—17%). Это указывало на прямое супрессорное действие клеток трофобласта. Супрессорная активность *in vivo* проявлялась только по отношению к антигену, вводимому совместно с экстрактом плаценты [Mecori T., Kinski R., 1983].

Клетки аллогенного трофобласта мышей в отличие от сингенных и аллогенных клеток тимуса и селезенки также подавляли активность естественных киллеров, которыми особенно богата селезенка мышей *nude*. Супрессия осуществлялась по отношению к клеткам-эффекторам, она не угнеталась ингибиторами синтеза простагландинов и генетически не ограничивалась [Kolb J. et al., 1984].

С другой стороны, введение взвеси клеток плаценты от мышей (11 сут беременности) облученным сингенным мышам вызывало у них состояние, напоминающее РТПХ при введении аллогенных лимфоцитов. Часть животных при этом погибала. Введение клеток плаценты тимэктомированным при рождении реципиентам повышало их способность синтезировать антитела против эритроцитов мышей. Инъекция клеток плаценты летально облученным мышам приводила к заселению этими клетками селезенки, которая затем продуцировала в нормальной пропорции лимфоидные и миелоидные элементы [Dancis J. et al., 1968]. Приведенные данные свидетельствуют о наличии в плаценте (по крайней мере у грызунов) полноценных стволовых гемопоэтических клеток. При культивировании тканей плаценты человека *in vitro* в надосадочной жидкости появляется фактор, способствующий образованию клеточных колоний со стволовыми клетками костного мозга [Lohmann H., 1979; Schlun K., Schleyer M., 1983]. Все эти эксперименты дают основание думать о наличии в трофобласте плаценты разнонаправленных лимфоидных клеток с нормальной иммунологической активностью и супрессорной функцией.

Очищенные клетки плаценты и трофобласта человека подавляют образование цитотоксических Т-лимфоцитов, а также ответ их на митогены (КонА, ФГА). Супрессорный эффект отмечался не только по отношению к лимфоцитам матери, но к лимфоцитам интактных доноров, следовательно, он не был рестриктирован МНС-антигенами. Действие это также не зависело от токсических свойств трофобластических элементов [Toder V. et al., 1984]. Клетки трофобласта подавляют также активность ЕК- и К-клеток, они с помощью антикомплементарных факторов в плацентарном микроокружении способствуют превращению цитотоксических лимфоцитов в усиливающие, супрессорные. Этот эффект осуществляется совместно с супрессорными децидуальными клетками [Chaouat G. et al., 1984].

Экстракты плаценты человека, полученные с использованием ЭДТА и 2-меркаптоэтанола, содержат растворимые Fc-рецепторы к IgG [Matre R., Tönder O., 1982]. Они агглютинировали эритроциты барана, быка и овцы, сенсibilизированные IgG, что было связано с взаимодействием Fc-рецепторов с IgG внутри C<sub>γ2</sub>—C<sub>γ3</sub>-домена. Активность этих экстрактов не терялась при замораживании и оттаивании, хранении (—70 °), при обработке формальдегидом, нейраминидазой, трипсином, проназой или фосфолипазой, но утрачивалась после воздействия папаином. Последнее свидетельствует о белковой природе растворимых Fc-рецепторов плаценты. Их агглютинирующая активность падала в присутствии 0,6 М NaCl, что указывает на важность электростатических взаимодействий Fc-рецепторов к IgG. Нативные и растворимые Fc-рецепторы к IgG являются идентичными, поскольку обладали сходными свойствами. Экстракты плаценты угнетали на 80% розеткообразование с моноцитами, но не с гранулоцитами [Matre R., Tönder O., 1984].

Вероятно, иммуносупрессивные функции экстрактов плаценты, отмеченные многими исследователями, связаны не только с растворимыми рецепторами к IgG. Выше уже говорилось об антигенных группах ТА1, оказывающих близкодeйствующее иммуносупрессорное действие на лимфоциты, что может облегчить развитие процессов плацентации и внутриутробного развития. На мембранах клеток синцитиотрофобласта человека обнаружены также отложения ферритина — белка, способствующего потреблению плодом железа из материнского организма. Этот антиген обнаруживается на клетках злокачественных опухолей, обсуждается его возможная иммуносупрессивная роль [Whyte A., 1980]. В трофобласте также выявляются уже описанные трофобластические глобулины; трансферрин, осуществляющий трансплацентарный перенос железа, необходимый для пролиферации лимфоцитов и одновременно маскирующий трофобластные антигены от распознавания их матерью; лактоферрин и многие другие антигены, которые могут переходить в экстракт плацентарных тканей и оказывать *in vitro* иммуносупрессивное действие.

Растворимые экстракты клеток мышинной плаценты и бластоцисты угнетали ответ лимфоцитов на аллоантигены в СКЛ, но не на КонА; супрессорный фактор плацентарных клеток был неспецифичен, его действие не было подвержено генетической рестрикции, особенно

активно он подавлял функцию уже примированных (цитотоксических) лимфоцитов.

В ворсинках плаценты женщин, начиная с 4-й недели беременности обнаруживаются рецепторы к фрагментам комплемента (C1q, C3, C4, C9), их содержание значительно увеличивается при токсикозах беременности [Sinha D. et al., 1984]. Комплемент либо самостоятельно синтезируется плацентой, либо попадает из кровотока при образовании иммунологических комплексов. Возможно, что местно комплемент способствует усилению сосудистой проницаемости, он также переходит в растворимую форму, особенно его много в плаценте при преэклампсии.

С помощью иммунофлюоресценции в плаценте человека обнаруживаются все четыре субкласса IgG, которые фиксированы преимущественно на основной мембране трофобласта. Большая часть из них, как считают, имеет плодное происхождение [Johnson P. et al., 1977]. Будучи выделенными в растворимое состояние и очищены ультрацентрифугированием и гельфильтрацией, эти плацентарные IgG проявляли отчетливое иммуносупрессивное действие при взаимодействии материнских и отцовских лимфоцитов в СКЛ. С помощью панели В-клеток в плацентарном IgG обнаружен отцовский фенотип антигенов МНС, блокирующих клеточные реакции матери против плода [Nakamura K. et al., 1983].

С. Д. Булиенко и соавт. (1976, 1978) гель-фильтрацией на сефадексе G-200 выделили из экстракта плаценты человека несколько фракций глобулинов, обладающих более высокой, чем сыворотка крови, супрессорной активностью по отношению к пролиферативной и цитотоксической реакции аутологичных лимфоцитов на клетки трофобласта. В отличие от глобулина альбуминовая фракция из плацентарного экстракта усиливала иммунологические потенции лимфоцитов беременных.

В наших исследованиях [Говалло В. И., 1979] также была показана иммуносупрессивная активность нефракционированных экстрактов плаценты. Их получали гомогенизацией плацент человека в изотоническом растворе хлорида натрия (1:1), экстракцию проводили 24—48 ч при 4°C. Содержание Ig (мг%) в надосадочном слое было следующим: IgG 80—300 (среднее — 160), IgA 0—67 (25), IgM отсутствовал. Содержание белка в экстрактах составило 20—30 мг/мл, а содержание ХГТ 5—20 МЕ/мл. При добавлении полученных экстрактов

в культуральную жидкость в количестве 20% (что составило 4—6 мг/мл белка в среде) реакция бласттрансформации лимфоцитов в тесте с ФГА блокировалась на 75%, а в двусторонней СКЛ на 66—88%.

Супрессорные свойства солевых плацентарных экстрактов используются для борьбы с реакцией отторжения аллотрансплантатов. В опытах S. Svehag и W. Schilling (1976) при гетеротопической аллотрансплантации части сердца у мышей экстракт плаценты (после его центрифугирования 20 мин при 20 000 g) лишь незначительно продлевал электрокардиографическую активность трансплантата. Французские исследователи [Bonneau M. et al., 1975] элюировали глициновым буфером экстракт из 600 кг отмытой ткани плаценты, после чего из экстракта этанолом осаждали глобулины и удаляли липопротеины. В полученной фракции IgG (80%) в основном был представлен IgG1. Поскольку для получения фракции IgG было использовано до 2000 плацент, IgG-антитела реагировали в цитотоксическом тесте в 21 исследовании из 23 (доноры), т. е. были HLA-полиспецифическими. Введение плацентарного глобулина с анти-HLA-антителами 150 больным при аллотрансплантации почки (в комплексе со стандартной иммуносупрессивной терапией) способствовало приживлению донорского органа при первой его пересадке и не влияло на результаты повторной пересадки [Riggio R. et al., 1979].

Иммуносупрессорное действие нефракционированных плацентарных экстрактов связано с присутствием в них комплекса гонадотропных иммунорегуляторных гормонов — прогестерона, эстрогенов, ХГТ и ПЛЧ; продуктов матери и плаценты — кортикостероидов, ТБГ, трофобластических антигенов и плацентарного IgG, супрессорных лимфокинов, а также производных плода —  $\alpha$ -фетопротеина, фактора фетальных лимфоцитов и др. Каждый из указанных агентов может вносить свой вклад в угнетение иммунологических реакций *in vivo* и *in vitro*.

#### **6.7. Общие антигены трофобласта и опухолей**

Одним из интригующих вопросов биологии злокачественного опухолевого роста является общность некоторых биологических характеристик малигнизированных и эмбриональных тканей. Это направление по праву связывают с именем немецкого патолога J. Cohnheim (1899), предложившего зародышевую теорию происхождения опухолей. Согласно этой теории источником опухоли

служат островки эмбриональных клеток, оставшихся неизменными при развитии тканей. В наши дни вопрос ставится не о развитии опухолей из эмбриональных зачатков, а об активации эмбриональных генов в тканях некоторых злокачественных опухолей (онкогенов) и вторичной экспрессии белков, присущих трофобласту. Появилась даже выразительная формулировка — «онкогенез — это блокированный онтогенез».

Так, несмотря на то что ХГТ является специфичным для беременности гормоном, в последние годы было показано, что субстанции, аналогичные ХГТ, обнаруживаются в сыворотках онкологических больных и в экстрактах опухолевых тканей и культивированных клеток опухолей [Naughton M. et al., 1975; Mc Manus L. et al., 1976; Kanabus J. et al., 1978; Acevedo H. et al., 1979]. С. Ногне и соавт. (1976) исследовали взаимодействие антисывороток к разным плацентарным антигенам с клетками рака молочной железы человека: в 60% случаев клетки неоплазм реагировали с антисывороткой к ХГТ, в 76% — с антисывороткой к ПЛЧ и в 82% с антисывороткой к ТБГ. Эти исследования были дополнены многочисленными сообщениями о присутствии ХГТ или его  $\beta$ -субъединиц в опухолях трофобластического происхождения [Rosen S. et al., 1975; Kahn C. et al., 1977; Weintraub B. et al., 1977]. Подобные факты можно расценивать как косвенное свидетельство утраты контроля за нормальной дифференцировкой клеток при раке.

Ранее была выдвинута гипотеза о том, что депрессия эмбриональных генов обуславливает быструю пролиферацию неопластических клеток с эктопическим синтезом белка [Vaitrikaitis J. et al., 1976], который может обладать либо герминативной активностью — эндо-, экто- или мезодермы, либо таковой эмбриональных тканей — плаценты, амниона или желточного мешка [Fishman W., 1976]. Существует также мнение, что первичный ген всех типов карцином вырабатывает единый белок, который является предшественником гормона (прогормоном), а ферментные системы каждой клетки используют этот прогормон для своего специфического метаболизма [Lips C. et al., 1978].

При этом остается неясным, является ли такой депрессированный ген при опухолевом процессе необходимым этапом малигнизации или он лишь возможный ее этап [Longenecker J., Williams J., 1977]. Кроме того, имеются наблюдения о выделении малых количеств ХГТ



с мочой и содержании его в тканях практически здоровых людей [Chen H. et al., 1976; Yoshimoto Y. et al., 1977]. Возможные объяснения связаны с наличием у таких людей скрытых опухолей, естественным присутствием недифференцированных стволовых клеток с эмбриональным геномом или, наконец, с ошибочными реакциями реагентов к ХГТ с другими пептидами.

Были получены также доказательства того, что перекрестные антигены между трофобластом и некоторыми видами опухолей не ограничиваются только ХГТ. В злокачественных опухолях, в частности в клетках рака молочной железы, был обнаружен специфический трофобластический антиген ТА1 [Webb S., 1979]. Моноклональные антитела, полученные против антигенов трофобласта человека, взаимодействовали с клетками рака яичника, матки и молочной железы человека [Johnson P., 1983]. Если антигены, присущие беременности, способны иммунизировать организм, то становится понятным основное на эпидемиологической выборке соотношение R. Doll (1975) о том, что ранняя беременность может до некоторой степени обеспечить защиту против рака молочной железы, а поздняя — служить фактором риска (за счет продукции блокирующих факторов сыворотки).

Подтверждением тому, что клетки эмбрионов и опухолей имеют общие антигены, является то обстоятельство, что у мышей в процессе сингенной беременности наблюдается появление иммунного ответа к клеткам некоторых опухолей [Hellström I., Hellström K., 1975], а у онкологических больных клеточные иммунные реакции проявляются и по отношению к эмбриональным антигенам [Городилова В. В. и др., 1982; Говалло В. И. и др., 1983; Luckenbach G. et al., 1980; Cochran A. et al., 1982; Pasternak G. et al., 1982]. Лимфоциты крови больных со злокачественными опухолями, в отличие от клеток здоровых людей, оказывали *in vitro* цитотоксическое действие на культуру эмбриональных тканей [Vose B., Moore M., 1976]. Кроличьи антитела против клеточных мембран плацентарных ворсин взаимодействовали с мембранами клеток рака молочной железы, но не с нормальной тканью молочных желез человека [Sinha S. et al., 1983].

Не совсем ясно, какие из антигенов трофобласта оказываются способными иммунизировать самого носителя опухоли или сингенного реципиента и выступать в качестве канцероэмбрионального антигена. Возможно, что

указанные субстраты связаны с локусом T/t, так как антиген F9, выявляющийся на клетках мышины тератокарциномы, обладает способностью вызывать иммунный ответ в сингенной системе [Jakob F., 1978]. Ранее говорилось, что антигены этого локуса являются эволюционными предшественниками МНС-антигенов. Лимфоциты мышей СВА, иммунизированных клетками тератокарциномы, через 1 мес оказывали цитотоксическое действие на клетки, несущие антиген F9, но не МНС-антигены [Wagner H. et al., 1978]. Таким образом, развитие иммунитета при беременности и опухолях может происходить и без очевидного участия антигенов системы МНС.

При злокачественных опухолях проявляется и другая характерная для беременности иммунорегуляторная особенность, а именно способность сыворотки крови блокировать реакции клеточного иммунитета. При сопоставлении растворимого супрессорного (блокирующего) фактора трофобласта и злокачественных опухолей было показано, что они содержат компонент с мол. м. 45 000—60 000 и свойствами растворимого Fc-рецептора к IgG [Iton K. et al., 1983]. В блокирующих сыворотках крови онкологических больных была обнаружена фракция  $\alpha$ -макроглобулинов [Alomran A. et al., 1983], которые тоже относятся к белкам, ассоциированным с беременностью. При опухолях и во время беременности повышен синтез  $\alpha$ -фетопротеина, щелочной фосфатазы и других продуктов.

Учитывая перекрестную антигенность опухолевых и эмбриональных тканей, последние применяли в эксперименте для изучения их влияния на динамику устойчивости к опухолям. Иммунизация крыс хорионическим гонадотропином вызывала у них угнетение развития трансплантированной впоследствии асцитной опухоли Йосиды [Bernardini A. et al., 1982]. При многократном спаривании мышей BALB/c с мышами СЗН у многопложавших самок возникала резистентность к росту плазмцитомы отцовского генотипа [Breyer M., 1976]. Напротив, иммунизация клетками измельченного эмбриона и последующая перевивка сингенной саркомы сопровождалась снижением сопротивляемости и ростом опухоли [Gautam S., Aikat B., 1977], даже если иммунизацию сочетали с облучением реципиента [Shah L. et al., 1976]. Последнее, видимо, объясняется тем, что клетки эмбриона в отличие от антигенов трофобласта модифицируют

иммунный ответ, не создавая противоопухолевой защиты.

Применение экстрактов человеческого трофобласта у больных с диссеминированным раком легкого (наличие метастазов после нерадикального хирургического удаления плоскоклеточной карциномы) позволило получить без какого-либо дополнительного лечения стойкий эффект от кратковременной иммунотерапии [Говалло В. И., Дубровский А. В., 1981].

\* \* \*

Эволюционное развитие репродуктивной системы млекопитающих сопровождалось совершенствованием строения плаценты, в которой ветвящиеся ворсины плодной ее части — хориона все более тесно прилегают к децидуальной оболочке слизистой матки. В состав ворсин входят клетки цитотрофобласта, содержащие антигены МНС I класса отцовского гаплотипа, и синцитиотрофобласта, находящегося в прямом контакте с кровью матери и обедненного МНС-аллоантигенами. МНС-антигены II класса в трофобласте обнаружены в соединительной ткани. Позднее трофобласт снаружи покрывается фибриноидным слоем, обладающим иммунопротективными свойствами.

Плацента продуцирует многочисленные гормоны — прогестерон, релаксин, инсулин, вазопрессин, соматомаммотропин, хорионический гонадотропин. Последний начинает вырабатываться клетками синцитиотрофобласта человека уже на 8-й день беременности, поэтому он используется для ее ранней диагностики. ХГТ действует как дополнительный лютеотропный стимул, с ним взаимодействуют клетки с рецепторами к ЛГ в желтом теле, семенниках и надпочечниках плода. ХГТ, преимущественно его субъединица —  $\beta$ , обладает выраженным иммуносупрессорным действием, возможно, он активизирует Т-лимфоциты-супрессоры.

W. Faulk и соавт. (1979—1983) выделили из плаценты человека две группы антигенов, названных ими ТА1 и ТА2 (или TLX). ТА1 подавляет распознавание лимфоцитами матери МНС-антигенов отца, ТА2 (TLX), имеющие общие специфичности с лимфоцитами, распознаются ими как чужеродные даже в сингенной системе и способствуют образованию сывороточных блокирующих факторов. Иммуносупрессорными свойствами обладает так-

же открытый Ю. С. Татариновым и соавт. (1970) трофобластический  $\beta_1$ -гликопротеин.

В трофобласте гемохориальных плацент выражены Fc-рецепторы к IgG, способствующие пассивному переносу антител класса IgG от матери к плоду. Клетки трофобласта и растворимые экстракты плаценты селективно подавляют некоторые реакции клеточного иммунитета. В растворимых IgG плаценты находят отцовские антигены МНС II класса. Между антигенами трофобласта и некоторых злокачественных опухолей существуют выраженные перекрестные реакции, что может иметь значение для разработки методов иммунотерапии злокачественных опухолей человека.

## ГЛАВА 7

### СУПРЕССОРНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

#### 7.1. Неспецифическая иммуносупрессия

Издавна многими исследователями отмечалось, что иммунный ответ на некоторые неэмбриональные антигены при беременности ослаблен. Подавление реакции отторжения кожных аллотрансплантатов и абсолютную лимфопению при введении кортикостероидов и гонадотропных гормонов в эксперименте расценивали как модельный эквивалент неспецифического ослабления иммунологической реактивности организма при беременности [Medawar P., 1953; Medawar P., Sparrow E., 1956; Billingham R. et al., 1951, 1954; Heslop R. et al., 1954]. Иммуносупрессию связывали не только с гормональной перестройкой беременных, в которой главную роль отводили прогестерону и эстрогенам [Grossman Ch., 1984], но и с наличием целого ряда специфических белков (белок зоны беременности), характерных для беременности — фетопропротеинов, плацентарных гликопротеинов и др. [Halliday W., 1972; Purtilo D. et al., 1972; Hill C. et al., 1973; Schoultz B., 1974; Than G. et al., 1975; Birkerland S. et al., 1979]. В отличие от системного действия репродуктивных гормонов эти последние действуют, как предполагали, путем наслаивания на антигены клеточных мембран плаценты, несущие аллоантигены отцовского происхождения, либо на реагирующие лимфоциты самой беременной.

Неспецифическая иммуносупрессия является не только системной, но и преимущественно локальной,

т. е. осуществляющейся на территории плода [Лозовой В. П. и др., 1975; Beling C., Weksler M., 1974]. Факторы, ее определяющие, находятся как в фетоплацентарном комплексе, но и адресуются из центральных органов иммуногенеза [Beer A., Billingham R., 1973]. При беременности и пересадке аллогенных бластоцист в эксперименте было отмечено уменьшение массы тимуса, особенно его кортикального слоя, и спленомегалия за счет увеличения пропорции красной пульпы, расширения мозгового вещества и паракортикальной зоны регионарных лимфатических узлов [Колесников С. И., Морозова Л. М., 1985; Millar K. et al., 1973; Maroni E., de Sousa M., 1973].

В ряде работ D. Uphoff (1972, 1974) получило развитие представление о значении для выживания плода материнского влияния, модулирующего антигенные свойства потомства. Преимущественная экспрессия у плодов антигенов материнского происхождения, по мнению автора, является приспособительным процессом, позволяющим плоду избежать иммунологического распознавания и фатальной иммунной реакции. Материнские антигены обнаруживались у потомства, родившегося после пересадки оплодотворенной яйцеклетки в подготовленную матку генетически чужеродной самки. Материнские лимфоидные клетки вызывали у гибридов первого поколения  $F_1$  менее интенсивную РТПХ, чем сингенные с матерью лимфоциты.

Было также высказано предположение о наличии на поверхности лимфоцитов беременных и их плодов особых «отталкивающих молекул», которые вызывают взаимное отстранение клеток при их взаимодействии (репелент-эффект) и тем самым предотвращают иммунологический конфликт [Finn R. et al., 1972]. Как видно, объяснения центральной и периферической иммунологической недостаточности в процессах репродукции были достаточно разнообразными. Открытие системы супрессорных лимфоцитов и более детальный их анализ в крови беременных и тканях фетоплацентарного комплекса позволили более четко и объективно оценить вклад иммунитета в защиту развивающегося эмбриона.

## **7.2. Супрессорные лимфоциты при беременности**

К настоящему времени накопилось много доказательств, что перестройка лимфоидных органов при беременности связана с мобилизацией супрессорных кле-

ток. К. Suzuki и Т. Tomasi (1979) исследовали динамику антителообразующих клеток — АОК у мышей, иммунизированных эритроцитами барана. Накопление АОК в шейных, подмышечных, подколенных и парааортальных лимфатических узлах у беременных и небеременных мышей было одинаковым, но в селезенке иммунизированных беременных самок их было значительно меньше. Добавление клеток селезенки мышей (15 сут беременности) к клеткам селезенки небеременных мышей подавляло пролиферативный ответ последних на ФГА и липополисахарид. Обработка добавляемых клеток анти- $\theta$ -сывороткой с комплементом снижала (но не отменяла полностью) супрессорную активность, что указывало на их Т-зависимость.

В СКЛ величина односторонней реакции спленоцитов значительно снижена не только при аллогенной, но и при сингенной беременности мышей. Та же реакция у интактных мышей подавлялась, если к СКЛ в качестве регуляторных клеток добавляли спленоциты от беременных самок [Chaouat G. et al., 1979; Sano M. et al., 1984]. Добавление спленоцитов беременных мышей к аллогенным лимфоцитам снижало интенсивность кожных реакций ГЗТ [Hamada M., 1983].

Пассивный перенос клеток селезенки от беременных мышей линии A/J небеременным сингенным самкам лишил их способности отторгать обычно неперевиваемую саркому (Sa1). Подобной супрессорной активностью обладали только Т-клетки беременных, но не их В-лимфоциты или Т-клетки от девственных самок [Chaouat G. et al., 1979]. Примечательно, что супрессорная активность клеток селезенки повышалась соответственно увеличению МНС-различий родителей, но все же супрессорные клетки имели место не только при аллогенной и сингенной, но даже при псевдобеременности [Clark D., McDermott M., 1982]. Последнее подчеркивает участие репродуктивных гормонов в усиленном образовании при беременности лимфоцитов-супрессоров. В прямых опытах было показано, что длительное воздействие  $17\beta$ -эстрадиолом у мышей стимулирует образование в селезенке супрессорных клеток, угнетающих активность естественных киллеров [Milisauskas V. et al., 1983].

Супрессорные клетки имели фенотип  $Thy^+$ ,  $Lyt^+$ ,  $Ia^+$ . При культивировании в течение 24 ч клеток селезенки беременных самок в присутствии убитых митоми-

цином лимфоцитов самцов отцовской линии в надосадочной жидкости появлялся супрессорный фактор, также ингибирующий пролиферативный ответ в СКЛ [Chaouat G., Voisin G., 1981b; Slapsys R., Clark D., 1982]. Этот фактор был специфичен, он подавлял пролиферацию лишь тех лимфоцитов, которые были по H-2 идентичны материнским, и только в случаях, когда их стимулировали клетками, аналогичными H-2-фенотипу отца. Супрессорная активность устранялась из надосадочной жидкости иммуносорбентами с антителами к Ia-антигенам. Это указывает на то, что важное влияние на формирование местного супрессорного иммунитета оказывают МНС-антигены II класса.

Наряду с селезенкой лимфоциты-супрессоры при беременности аккумулируются и в лимфатических узлах, дренирующих матку. Эти супрессорные лимфоциты, как считают, не обладают строгой МНС-специфичностью, они подавляют цитотоксичность любых аллогенных лимфоцитов и ослабляют их способность вызывать РТПХ [Clark D., McDermott M., 1979] или отвечать на митогены и аллоантигены [Dorić M. et al., 1983]. Супрессорные клетки лимфатических узлов беременных мышей, как и спленоциты, при культивировании выделяют растворимый супрессорный фактор с мол. м. 25000 [Clark D. et al., 1980]. Они появляются у мышей на 4—5 сут после скрещивания, их количество снижается к 7 сут беременности, но потом вновь возрастает [Clark D., McDermott M., 1981]. Стимуляция таких клеток может быть обусловлена влиянием продуктов плода или местной высокой концентрацией  $\alpha$ -фетопротеина [Lau H., Lipkins S., 1976].

При сингенной беременности у самок мышей были обнаружены супрессорные лимфоциты, подавляющие ответ на H-Y-антиген [Smith P., Powell A., 1977; Chandler P. et al., 1980]. Поскольку способность формировать иммунный ответ к мужской H-Y-хромосоме генетически детерминирована, то и накопление супрессорных клеток в лимфатических узлах при сингенной беременности выражено неодинаково у разных линий мышей. Можно думать, что индукция местного супрессорного иммунитета связана также со специфическими антигенами трофобласта, которые у человека получили название ТА1.

Наличие супрессорных лимфоцитов в крови беременных продемонстрировано разными исследователями [Engleman E. et al., 1978; Kovithavong T., Dossetor J.,

1978], причем удалось отметить их специфичность, направленную против отцовского, но не какого-либо иного HLA-фенотипа [Vanderbeeken Y. et al., 1981]. С помощью трехкомпонентной СКЛ, в которой различные количества лимфоцитов беременной добавляли к стандартной системе лимфоцитов мужа и интактного донора, нами были обнаружены супрессорные лимфоциты в крови беременных женщин начиная с 5—8-й недели беременности [Говалло В. И., 1978, 1982]. Активность супрессорных лимфоцитов оказалась резко сниженной при спонтанных абортах [Говалло В. И. и др., 1978, 1982]. R. Georgieva (1984) отметила особенно заметное повышение процента супрессорных лимфоцитов в крови и лимфатических узлах, дренирующих матку свиней, в ранние сроки беременности. Число лимфоцитов-помощников при этом существенно не изменялось. Важность раннего проявления супрессорной функции лимфоцитов для предотвращения спонтанных абортов и повышение в противном случае цитотоксической активности Т-лимфоцитов показали также в эксперименте D. Clark и соавт. (1980).

Не исключена возможность того, что в формировании супрессорной функции лимфоцитов матери играют роль какие-то растворимые медиаторы, выделяемые лимфоцитами плода [Bassett M. et al., 1977]. Лимфоциты пуповинной крови плода подавляют у матери образование антителообразующих клеток [Miyawaki T. et al., 1979], снижают реакции клеточно-опосредованного лимфолизиса [Rayfield L. et al., 1980], подавляют пролиферативный ответ аллогенных лимфоцитов на разнообразные митогены — ФГА, КонА, стрептокиназу-стрептодорназу [Abedin M., Kirkpatrick Ch., 1980] или на аллогенные клетки в СКЛ в любой их комбинации — между матерью, отцом, интактным донором [Fumita Y. et al., 1983].

Супрессорные клетки плода были радиорезистентны, они неспецифически подавляли *in vitro* функциональную активность Т- и В-лимфоцитов взрослых людей и имели фенотип ОКТ8<sup>+</sup>, хотя общее число ОКТ8<sup>+</sup>-лимфоцитов у новорожденных не было повышено [Durandy A., Griscelli C., 1983; Deroche A. et al., 1983]. Удаление ОКТ8<sup>+</sup>-клеток из суспензии мононуклеаров плода полностью лишало ее супрессорной активности [Rodrigues M. et al., 1981]. Примечательно сравнительное исследование Y. Altman и соавт. (1984), в котором было по-



казано, что лимфоциты новорожденных способны угнетать ответ на антигены всех материнских лимфоцитов, в то время как материнские супрессоры подавляют пролиферативный ответ лишь собственных лимфоцитов. В опытах с отдельной стимуляцией клеток пуповинной крови Т- и В-митогенами было отмечено, что супрессорная активность лимфоцитов развивается раньше, чем хелперная [Andersson V. et al., 1983].

Реальная возможность влияния лимфоцитов плода на лимфоциты матери подтверждается тем, что первые при культивировании высвобождают растворимый супрессорный фактор, легко преодолевающий сосудистый и плацентарный барьер [Hayward A., Kurnek J., 1981]. Растворимые факторы, высвобождаемые в среду через 48 ч культивирования лимфоцитов крови плода с митогенами или аллогенными клетками, проявляют супрессорное действие особенно отчетливо при МНС-совместимости с их Т-клеточными мишенями (МНС-рестрикция) [Cheng H. et al., 1983]. Иммуносупрессорные функции клеток плода важны во многих отношениях: 1) не допустить развития РТПХ и повреждения плода при возможном прохождении материнских лимфоцитов через плацентарный барьер и оседании в лимфатических узлах плода; 2) для селективного предупреждения цитотоксического иммунитета со стороны материнских лимфоцитов и реакции фетальных лимфоцитов на аллоантигены матери, так как лимфоциты плода еще до рождения приобретают эффекторные функции и, в частности, способны к клеточно-опосредованному лимфолизису [Rayfield et al., 1980].

Неспецифический характер функционирования супрессорных лимфоцитов новорожденных, напоминающий активность естественных киллеров и обнаруживаемый даже в отсутствие антигена, позволил причислить их к категории «естественных супрессорных клеток». Эти клетки встречаются в крови и селезенке новорожденных мышей, они, как и спленоциты взрослых мышей с тотально облученной лимфоидной системой, подавляют реакцию СКЛ при трансплантации аллогенного костного мозга и не препятствуют образованию аллоспецифических супрессоров [Oseroff A. et al., 1984]. Эти клетки имеют фенотип 0-лимфоцитов. Кроме того, активность аллогенных лимфоцитов подавляют и макрофаги новорожденных мышей [Santamaria M. et al., 1983].

Существует много доказательств того, что стимуляторы созревания супрессорных клеток у беременных продуцируются в плаценте. Надосадочная жидкость, полученная при культивировании плацентарных клеток, угнетает *in vitro* пролиферативный ответ лимфоцитов в СКЛ, блокирует клеточно-опосредованный лизис, функцию естественных киллеров, опосредованную антителами цитотоксичность и другие феномены клеточного иммунитета. Иммуносупрессорное действие клеток и экстрактов плаценты или трофобласта не имеет строгих видовых или линейных ограничений [Kolb J., Chaouat G., 1982]. Поэтому плацента может играть пусковую или этапную роль в становлении специфического супрессорного иммунитета.

### **7.3. Растворимые блокирующие факторы**

Появление при беременности супрессорных лимфоцитов было бы физиологически нецелесообразно, если бы в регионарном лимфоидном аппарате и крови матери не присутствовали лимфоциты, потенциально агрессивные по отношению к плоду. Подробно вопрос о распознавании антигенов плода иммунной системой матери разбирается ниже (см. 8.1—8.3.). Здесь же следует указать, что вскоре после того как в СКЛ удалось установить факт усиленного распознавания лимфоцитами беременной лимфоцитов отца, было описано и специфическое подавление этой реакции аутологичной сывороткой [Ceppellini R. et al., 1971; Gatti R. et al., 1973; Robert M. et al., 1973].

Феномен сывороточной супрессии иммунного ответа аутологичных лимфоцитов стали называть блокирующим, а растворимые факторы, его определяющие, — блокирующими факторами. По аналогии с феноменом усиления роста опухолевых аллотрансплантатов у животных, вызываемого предшествующими гуморальными антителами, описываемое блокирующее действие сывороток крови при беременности называют также усилением, а блокирующие факторы — усиливающими или облегчающими [Voisin G., 1979].

Сыворотка многорожавших женщин подавляет реакцию в СКЛ [Revillard J. et al., 1973; Faulk W. et al., 1974], причем это действие бывает и неспецифическим. Специфические блокирующие факторы могут быть удалены из сыворотки абсорбцией лимфоцитами мужа [Negva E., 1977] или пулом аллогенных тромбоцитов [Re-

villard J. et al., 1976], что говорит косвенно о связи этих факторов с продуктами HLA-системы.

J. Kolb и соавт. (1984) показали, что цитотоксический эффект материнских лимфоцитов на культивируемые клетки трофобласта полностью подавляется материнской сывороткой. Если из сыворотки удаляли IgG-фракцию, защитный эффект ее существенно снижался. Лимфоциты родильниц взаимодействуют также с пулом плацентарных антигенов, но это взаимодействие блокируется аутосывороткой. Блокирующее действие сыворотки родильниц не проявлялось в реакции тех же лимфоцитов на PPD [Youtananukorn V. et al., 1974].

Поскольку было отмечено, что при самопроизвольных абортах блокирующие факторы в крови матери отсутствуют [Говалло В. И., 1975, 1979; Rocklin R. et al., 1976; Stimson W. et al., 1979], им при беременности стали придавать важное регуляторное значение. Поначалу было высказано предположение, что эти факторы являются плацентарными антигенами [Youtananukorn V., Matangkosombut P., 1973], но затем им удалось элюировать с поверхности плаценты и охарактеризовать как IgG, близко связанные с MHC-антигенами II класса отцовского фенотипа [Maruhashi T. et al., 1983].

Блокирующие факторы появляются в сыворотке на самых ранних стадиях беременности и обнаруживаются на всем ее протяжении исчезая лишь непосредственно перед родами [Говалло В. И. и др., 1973; Алиханова И. Д., 1979]. В реакции подавления прилипания лейкоцитов нам не удалось отметить блокирующего действия сыворотки родильниц, но другие авторы считают, что оно может сохраняться и после родов [Maruhashi T. et al., 1983]. Эффект сывороточной блокады реакций клеточного иммунитета имеет место и при сингенной беременности, хотя выражен он слабее, чем при межлинейном скрещивании животных [Voisin G. Chaouat G., 1974]. Это указывает на то, что в его стимуляции (и одновременно в иммунологическом распознавании матерью отцовских антигенов) могут играть роль не только MHC-антигены, но их эволюционные предшественники (возможно, антигены T/t-локуса), трофобластные и органоспецифические антигены. В эксперименте было установлено, что блокирующие факторы в крови появляются уже через 6 ч после оплодотворения [Clarke F. et al., 1978].

Блокирующие свойства сыворотки крови беременных могут наблюдаться не только в СКЛ, но и в реакциях лимфоцитов на митогены, розеткообразовании, лимфотоксичности, однако активность их более высока, если в иммунологических реакциях стимулирующими клетками служат лимфоциты отца или в качестве антигена используется растворимый эмбриональный антиген. Сыворотка крови беременных подавляет также активность ЕК [Barrett D. et al., 1982].

Поскольку подчас в сыворотках беременных одновременно присутствуют и цитотоксические антитела, и блокирующие факторы, для выявления их иммунных свойств сыворотки следует титровать. Антитела обычно сохраняются в больших разведениях сыворотки, нежели блокирующие элементы. Блокирующие факторы сорбируются и на аутологических лимфоцитах. Реактивность лимфоцитов крови беременных в клеточных тестах зависит от последовательного отмывания их от аутологичной сыворотки: однократно отмытые лимфоциты обладают низкой цитотоксичностью к эмбриональным фибробластам и способностью к продукции лимфокинов, но пятикратное отмывание клеток восстанавливает их иммунологические свойства [Szekeres I. et al., 1981]. Дифференцированный анализ блокирующих факторов у саламандр ультрацентрифугированием сывороток в градиенте сахарозы показал наличие в них, по крайней мере, двух субстанций: фракция 19S специфически защищает эмбриональные структуры, а фракция 13S неспецифически угнетает материнские лимфоциты. Вещества, ответственные за эти реакции, относятся соответственно к IgM и  $\alpha_2$ -макроглобулину [Bated M., 1984].

Сходные с блокирующими свойствами сыворотки крови иммуносупрессорные субстанции были также обнаружены в аллантоисной и амниотической жидкостях [Tuap M., 1976; Murgay F. et al., 1979], причем последняя супрессирует функции лимфоцитов сильнее, чем сыворотка крови [Toder V. et al., 1982]. Иммуносупрессорное действие амниотической жидкости, очевидно, связано с фактором EL, выделяемым культивируемыми клетками амниона и тормозящим ответ Т-лимфоцитов на митогены и аллоантигены [Горлина Н. К., Головистиков И. Н., 1980]. Супрессия однонаправленной СКЛ и реакции на ФГА и липополисахарид, оказываемая амниотической жидкостью новорожденных мышей и

$\alpha$ -фетопротеином, оказалась сходной, но лишь при повышении концентрации последнего до 100—200 мкг/мл [Labib R., Tomasi T., 1978]. Искусственное устранение  $\alpha$ -фетопротеина из амниотической жидкости не лишало ее полностью иммуносупрессорного действия, что свидетельствует о наличии в ней других блокирующих субстанций [Suzuki K., Tomasi T., 1979]. О том же говорит различная динамика блокирующей активности крови беременных женщин (максимальная активность во II триместре) и неуклонно нарастающее содержание  $\alpha$ -фетопротеина [Roda C. et al., 1983]. Обсуждается наличие определенной генерации регуляторных лимфоцитов с рецепторами для фетопротеинов или способность этих белков плода стимулировать продукцию лимфоцитов-супрессоров, которые уже вторично продуцируют блокирующие факторы [Tomasi T., 1973; Vachnin S. et al., 1980].

При трансплантации взрослым реципиентам фетальной ткани оказалось, что они не подвергаются характерному отторжению и вызывают проявления не столько трансплантационного цитотоксического, сколько супрессорного иммунитета [Говалло В. И. и др., 1981, 1982]. Sh. Segal и соавт. (1979) при пересадке фетальных костей взрослым крысам обнаружили образование гуморальных блокирующих факторов, которые расценили как антитела к Ia-антигенам плодных тканей.

Блокирующий эффект сывороток беременных связывают и с другими эмбриональными субстанциями, которые в очищенном виде демонстративно подавляют клеточный иммунитет:  $\alpha_2$ -гликопротеином [Thomson A. et al., 1979; Persellin R., Rhodes I., 1981], растворимым фактором децидуальной оболочки [Golander A. et al., 1981], трофобластическим  $\beta_1$ -гликопротеином [Harris S. et al., 1984], растворимыми антигенами плода [von Breen V. et al., 1981]. Не отрицая очевидной комплексной природы блокирующих факторов при беременности, следует все же признать, что главный вклад в иммуносупрессорные функции вносит плацента. Культивируемые клетки хориона продуцируют фактор, имеющий характеристику Fc-рецепторов к IgG, который обладал способностью активировать T-супрессоры [Matsuzaki N. et al., 1983]. Элюированные с плаценты растворимые IgG-блокирующие субстанции при введении их сингенным самкам мышей подавляли у них отторжение аллогенной опухоли отцовского генотипа [Voisin G., 1979].

Тот же эффект наблюдался и при местном (по отношению к зоне трансплантации опухоли) введении фракций гликопротеинов, выделенных из плацент мышей [Gupta G. et al., 1983] или экстракта плаценты, которые снижали титр цитотоксических антител к аллогенной опухоли [Duc H. et al., 1983].

Для получения супрессорного фактора были использованы и линии человеческой хорионкарциномы; неспецифический блокирующий фактор, выделяемый ее клетками в надосадочную жидкость, подавлял только Т-зависимый иммунный ответ и стимулировал супрессорные лимфоциты. Гестационные трофобластические опухоли являются своеобразными аномальными аллотрансплантатами фетального типа. Сыворотка крови больных с трофобластической опухолью специфически угнетает СҚЛ между аутологичными лимфоцитами и лимфоцитами отца, но не постороннего донора. Этот растворимый иммуносупрессор принципиально идентичен иммуносупрессору при беременности, оба они блокируют *in vivo* отторжение тканей трофобласта [Ho P. et al., 1984].

Некоторые исследователи полагают, что плацента вырабатывает не один, а по крайней мере два блокирующих фактора, поступающих в кровь и оказывающих разные иммуносупрессорные эффекты на ранних и поздних стадиях беременности [Yabushita H. et al., 1983]. Очевидно, что и сывороточные блокирующие антитела при беременности множественны. Сыворотка беременных способна неспецифически угнетать функции Т-клеток, однако иммунокомпетентность материнского организма во время беременности практически не страдает, так как основную роль играют все же специфические вещества. Немалая роль в блокировании клеточных реакций принадлежит блокирующим антителам против МНС-антигенов отца, преимущественно IgG2. Недостаточность этих антител у людей, например при близком сходстве HLA-антигенов родителей, может быть причиной самопроизвольных аборт в I триместре беременности. Определенное место в подавлении клеточного иммунитета матери могут иметь и антитела, независимые от МНС и обнаруживаемые в реакциях подавления ЕА-розеткообразования, прилипания лейкоцитов и других тестах. Блокирующие субстанции типа антител образуются за счет общих антигенов трофобласта и лимфоцитов (TLX). Наконец, в сыворотке беременных

содержатся аутологичные антиидиотипические антитела, которые направлены против рецепторов материнских лимфоцитов, распознающих МНС-антигены отца (идиотипы). Эти антитела ингибируют не только цитотоксические антиотцовские антитела, но и иммунные лимфоциты матери [Suciú-Foca N. et al., 1984]. Все эти разновидности блокирующих антител вместе с иммуносупрессорными продуктами плаценты действуют сообща или последовательно на разных стадиях беременности.

#### **7.4. Местные иммуносупрессорные механизмы**

Барьерная роль плаценты в иммунологических взаимоотношениях мать — плод, состоит в том, что именно на ее территории реализуется самая эффективная локальная супрессия. Некоторое количество клеток плода неслучайно проходит в кровотоки матери. В этом случае активная супрессия может быть очень важной для защиты плода, так как имеются предпосылки для сенсибилизации матери против отцовских аллоантигенов.

Ранее уже было сказано, что вскоре после оплодотворения яйцеклетка начинает продуцировать иммуносупрессорный гликопротеин — фактор ранней беременности, являющийся первым сигналом успешной фертилизации. Получены четкие иммунологические доказательства различий между этим белком и ранними плацентарными гормонами — ПЛЧ, ХГТ, ЛГ, гормоном роста [Clarke F. et al., 1983]. К числу рано проявляющихся иммунорегуляторных факторов относится и децидуальная реакция. В ее реализации имеют значение не только гормональные влияния, готовящие слизистую матки к имплантации эмбриона, но и миграция сюда лимфоидных клеток из костного мозга с последующим становлением иммуносупрессорных свойств децидуальных тканей.

У облученных химеричных мышей, получивших клетки костного мозга от аллогенного реципиента для защиты от радиационного поражения, при наступлении беременности меченные клетки донорского происхождения обнаруживались в децидуальной ткани [Keaghs M., Lala P., 1982]. Возможно, что в эндометрий мигрируют макрофаги и лимфоциты перитонеального происхождения [Tachi Ch., Tachi S., 1983]. Существует много доказательств того, что в децидуальных тканях сосредоточены именно лимфоциты-супрессоры, а экстракты из

этих тканей тормозят *in vitro* клеточные иммунные реакции [Kouttab W. et al., 1976; Globerson A. et al., 1976; Golander A. et al., 1978; Kirkwood K. et al., 1981; Rachmann F. et al., 1981].

Другой важный механизм локальной иммуносупрессии связан с регионарными лимфатическими узлами. Меченые лимфоциты, помещенные в полость матки, не мигрируют в лимфатические узлы, дренирующие матку [Head J. et al., 1982]. В этом смысле матка — уникальная структура, которая до известной степени самостоятельно осуществляет оптимальную переработку и утилизацию антигенов. В беременной матке вырабатывается и местный супрессорный фактор, на который не влияют ни генотип плода, ни предшествующие беременности [Sio J. et al., 1983]. Но из парааортальных узлов происходит миграция супрессорных лимфоцитов в матку, в ее децидуальную оболочку. Такие крупные супрессорные клетки содержат в цитоплазме большое количество гранул, они не относятся к С-лимфоцитам и в то же время активно подавляют образование цитотоксических лимфоцитов в СКЛ [Slapsys R., Clark D., 1982].

Так было показано, что эти крупные гранулярные лимфоциты-супрессоры не оказывают влияния на предшественников цитотоксических лимфоцитов, но подавляют их развитие в зрелые киллеры. Гранулярные супрессорные клетки способны активно продуцировать растворимый блокирующий фактор, их количество достигает пика во время имплантации бластоцисты уже при первой беременности, а интенсивность накопления пропорциональна степени аллоантигенных отличий самца и самки [Clark D. et al., 1980; Clark D., McDermott H., 1981]. Даже небольшое количество этих клеток, выделенных из венозной крови матки беременных мышей, тормозит инфильтрацию цитотоксическими лимфоцитами аллотрансплантата у небеременных животных. При сопоставлении содержания этих клеток в разных рогах матки — с успешно имплантированным аллогенным плодом и неразвивающимся ксеногенным — были получены доказательства важности их присутствия для нормального завершения беременности [Clark D. et al., 1983].

Супрессорные клетки децидуальной оболочки и регионарных лимфатических узлов матки продуцируют растворимый фактор, блокирующий эффект ИЛ-2 и



образование цитотоксических Т-лимфоцитов [Clark D. et al., 1985].

Наличие неспецифических супрессоров при беременности может вести к перераспределению некоторых субпопуляций лимфоцитов в иммунной системе матери [Chatterjee-Hasrouni S. et al., 1980], но в свою очередь оно находится под влиянием плацентарных секретов и аллоантигенов. С гормонами и неспецифической супрессией также может быть связана инволюция тимуса, более выраженная при аллогенной, чем сингенной беременности, и происходящая за счет чувствительных к стероидам кортикальных тимоцитов. Изучение хромосомных маркеров подтвердило костномозговое происхождение децидуальных клеток [Kearns M., Lala P., 1982], и было бы удивительным, если бы процессы миграции лимфоидных клеток при беременности не затронули бы вилочковую железу.

Плацентарные клетки также проявляют супрессорное действие по отношению к сингенным и аллогенным лимфоцитам в СКЛ и в клеточно-опосредованном лизисе [Barg M. et al., 1978; Pavia C., Stites D., 1981; Kolb J., Chaouat G., 1982]. Надосадочная жидкость от культивируемых 24 ч клеток плаценты мышей (14 сут беременности) подавляет цитотоксичность Т-лимфоцитов [Chaouat G. et al., 1982]. Супрессорный фактор, продуцируемый клетками эктоплацентарного конуса, не был специфичен по отношению к отцовским аллоантигенам и не проявлял МНС-ограничений. Подобный же растворимый субстрат был найден и в человеческой плаценте [Golander A. et al., 1981]. Обработка плацентарных клеток трипсином лишает их супрессорной активности через 48 ч, что связано с разрушением ферментами поверхностных молекул клеток трофобласта [Toder V. et al., 1981; Smith G., 1983]. Клетки плаценты или их супернатанты могут препятствовать и взаимодействию антител с комплементом [Borland R. et al., 1975]. Это антикомплементарное действие ферментов плаценты можно связать с тем наблюдением, что клетки плаценты устойчивы *in vitro* к цитотоксическим антителам и лимфоцитам [Beer A., Sio J., 1980].

Выявление супрессорных клеток и растворимых блокирующих факторов в регионарных по отношению к матке лимфатических узлах и децидуальной ткани представляет еще одно звено в чрезвычайно важной физиологической барьерной роли фетоплацентарного

комплекса. Естественно, что местная локальная резистентность к проявлениям материнского иммунитета включает и другие, пока еще недостаточно исследованные механизмы. Показано, например, что желточный мешок (10 сут) мышей содержит субпопуляции естественных киллерных клеток и лимфоцитов, осуществляющих ГЗТ и способных нейтрализовать материнские иммунные клетки, если те проходят через плацентарный барьер [Dahe C. et al., 1980]. В крови из пуповины новорожденного обнаружены IgM-антитела, специфичные к киллерным Т-клеткам и также способные разрушать лимфоциты матери [Miyagawa Y. et al., 1982]. Супресорные клетки новорожденных подавляют *in vitro* распознающую активность материнских Т-клеток [Olding L., Oldstone M., 1976]. Все эти иммунологические проявления участвуют в формировании барьерной функции плаценты.

Хотя детальные разработки последних лет внесли много конкретных деталей в наши представления о защитных приспособлениях плаценты, но первые шаги в этом направлении были предприняты более 50 лет назад. Маскап и Чоп (1935)<sup>1</sup> выделили из плаценты глобулиновую фракцию белков и связали ее с образующимися в плаценте продуктами, которые защищают плод в первые месяцы его жизни от иммунной атаки матери.

#### **7.5. Иммунология и иммунотерапия самопроизвольных аборт**

Причины самопроизвольных абортов, которые по данным разных исследователей составляют до 12% к общему числу беременностей, многочисленны и разнообразны. Здесь мы не касаемся эндокринных изменений, которые могут служить причиной ранних самопроизвольных абортов, а также анатомических, генетических или инфекционных причин. При самопроизвольных абортах неясной этиологии в настоящее время предложены некоторые критерии, которые позволяют их связать с иммунологическими причинами [Scott J., 1982; McIntyre J. et al., 1983; Beer A., 1983]. К ним относятся:

а) наличие не менее трех самопроизвольных абортов в анамнезе без выясненной этиологии, отсутствие детей в данном браке;

<sup>1</sup> Цит. по Л. С. Волковой «Иммунобиологические взаимоотношения организмов матери и плода». — М.: Медицина, 1970, с. 31.

б) совпадение (гомозиготность) супругов не менее чем по двум HLA-антигенам;

в) ослабленный иммунный ответ лимфоцитов беременной на аллоантигены мужа и плода, снижение блокирующей активности сыворотки беременной по отношению к аутологичным лимфоцитам в реакциях клеточного иммунитета, отсутствие в крови антител к HLA-антигенам плода отцовского происхождения;

г) ослабленная пролиферативная реакция в СКЛ отвечающих лимфоцитов беременной на стимулирующие лимфоциты мужа (они обработаны митоцином или облучены) по сравнению с СКЛ между лимфоцитами беременной и интактного донора (супрессия ответа в СКЛ не всегда бывает строго специфичной по отношению к отцовским антигенам);

д) наличие аутоиммунных реакций, направленных против антигенов ПЗ яйцеклетки, а также — противосперматозоидных антител (сперматозоиды и ранний эмбрион человека имеют некоторые общие антигены — T/t-локуса и др.).

Цитотоксические и агглютинирующие антитела к сперматозоидам могут частично быть направлены против антигенов плода и обусловить привычное невынашивание беременности [Gibson S., Menge A., 1983; Mathur S. et al., 1984].

При привычном невынашивании беременности не отмечается изменение частоты встречаемости каких-либо HLA-антигенов у жены или мужа по сравнению с общей популяцией [Lauristen J. et al., 1976; Говалло В. И., 1979], однако самопроизвольные аборт часто ассоциируются с частичной совместимостью супругов и по антигенам HLA. L. Komlos и соавт. (1977), M. Gegenger и соавт. (1979) первыми отметили высокий процент гомозиготности по HLA-антигенам I и II классов в супружеских парах, где жены имели многократные самопроизвольные аборты. HLA-D-совместимые супруги часто были совместимыми по эритроцитарным ABO-антигенам. D. Fizef и соавт. (1983) у всех 12 обследованных женщин с повторными абортами обнаружили общие с их супругами антигены HLA-A, -B и -D, а К. Aoki и Y. Yagami (1983) отметили в такой же ситуации разительно частую гомозиготность именно по антигенам HLA-DR (чаще общий антиген HLA-DR5). У животных разных видов именно выраженный генетический полиморфизм необходим для удачной репродук-

ции [Gill T., Repetti C., 1979]. Предполагается, что HLA-совместимость может опосредовать слабое распознавание имплантирующейся бластоцисты, а потому и плохую ее имплантацию в слизистую матки.

Мнение об определяющем значении гомозиготности по HLA при самопроизвольных абортах разделяется не всеми исследователями. E. Persitz и соавт. (1983) представили данные об обследовании HLA-A, -B и -DR у 60 супружеских пар, где женщины страдали привычным невынашиванием беременности, и у 30 фертильных супружеских пар (контроль). Было установлено, что при невынашивании беременности совместимость по двум HLA-A или HLA-B-антигенам встречалась в 2% случаев (в контроле 3%), HLA-DR-антигенам — в 5% (в контроле 7%). Полная несовместимость по HLA-A имела место у 65% инфертильных пар (в контроле 57%), по HLA-B — в 73% (в контроле 70%) и по HLA-DR — 65% (в контроле 57%). Таким образом, резких отличий в исследуемых группах отмечено не было.

Мнение об относительной антигенной совместимости супругов при самопроизвольных абортах тем не менее подтверждают те наблюдения, в которых было показано сравнительное подавление продукции у беременных анти-HLA-цитотоксических антител, гемагглютининов или антиядерных антител [Scott J., 1982; Johnson P. et al., 1983; Aoki K., Yagami Y., 1983]. Из 240 женщин с самопроизвольными абортами антитела к HLA-антигенам мужа обнаруживались лишь в 12% случаев [Mowbray J., Underwood J., 1985]. Предполагают, что относительная HLA-совместимость обуславливает при беременности отсутствие анти-HLA-антител, необходимых для иммунорегуляторных физиологических реакций [Oiding L. et al., 1982]. При самопроизвольных абортах лимфоциты мужей также развивают слабый пролиферативный ответ в СКЛ на клетки своих жен [Oksenberg J. et al., 1983].

По сравнению с нормально развивающейся беременностью у женщин с абортами отмечено снижение содержания фракций комплемента в сыворотке крови, особенно C3 и C4 [Saiton Ch. et al., 1983]. При хорошем прогнозе течения беременности содержание C3 и его активатора в крови повышалось, но при нарастающей угрозе прерывания беременности хорионические ворсинки не вырабатывали фактора альтернативной активации комплемента [Hatano H. et al., 1983]. При-

вычное невынашивание беременности сопровождается также слабой продукцией антител к цитомегаловирусу, но не вирусу герпеса или Эпштейна — Барра [Johnson P. et al., 1985].

Многочисленными авторами было показано отсутствие или резкое снижение блокирующего действия сыворотки крови при самопроизвольных абортах [Говалло В. И., 1975, 1979; Rocklin W. et al., 1976, 1978; Fizez D. et al., 1983]. Но и в этом случае существует альтернативный взгляд, например, E. Persitz и соавт. (1982) полагают, что самопроизвольные аборт, наоборот, ведут к появлению гуморального супрессорного фактора, ингибирующего ответ лимфоцитов в СКЛ и являющегося следствием, а не причиной повторяющихся аборт.

Рядом авторов был отмечен *in vitro* слабый пролиферативный ответ лимфоцитов матери на лимфоциты мужа, но не постороннего донора [Faulk W. et al., 1982; McIntyre J. et al., 1983]. Лимфоциты беременной с угрожающим аборт, будучи добавленными к лимфоцитам мужа, подавляли ответ последних в СКЛ к лимфоцитам третьего лица, т. е. действовали как супрессоры. Ни сывороточная, ни клеточная супрессия не были связаны с HLA-D-локусом [Beer A., 1983]. Самопроизвольные аборт сопровождались в то же время усилением иммунологической активности макрофагов [Umesaki N. et al., 1983]. Лейкоциты крови оказались также повышено чувствительными к опухолевому эндометриальному, цервикальному и овариальному антигенам и к вирусу LDH [Mejsnarova B. et al., 1979].

Исследования последнего времени, доказавшие наличие антигенов МНС I и II классов на клетках трофобласта, повысили интерес исследователей к анализу механизмов ответной реакции материнского организма на эти антигены. Очевидно, что распознавание гетерозиготного плода прямым образом связано с формированием общего и локального супрессорного иммунитета при беременности.

Важную роль при этом играют антигены трофобласта, в частности, по-видимому, те, которые были обозначены W. Faulk и соавт. (1982) и J. McIntyre и соавт. (1983) антигенами TA1 и TA2. Антигены этой серии определяют супрессию иммунного ответа матери на отцовские МНС-антигены плода. Если TA2 экспрессиру-

ваны слабо или к ним имеются антитела, то имеет место распознавание лимфоцитами матери антигенов TA1, следствием чего и является патологическая ситуация — самопроизвольные аборт и преэклампсия. Патология беременности может иметь место и при совместимости супругов по антигенам TA2 (TLX), а поскольку различия по этим антигенам необходимы для формирования функционально зрелой плаценты, гомозиготность может сопровождаться отторжением аллогенного плода и трофобласта.

Исследования на животных подтвердили важность антигенов трофобласта и супрессорных механизмов в вынашивании беременности. В нормальных условиях аборт у животных почти не бывает. На инбредных мышах была получена модель (самки линии CBA/J, скрещенные с самцами DBA/2J), когда при беременности наблюдался значительный процент гибели потомства. У таких беременных в лимфатических узлах, дренирующих матку, не обнаруживался супрессорный фактор и лимфоциты-супрессоры [Clarke D. et al., 1980]. Таким образом, если в ранних работах самопроизвольные аборт связывали с усиленным иммунным ответом матери на трансплантационные антигены отца [Jensen K., 1967; Ivaškova E. et al., 1967], то сейчас, напротив, накопилось много данных о снижении иммунологической реакции матери и вытекающей из этого недостаточности иммуносупрессорных механизмов. В частности, нами было отмечено снижение содержания лимфоцитов-супрессоров в крови женщин с привычными выкидышами по сравнению с физиологическим течением беременности [Говалло В. И. и др., 1978, 1982]. Сыворотка крови женщины подавляла реакцию клеточного иммунитета — в 81,3% случаев нормальной беременности и лишь в 6,2% — при угрожающем абрте [Говалло В. И., 1979; Алиханова И. Д., 1979]. Соотношение клеток ОКТ4/ОКТ8 при самопроизвольных абортах изменялось в пользу хелперов Т4 [Papaia F. et al., 1986].

W. Bardawill и соавт. (1962), изучавшие поведение кожных трансплантатов у беременных, отметили не только различие в сроках переживания кожи от мужа и неродственного донора, но и влияние подсадки кожного лоскута на исход беременности. Каждой беременной делали одновременно ауто трансплантацию кожи, пересадку кожи от мужа и 1—3 неродственных доноров,

а также проводили внутрикожное введение аутологичных и аллогенных лимфоцитов. Трансплантаты кожи от мужа (2 см в диаметре) у большинства женщин (12 из 21) отторгались быстрее, чем от иных доноров (соответственно на  $10,2 \pm 0,7$  и  $13,7 \pm 1,2$  сутки), в 2 случаях они жили дольше контрольных и в 7 случаях — отличий не наблюдали. Ускоренное отторжение кожных трансплантатов формально должно было свидетельствовать о сенсibilизации беременных отцовскими антигенами, однако оно могло явиться и следствием внутрикожной инъекции лейкоцитов мужа, которые в количестве 1—3 млн. этим же женщинам вводили до трансплантации кожи. У 11 женщин с привычными выкидышами после пересадки кожи беременность закончилась срочными родами (специальная гормональная терапия не проводилась).

В 1969 г. нами была выполнена трансплантация на латеральную поверхность плеча кожи (3×3 см) от мужа беременной Д., у которой до этого 15 беременностей завершились самопроизвольными абортами. Беременность закончилась срочными родами [Говалло В. И. и др., 1971]. Затем пересадка кожи была нами сделана еще 13 женщинам с привычным невынашиванием беременности. Кожные аллотрансплантаты у мужей (пересадка производилась реципрокно) сохраняли жизнеспособность в течение 10—14 сут, а трансплантаты мужей у беременных выживали дольше (25—24 сут). Пересадка кожи стимулировала появление в сыворотке крови беременных отсутствовавшего блокирующего фактора, увеличивала пролиферативный ответ лимфоцитов в СКЛ и реакции бласттрансформации с ФГА [Говалло В. И. и др., 1973; Говалло В. И., 1977, 1979]. Из 12 женщин, исход беременности которых был нам известен, 8 родили в срок живых доношенных детей, у одной женщины ребенок с умеренной гемолитической анемией был извлечен на 9-м месяце с помощью кесарева сечения и у 3 женщин отмечался поздний выкидыш. Стало очевидным, что трансплантат мужа у беременных женщин играет роль дополнительного антигенного стимула (обучающего фактора) [Говалло В. И., 1979], который усиливает распознавание матерью отцовских антигенов плода и вторично способствует протективным механизмам беременности.

Метод трансплантации кожи от мужа стал достаточно широко применяться для лечения у женщин са-

мопроизвольных аборт, причем пересадки кожи производили повторно и даже третий раз [Надеина О. В. и др., 1973; Грищенко В. И. и др., 1977]. Было отмечено, что сравнительно длительное приживление первичного трансплантата кожи мужа (6—8 нед) имеет благоприятное прогностическое значение для исхода беременности по сравнению с укороченным сроком его приживления [Сидельникова В. М., Федер З. М., 1977].

Нами [В. И. Говалло, 1981] был предложен метод лечения у женщин самопроизвольных аборт с помощью предварительной внутрикожной иммунизации взвесью лимфоцитов крови мужа. Этот метод имеет преимущество перед пересадкой кожного лоскута из-за простоты выполнения, меньшей травматичности и возможности количественного учета вводимого антигена. Лимфоциты получали из венозной крови мужа сначала отстаиванием в гепарине или в растворе EDTA, а затем центрифугированием осадка 20 мин при 1500 об/мин. Клеточный осадок, в котором было 90% живых лимфоцитов, ресуспендировали в изотоническом растворе хлорида натрия или 10% растворе глюкозы и вводили в день приготовления в кожу (несколько точек межлопаточной области). Было отмечено, что после такой однократной иммунизации у обследованных женщин повышались значения реакции подавления прилипания лейкоцитов (РППЛ) с эмбриональным антигеном, сыворотка крови начинала оказывать блокирующее действие на клеточную реакцию, в трехкомпонентной СКЛ усиливалась активность лимфоцитов-супрессоров. После введения лимфоцитов мужа (от 30 до 120 млн. клеток) у большинства из наблюдавшихся 14 женщин с привычным ранее невынашиванием беременности и угрозой аборт в настоящей беременности отмечалось улучшение общего состояния: у них почти прекращались явления токсикоза, исчезали боли, в крови возрастало содержание прогестерона и особенно заметно — эстрадиола, содержание ХТГ в моче длительно сохранялось на высоком уровне (до 80 000 МЕ/мл).

Из 14 женщин у 8 беременность завершилась срочными родами здоровыми детьми, у 2 беременных с поздно обнаруженными признаками Rh-конфликта дети родились с гемолитической болезнью, в связи с чем им были сделаны повторные обменные переливания крови; у одной женщины произошли преждевременные (29 нед) роды (масса тела ребенка 1690 г), у одной



женщины родился анэнцефал (порок раннего развития, не связанный с иммунизацией) и в двух случаях имел место самопроизвольный аборт в поздние сроки беременности [Говалло В. И., Сидельникова В. М., 1982, 1983].

В последующих исследованиях (проведены совместно с Е. Я. Быковой на базе Родильного дома № 1 г. Риги) проводился сравнительный анализ результатов терапии самопроизвольных абортов пересадкой кожи и внутрикожным введением лимфоцитов мужа [Говалло В. И. и др., 1985]. Обследование иммунореактивности женщин проводили в РППЛ с антигенами, полученными из тканей эмбрионов после артифициальных абортов [Говалло В. И. и др., 1983]. Иммунологическое обследование и иммунотерапию проводили в I триместре беременности: 27 женщин с нормальным течением беременности составляли контрольную группу и 120 беременных женщин были с привычным ее невынашиванием (1—7 выкидышей в анамнезе). Средний возраст женщин этой группы составил 28—29 лет.

Подавляющее большинство женщин (табл. 12) с нормально развивающейся беременностью были sensibilizированы к эмбриональным антигенам и содержали в сыворотке блокирующие факторы, женщины с привычным невынашиванием реже оказывались sensibilizированными и в их крови практически не выявлялись блокирующие субстанции. Иммунизация способствовала появлению в крови у женщин перечисленных

Таблица 12. Реакция подавления прилипания лейкоцитов у женщин до и после иммунотерапии привычного невынашивания беременности

Группа обследованных	Число наблюдений	РППЛ, %	
		положительная	блокирующее действие сыворотки
Физиологическое течение беременности	27	79±10	86±7
Угроза самопроизвольного аборта (до иммунотерапии)	120	28±3	6±6
Беременность после иммунотерапии			
а) пересадки кожи	46	41±7	57±7
б) введения лимфоцитов	74	90±3	52±6

показателей. Введение лимфоцитов (60—140 млн.) женщинам с привычным невынашиванием беременности оказалось наиболее эффективным.

После пересадки кожного лоскута у 28 из 46 женщин беременность завершилась срочными родами (61%), у 10 — преждевременными родами живым плодом (22%) и у 8 женщин (17%) произошел самопроизвольный аборт на 20—23-й неделе (привычный для них срок самопроизвольного аборта при предыдущих беременностях 6—17 нед.).

После внутрикожного введения взвеси лимфоцитов у 57 из 74 женщины беременность закончилась срочными родами (77%), у 10 — преждевременными родами живым плодом (14%) и у 7 женщин (9%) беременность прервалась в различные сроки (у 4 причиной была острая инфекция, у одной — травма, у 2 причина не выяснена) (табл. 13).

Таблица 13. Исходы беременности после иммунизации женщин с угрозой самопроизвольного аборта, %

Иммунизация	Число женщин	Число родов, завершивших беременность после проведения курсов иммунизации			
		1 курса	2 курса	3 курса	всего
Пересадка кожи	46	21(46%)	13(28%)	4(9%)	38(83%)
Введение лимфоцитов	74	35(47%)	28(38%)	4(5%)	67(90%)
Всего	120	56(47%)	41(34%)	8(7%)	105(88%)

Из 67 родивших женщин лимфоциты получали один раз 35 (47%) и 32 женщинам (43%) клетки мужа вводили повторно. При сопоставлении клинического течения беременности и количества вводимых лимфоцитов выяснилось, что после введения 100—120 млн. лимфоцитов клиника угрожающего аборта не возобновлялась. При повторных инъекциях женщинам вводили 70—80 млн. лимфоцитов. При первичной же дозе 40—60 млн. лимфоцитов угроза аборта могла повториться.

Сравнительный анализ показывает, что оба способа являются достаточно эффективными методами специфического предупреждения самопроизвольного аборта. Введение лимфоцитов не только не уступает, но в отношении на иммунореактивность беременных превосходит пересадку кожного лоскута (см. табл. 13). Хотел

лось бы отметить, что эти результаты получены не на какой-либо специально отобранной группе, иммунизации подвергали всех женщин с привычным невынашиванием беременности неясной этиологии, у кого ранее проведенное комплексное лечение оказалось безрезультатным. Это дает основания думать о расширении показаний к применению иммунизации лимфоцитами мужа в случаях привычного невынашивания беременности.

Одновременно с нашим методом С. Taylor и W. Faulk (1981) предложили метод лечения самопроизвольных абортов внутривенным введением лейкоцитов крови третьего партнера. 11 женщин, которых лечили таким методом, родили здоровых детей [McIntyre J. et al., 1983]. Эффект предложенного ими способа терапии невынашивания беременности авторы связывают со стимулирующим действием на супрессорную систему антигенов группы TLX.

P. Johnson и соавт. (1981) показали, что антигены трофобласта TLX содержат 34К-протеин, но не несут  $\beta_2$ -микроглобулина. Цепь, кодирующая синтез указанного протеина, локализуется вблизи генов локуса HLA-B. У крыс моноклональные антитела к 34К-протеину взаимодействовали с антигенами трофобласта. Это не прямое доказательство общности антигенов трофобласта с антигенами МНС I класса позволяет думать, что самопроизвольные аборты происходят на фоне модуляции или недостаточности в плаценте (эмбрионе) антигенов МНС I класса или TLX антигенов. А именно эти антигены ответственны за создание на ранних этапах беременности локальной супрессии материнского иммунитета.

Ранее говорилось (см. 2.4), что у сперматозоидов и Т-лимфоцитов имеются общие антигены [Mathur S. et al., 1980]. Можно думать, что дополнительная иммунизация беременной МНС-антигенами отца, в полной мере присущими лимфоцитам крови, вызывает иммунный ответ, который способствует, с одной стороны, появлению HLA-антител, связываемых в плаценте, а с другой — стимулирует развитие как плаценты, так и индуцируемых ею супрессорных факторов.

G. Chaouat и соавт. (1983, 1985) в эксперименте иммунизировали беременных самок мышей линии СВА/J (с высокой смертностью потомства) клетками селезенки от самцов DBA/2J, с которыми самки были до этого

скрещены, и от самцов других линий ( $10^7$  клеток на мышь за 7 сут до скрещивания). При этом было показано, что наиболее эффективно снижали процент гибели потомства (с 23% до 5%) клетки от самцов не DBA/2J, а BALB/CJ (аллогенный неспецифический эффект); параллельно тому увеличивалось и содержание в крови беременных самок супрессорного фактора (в СКЛ лимфоцитов самок DBA/2J и самцов BALB/CJ, а в селезенке и плаценте — супрессорных лимфоцитов) [Wegmann T., 1984]. Здесь не лишне вспомнить и более ранние экспериментальные работы, в которых было показано, что иммунизация самок антигенами самца за несколько дней до спаривания или вскоре после того вызывала увеличение массы плацент сингенных и аллогенных плодов [James D., 1965; Beer A. et al., 1972, 1975].

Существуют указания на то, что самопроизвольные аборт могут иметь разный иммунологический генез. В одних случаях отмечается гомозиготность HLA и отсутствие цитотоксических антител у беременных, в других — общие HLA-антигены у мужа и жены отсутствуют, но при беременности появляются выраженные цитотоксические реакции на отцовские антигены. Этим можно объяснить несовпадение данных разных авторов. Для лечения в первом случае используют лимфоциты мужа, во втором — антикоагулянты типа гепарина [McIntyre J. et al., 1984].

\* \* \*

В селезенке и регионарных по отношению к матке лимфатических узлах беременных мышей происходит накопление лимфоцитов-супрессоров, более выраженное при аллогенной беременности, но имеющее место при сингенной и даже псевдобеременности. Обнаружены две популяции клеток-супрессоров: неспецифические, действующие в СКЛ, гормонально-зависимые, и специфические, действующие против МНС-антигенов плода отцовского происхождения, в том числе и H-Y-антигена. Супрессорные лимфоциты и ткани плаценты выделяют растворимый супрессорный фактор. Увеличение концентрации лимфоцитов-супрессоров отмечено и в крови беременных женщин. Их индукция, возможно, связана с медиатором супрессорных лимфоцитов плода, проходящим через плацентарный барьер, и антигенами самой плаценты.

Характерными для физиологически развивающейся беременности являются сывороточные факторы, блокирующие *in vitro* реакции клеточного иммунитета. Эти факторы были элюированы с плаценты и охарактеризованы как IgG2, близко связанные с МНС-антигенами плода отцовского происхождения. Абсорбция сыворотки лимфоцитами мужа полностью истощает блокирующие субстанции, которые имеют комплексную природу и представлены в том числе антиидиотипическими антителами.

Важным механизмом, предотвращающим отторжение плода, является местная иммуносупрессия: децидуальная реакция, фактор ранней беременности. Из парааортальных лимфатических узлов и селезенки также происходит миграция лимфоцитов-супрессоров в матку. Неспецифические супрессорные клетки появляются раньше специфических. Иммуносупрессию реализуют клетки плаценты и их растворимые медиаторы.

При первичном невынашивании беременности часто отмечается гомозиготность супругов по некоторым МНС-антигенам, ослабленный ответ лимфоцитов беременной на аллоантигены мужа и дефицит в ее крови блокирующих факторов и антител к МНС-антигенам отца. Действенной мерой лечения самопроизвольных abortов является пересадка кожного лоскута от мужа или иммунизация беременной лимфоцитами его крови. Иммунный ответ к МНС-антигенам отца способствует распознаванию аллоантигенов трофобласта и его стимуляции. При этом, по-видимому, опосредованно через плаценту стимулируется именно супрессорное звено иммунитета беременной.

## ГЛАВА 8

### ИММУНОЛОГИЧЕСКОЕ РАСПОЗНАВАНИЕ МАТЕРЬЮ АНТИГЕНОВ ПЛОДА

#### 8.1. Экспериментальный анализ антигенного полиморфизма

Скрещивание животных в естественных условиях обычно ведет к преимущественному объединению тех гамет, между которыми хорошо выражены внутривидовые генетические различия. Биологам хорошо известно свойство гибридных эмбрионов превосходить по жизнестой-

кости, плодовитости и другим признакам лучшую из родительских форм. Это свойство получило название гетерезиса или гибридной силы, а организмы, в генотипе которых гомологичные хромосомы несут разные аллели того или другого гена, называют гетерозиготами в отличие от гомозигот, у которых представительство каких-то генов повторяется. Для проявлений гибридной силы потомства достаточно гетерозиготности по генам локуса МНС.

Для решения теоретических задач исследователями предпринимались опыты по искусственному близкородственному скрещиванию (инбридинг) разных живогных с целью получения гомозиготных по МНС-антигенам особей. Это было продиктовано необходимостью получения изогенных линий, внутри которых не существует трансплантационных ограничений. При этом было отмечено, что наследование МНС-антигенов у потомства подчинено менделевскому закону расщепления. Так, при скрещивании мышей с аллелями Н-2-локуса (Н-2<sup>a</sup>/Н-2<sup>a</sup> с одной стороны и Н-2<sup>k</sup>/Н-2<sup>k</sup> — с другой) в потомстве происходило расщепление на фенотипы: Н-2<sup>a</sup>/Н-2<sup>a</sup>; Н-2<sup>a</sup>/Н-2<sup>k</sup> и Н-2<sup>k</sup>/Н-2<sup>k</sup> в отношении 1:2:1. Было отмечено, что снижение числа гомозигот по сравнению с гетерозиготами происходит на уровне доимплантационной бластоцисты. Следовательно, выживаемость гетерозигот выше любой из гомозигот, и эта ситуация должна явиться результатом селективного оплодотворения, когда сперматозоид, несущий Н-2<sup>a</sup>, преимущественно соединяется с яйцеклеткой, содержащей Н-2<sup>k</sup>, и наоборот. Такое селективное предпочтение мужских гамет яйцеклеткой может быть связано и с антигенами локуса T/t. Увеличение степени инбридинга приводило к снижению фертильности, уменьшению массы плаценты и эмбрионов, повышению вероятности гибели эмбрионов [McCarty J., 1968].

Эти первые выводы потом были многократно подтверждены. При обратном скрещивании крыс 12 разных изогенных линий, отличающихся по сильному локусу МНС-Ag-B, было показано значительное преобладание в потомстве гетерозигот по сравнению с гомозиготами. Более того, избыток Ag-B-гетерозигот был наиболее ярко выражен среди самцов по сравнению с самками, что отражало большую уязвимость самцов-гомозигот по сравнению с самками-гомозиготами [Palm J., 1970]. Эмбриональная и ранняя постнатальная смерт-

ность у млекопитающих, особенно высокая при инбридинге, является механизмом естественного отбора, способствующим повышению жизнестойкости вида.

Снижение ожидаемого количества гомозиготных особей у лабораторных животных может происходить как в пренатальном, так и постнатальном периоде, что зависит и от генетических особенностей животных, взятых для скрещивания. С возрастанием различий между родителями по антигенам МНС увеличивается количество плодов у самок и жизнеспособность потомства. В животноводстве это имеет большое практическое значение. Телята, полученные от родителей с высокими показателями реакции бласттрансформации в СКЛ, превосходили своих сверстников по живой массе новорожденных и среднесуточному приросту в массе на 6—15 г [Романов Л. М., 1983].

В некоторых сингенных комбинациях постнатальное снижение численности потомства может происходить из-за синдрома истощения, имеющего все признаки РТПХ, а пренатальная гибель плодов — из-за слабости защитных внезародышевых образований [Palm J., 1974]. Очевидно, что элиминация гомозиготных эмбрионов в аллогенной комбинации вызвана недостаточностью иммунного распознавания и ответа матери на МНС-антигены, а в сингенной комбинации — на дифференцировочные, стадиоспецифические и перекрестные трофобластлимфоцитарные антигены. Селективное преимущество гетерозигот у лабораторных животных является лишь экспериментальной моделью успешного проявления этого феномена в природных условиях, где антигенный полиморфизм почти неограничен.

В. Clarke и D. Kirby (1966) выдвинули предположение о том, что определенные иммунологические взаимодействия между матерью и несовместимым с нею плодом могут, вопреки ожиданиям, способствовать выживанию плода и помогать в поддержании полиморфизма антигенов МНС. Этот тезис основывался на том экспериментальном наблюдении, что у мышей и других животных размер и масса плода и развитие плаценты прямым образом зависят от аллоантигенных различий. Чем несовместимее плод, тем он больше и лучше функционально развит и, следовательно, имеет лучшие шансы выжить. D. Kirby (1970) высказал соображение о том, что несовместимые бластоцисты имплантируются в большем проценте случаев, чем сингенные.

Полезными для понимания значения антигенных различий при беременности оказались эксперименты с Н-У-мужским антигеном. Чувствительными к этому антигену являются, в частности, самки мышей линии С57BL, у которых сингенный трансплантат кожи от самцов отторгается в среднем через 27 сут после пересадки, в то время как реципрокный трансплантат от самок стойко приживается. Иммунизация самок С57BL сингенным кожным трансплантатом (Н-У-антигеном) не влияла на соотношение полов в потомстве, но если иммунизацию проводили у предварительно спленэктомизированных самок, то рождалось больше самцов [Larpe M., Schalk J., 1971]. Чем интенсивнее проводилась сенсibilизация, тем больше самцов было в потомстве. Поскольку известно, что в доимплантационном периоде у мышей соотношение полов бывает примерно одинаковым, то следовало бы допустить влияние иммунизации на процессы, предшествующие или происходящие во время оплодотворения. Авторы считают, что присутствие селезенки обеспечило выделение гуморального фактора (блокирующих антител?), который регулировал бы распределение полов; после спленэктомии иммунизация способствовала рождению несовместимых потомков. *In vitro* подобный же эффект был описан A. Beer и R. Billingham (1976) при локальной иммунизации матки аллогенными и сингенными клетками непосредственно перед беременностью.

Был проведен статистический анализ, чтобы показать влияние по крайней мере двух групп факторов на распределение у людей полов в потомстве [Renkonen K. et al., 1962]. При некоторых генетически не выверенных сочетаниях родителей дети рождаются преимущественно мальчиками, если все предыдущие дети в этой же семье были мальчиками, и, наоборот, рождаются девочки, если все предыдущие беременности кончались рождением девочек. При исключении всех семей, в которых рождались дети одного пола, соотношение в потомстве мальчиков и девочек будет тем ниже, чем больше до этого рождалось мальчиков. Отмечено также, что соотношение полов с преимущественным рождением мальчиков при кровных браках выше, чем в средней национальной выборке [Beer A., Billingham R., 1976].

Объяснение этих наблюдений встречает ряд трудностей. Так неясно, какое значение для соотношения по-



лов имеет в нормальных условиях иммунизация Н-У-антигеном. Даже слабый иммунитет к У-хромосоме может нарушить раннюю маскулинизацию эмбриона. Возможно, что этот антиген влияет на организм беременной не сам по себе, а в сочетании с МНС- или АВ0-антигенами. D. Kirby (1970) полагал, что Н-У-антиген влияет заметнее на фоне АВ0-совместимости (большая вероятность рождения мальчика), чем при АВ0-различиях супругов. Это находит, в частности, свое выражение в том, что женщина с группой крови АВ чаще оказывается матерью мальчика, чем женщина с группой крови А. Такая же тенденция обнаруживается при совместимости матери и ребенка по 0 или В группе крови. Напротив, по необъясненным еще причинам у женщин с группой крови А соотношение полов в потомстве сдвинуто в сторону девочек.

При Rh-несовместимости в условиях первой беременности плоды мужского пола почти исключительно ответственны за развитие Rh(D)-сенсibilизации [Scott J., Beer A., 1973]. В случаях отсутствия абортов и гемотрансфузий частота сенсibilизации при первой беременности чрезвычайно мала (0,4—2%). Она возникает в результате поступления эритроцитов от плода в ранней стадии беременности или может явиться итогом сенсibilизации женщины во время ее же собственной внутриутробной жизни вследствие контакта с Rh<sup>+</sup>-клетками ее матери. Последующая встреча через много лет с тем же самым антигеном приводит к выработке антител по вторичному типу. Возможно, что Н-У-антиген делает эритроциты более иммуногенными, чем таковые женского плода, или же Rh(D)-антиген возникает в онтогенезе раньше у мужских плодов, чем женских. Нельзя также исключить и сравнительно большей проницаемости плаценты для эритроцитов плода при беременности мальчиком.

Полиморфизм тканевых антигенов чрезвычайно велик, особенно у человека. Экспериментальные модели позволяют наблюдать лишь один тип ответа (в случае моноразличий), в то время как такие же события в естественных условиях протекают неизмеримо сложнее. Очевидно, что полиморфизм по МНС-антигенам играет полезную эволюционную роль, предотвращая способы паразитирования в живой природе и содействуя репродукции (поэтому он постоянно увеличивался), в то время как различия по некоторым эритроцитарным ан-

тигенам в силу особенностей формирующихся антител могут оказаться для плода губительными (Rh-сенситизация).

## 8.2. Трансплацентарный переход клеток

Хотя между кровообращением матери и плода никогда не возникают сосудистые анастомозы, плацента все же не является абсолютным анатомическим барьером. У животных с гемохориальным типом плаценты при физиологической беременности всегда имеет место трансплацентарный переход некоторого количества клеток крови плода к матери и, возможно, клеток матери к плоду. Физиологический смысл этого клеточного обмена окончательно не выяснен.

Еще в конце 30-х годов было выполнено много работ, свидетельствующих, что эритроциты плода могут через плаценту попадать в кровь матери начиная с 8-й недели беременности. Трансплацентарный переход эритроцитов может явиться причиной развития эритроblastоза плода или гемолитической болезни [Волкова Л. С., 1973; Вербицкий М. Ш., 1979].

Прямые доказательства перехода через плаценту клеток крови от плода к матери были получены В. Shown в 1954 г. с помощью дифференциальной гемоагглютинации Rh-положительных фетальных эритроцитов, а позже другими авторами при изучении содержания в крови матери фетального гемоглобина F [Kleihauer E. et al., 1957; Clayton E. et al., 1964]. С увеличением срока беременности возрастает число женщин, содержащих в крови эритроциты плода. На сроке 16 нед эритроциты обнаруживались у 5% женщин, от 23 до 28 нед — у 10%, 32 нед — у 17%, 36 нед — у 33%, перед родами — у 47%, а в родах — у 100% женщин. Это может быть связано либо со снижением целостности и эффективности анатомического барьера по мере созревания плаценты, либо с обычной эволюцией мелкоочаговых геморрагий в области ворсин трофобласта и внутреннем пространстве плаценты. Обмен эритроцитами матери и плода при беременности представляет собой естественный процесс [Holliday J., Barnes R., 1973].

Роды и акушерские манипуляции повышают возможности проникновения эритроцитов плода в кровоток матери до 50—80%, не последнюю роль в этом играет и неонатальная плетора.

Нельзя себе представить, что трансплацентарный переход эритроцитов не сопровождался бы и пассажем ядродержащих клеток — лейкоцитов и тромбоцитов. В 1969 г. M. Tuffray и соавт. первыми экспериментально доказали наличие обмена плода с матерью лейкоцитами. Они переносили оплодотворенную яйцеклетку мышей линии CFW в матку беременных самок мышей линии CBA, имеющих характерную цитогенетическую метку  $C_6$ . У родившихся гибридов в лимфомиелоидных тканях в 3—30% случаев присутствовал характерный для лимфоцитов матери маркер  $C_6C_6$ , что указывало на высокую степень химеризма лимфоидных элементов. G. Gollins и соавт. (1981) показали, что 30% клеток печени плода имеют материнское происхождение.

Следует отметить, что в дальнейшем эти результаты не были подтверждены, поэтому имеются сомнения, что переход материнских лимфоцитов к плоду является физиологической закономерностью. Сингенные клетки матерей, введенные в кровотоки плодов — мышам на 18-й день беременности, ни в одном случае не удалось найти в печени или кровотоке новорожденных [Hunziker R. et al., 1983]. Рядом исследователей было показано также, что введение новорожденным определенной дозы материнских лимфоцитов вызывает у них патологическое состояние, напоминающее РТПХ [Seemayer T., 1979]. Правда, существуют анатомические регионы, толерантные к материнским лимфоцитам, где последние достаточно хорошо адаптируются (кишечник новорожденных, куда пассивно поступают лимфоциты матери при грудном вскармливании).

С помощью первичного культивирования лимфоцитов беременных с ФГА и последующего определения среди них клеток с мужским кариотипом присутствие фетальных лейкоцитов в кровотоке матери было показано на 8-й неделе беременности, а затем — перед родами [Whang-Peng J. et al., 1973]. Первый пик появления клеток плода в крови матери авторы связывали со становлением лимфоидной системы эмбриона и активной стимуляцией развития плаценты, второй пик — с увеличением проницаемости плаценты перед родами (у некоторых женщин лейкоциты плода обнаруживали в крови и через неделю после родов). Трансплацентарный переход лимфоцитов и тромбоцитов плода к матери был описан и другими авторами [Кузнечикова В. В., 1972; Barnes R., Tuffrey M., 1971]. Этот факт еще пол-

ностью не объяснен, но очевидно его значение для сенсибилизации матери к аллоантигенам плода.

У людей, как и у некоторых животных с гемохориальной плацентой, в кровотоки матери часто проникают отдельные клетки или более крупные фрагменты трофобласта. Эти клеточные агрегаты подвержены расщеплению *in vitro* протеолитическими ферментами, а потому, можно думать, они лизируются в материнской крови. Небольшое количество трофобластических клеток может проникать даже в легочные капилляры, никогда не вызывая ни воспалительных, ни каких-либо других ответных реакций. Однако наличие на клетках трофобласта отцовских антигенов МНС I класса может придать им иммунизирующие свойства, хотя в такой же мере эти клетки могут способствовать развитию иммуносупрессии.

### **8.3. Эритроцитарная сенсибилизация при беременности**

Наибольший практический интерес представляет сенсибилизация беременных женщин эритроцитарными антигенами системы резус (Rh), антитела к которым являются JgG, а потому могут проникать к плоду через плаценту. Эритроцитарный антиген, названный резус-фактором, первоначально был обнаружен у бенгальских макаков резусов. Он присутствует в крови 85% европейцев, 93% — негроидов и практически у всех монголоидов. Большинство людей, таким образом, имеют этот антиген, они являются Rh<sup>+</sup> и не могут быть к нему сенсибилизированы при гемотрансфузиях и беременности. У женщин, не имеющих этого антигена, может развиться сенсибилизация при беременности Rh<sup>+</sup>-плодом.

Хотя Rh<sup>+</sup>-антиген представлен группой антигенов, детерминированных псевдоаллельными генами (C, D, E, c, d, e), приблизительно 99% всех случаев гомолитической болезни новорожденных, вызванных Rh-несовместимостью, обусловлены антигеном D. Лица, характеризующиеся как Rh<sup>+</sup> или Rh<sup>-</sup>, соответственно несут или, наоборот, лишены Rh(D)-антигена. В отличие от ABO-антигенов, присутствующих на многих клетках, распределение Rh-специфичностей целиком ограничено мембраной эритроцитов.

При попадании Rh<sup>+</sup>-эритроцитов плода в кровотоки матери может возникнуть несколько ситуаций. Если не было предварительного контакта с Rh(D)-антигеном,

она может оказаться сенсibilизированной, в сыворотке ее крови появятся анти-Rh-(D)-антитела (IgG). Повторная встреча с Rh(D)-антигеном усиливает синтез антител. Усиленная продукция антител или «анамнестическая реакция» может иметь место и без видимого раннего подъема антител. В таком случае минимальные дозы Rh(D)-антигена вызывают поначалу незначительную дифференцировку антителопродуцирующих плазматических клеток, а повторный стимул приводит к ускоренному производству специфических IgG.

Для сенсibilизации Rh<sup>-</sup>-беременной достаточно 0,1—0,5 мл крови Rh<sup>+</sup>-плода. Около 10% всех Rh<sup>-</sup>-женщин так и не становятся сенсibilизированными к Rh(D)-антигену при повторных беременностях Rh<sup>+</sup>-плодом или гемотрансфузиях. Это может быть связано с тем, что незначительные количества Rh(D)-антигена могут не сенсibilизировать мать, а вызвать у нее толерантность [Beer A., Billingham R., 1976]. При первой беременности Rh<sup>-</sup>-женщины Rh<sup>+</sup>-плодом риск развития сенсibilизации и гемолитической болезни плода мал, но он возрастает с каждой последующей беременностью. Патология плода прямо связана с концентрацией циркулирующих у матери анти-Rh(D)-антител. Эти антитела проникают через плаценту, взаимодействуют с Rh<sup>+</sup>-фетальными эритроцитами и разрушают их. Дериваты эритроцитов скапливаются в селезенке и печени плода. Вслед за этим возникает его анемия, сердечная недостаточность, компенсаторный эритропоэз, гипербилирубинемия. Билирубин может откладываться в головном мозгу, что приводит к тяжелым последствиям.

Самые ранние проявления Rh(D)-сенсibilизации при первой беременности редко проявляются раньше 24 нед. Присутствие в геноме Rh(C)-антигена снижает иммуногенность Rh(D) антигена. Риск развития Rh-сенсibilизации при АВ0-совместимости матери и плода в 5 раз выше, чем при их АВ0-несовместимости. Если Rh<sup>-</sup>-мать имеет 0 группу крови, а Rh<sup>+</sup>-плод — группу А крови, то в кровотоке матери фетальные эритроциты будут агглютинироваться естественными антителами и в дальнейшем — утилизироваться печенью. В такой ситуации Rh<sup>+</sup>-фетальные эритроциты не вызывают сенсibilизации. У первобеременных, совместимых с плодом по АВ0-антигенам, анти-Rh(D)-антитела в постнатальном периоде возникают в 8 раз чаще, чем у АВ0-несов-

местимых [Woodruff J., Donohoe W., 1968]. Выяснение этой естественной защиты против угрожающей гемолитической болезни новорожденных стимулировало интенсивные исследования, которые привели к применению Rh-иммуноглобулина для предотвращения первичной Rh-иммунизации.

Для предупреждения и лечения гемолитической болезни новорожденных были разработаны мероприятия.

1. Преждевременные роды или искусственное извлечение плода в случаях, если анализ амниотической жидкости указывает на значительные повреждения плода, при которых даже последующие обменные переливания крови могут оказаться неэффективными.

2. Обменное переливание крови в первые часы жизни (впервые применено в 1946 г.). Главная цель — удаление эритроцитов, разрушение которых повышает уровень сывороточного билирубина. Уровень последнего до 4—5 мг/10 мл считается показанием к обемному переливанию, в ходе которого эритроциты плода заменяются на свежие Rh<sup>-</sup>-эритроциты 0-группы крови.

3. Внутриматочные трансфузии совместимой крови в тех случаях, когда анализ амниотической жидкости показывает, что плод находится в угрожающем состоянии, но родоразрешение преждевременно. В таких случаях рекомендуют использовать эритроцитарную массу, а не цельную кровь. Эритроциты поступают в перитонеальную полость плода и всасываются затем в кровоток. Нескольких таких процедур оказывается достаточно, чтобы впоследствии произвести и обменное переливание крови.

В последние годы широкое распространение получил метод профилактики Rh-сенсibilизации анти-D-иммуноглобулином. Профилактика основана на давних наблюдениях Th. Smith (1909), который показал, что дифтерийный токсин может утратить антигенность, если его ввести животным одновременно с большим количеством антител. В 1961 г. R. Finn и соавт., изучавшие протективную роль АВ0-несовместимости при Rh-сенсibilизации, предложил создать защиту против Rh-конфликта путем введения анти-D-антител. В экспериментах на добровольцах мужчинах было показано, что избыток антител подавляет последующую сенсibilизацию к Rh(D)-антигену [Pollack W. et al., 1969]. Первые же наблюдения по введению больших количеств анти-D-иммуноглобулина вскоре после родов дали обнадежи-

вающие результаты. Пассивное введение антител предупреждает развитие сенсибилизации, которая при повторных беременностях является более опасной.

Анти-D-иммуноглобулин рекомендуется вводить всем Rh<sup>-</sup>-женщинам сразу после аборта или рождения Rh<sup>+</sup>-ребенка. Стандартная доза этого Ig составляет 250—300 мкг, она способна нейтрализовать 30 мл крови плода, проникшей в циркуляцию матери при родах. Если анти-D-Ig не применялся с профилактической целью, его нужно вводить Rh<sup>-</sup>-матерям во время следующей беременности. Некоторые авторы рекомендуют вводить анти-D-Ig всем Rh<sup>-</sup>-женщинам на 28-й неделе беременности и повторно после родов [Kochepour N., Veeson J., 1982]. Принятая доза Ig не вызывает побочных явлений. Без использования этого метода профилактики при Rh-гемолитической болезни смертность новорожденных составляла 5—10%, применение анти-D-Ig эффективно предупреждает эту патологию [Персианинов Л. С. и др., 1978; Головистиков И. Н., 1979]. Срок полувыведения анти-D-Ig из кровотока матерей, родивших ребенка, составляет 25—30 сут, этот показатель может быть использован для предсказания Rh-фенотипа ребенка при введении анти-D-Ig во время беременности [Hamazaki Y. et al., 1983].

Rh<sup>+</sup>-детям, родившимся от Rh<sup>-</sup>-матерей, также в первые 72 ч жизни с целью профилактики вводят анти-D-Ig. Антенатальная профилактика достоверно снижает частоту Rh-иммунизации, но все же не дает полной гарантии благополучного исхода, так как у 0,2% женщин уже имеются антитела к Rh(D)-антигену, поэтому целесообразно проведение вполне безопасного постнатального введения Ig.

Механизм действия избытка антител, по-видимому, включает несколько возможностей: а) блокирование или маскировку антигена, после чего он становится неиммуногенным; б) связывание антигенных детерминант на поверхности макрофагов, что предотвращает их контакт с антигеночувствительной клеткой; в) непосредственное угнетение активности специфических антигеночувствительных клеток по типу обратной связи [Beer A., Billingham R., 1976].

Кроме Rh, существует около 50 эритроцитарных аллоантигенов, детерминированных многочисленными аллелями и разными генетическими локусами. Многие из них потенциально могут вызвать сенсибилизацию бере-

менной женщины. Несовместимость по многим из этих антигенов — неизменный атрибут беременности, но, к счастью, они не имеют важного клинического значения, так как антитела к групповым эритроцитарным антигенам (IgM) не проходят через плаценту и не угрожают плоду.

Хотя несовместимость по АВ0-групповым антигенам имеет много большую частоту, чем Rh-несовместимость, гемолитическая болезнь новорожденных в этом случае отмечается значительно реже. Манифестация признаков заболевания бывает у детей групп крови — А и В, рожденных матерями — 0 группы крови. В любом случае симптомы гемолитической болезни незначительны, по сравнению с таковыми при Rh-несовместимости.

Биологические субстанции, напоминающие групповые А- и В-антигены, широко распространены в живой природе (пищевые вещества, растительные продукты и т. д.). В детстве почти у всех людей возникают антитела, так называемые естественные гемагглютинины, являющиеся следствием скрытой сенсibilизации. Еще до беременности женщины с группой крови А имеют антитела против антигена В, и наоборот. При 0 группе крови возникают антитела против обоих этих антигенов. Эти антитела относятся к классу IgM и являются макроглобулинами (константа седиментации 19S), они не проходят при беременности через плаценту. У женщин 0 группы крови антитела против А- и В-групповых антигенов могут быть IgM и IgG, а последние способны преодолевать плацентарный барьер.

В отличие от Rh-несовместимости гемолитическая болезнь новорожденных при АВ0-несовместимости в 50% случаев развивается при первой беременности. Последующие в том же браке дети оказываются менее подверженными гемолитической болезни. Хотя несовместимость матери и плода по «малым группам» крови также может быть причиной гемолитической болезни новорожденных, это все же наблюдается редко (1—2%). Чаще осложнения наблюдаются при различных по антигенам систем Келл и Кидд, реже — MNS и Даффи.

#### **8.4. Лейкоцитарная аллосенсибилизация матери**

Естественных антител к антигенам тканевой совместимости не существует. В 1926 г. С. Доан впервые показала, что у беременных в крови появляются антитела, агглю-



тинирующие аллогенные лейкоциты. В 1952 г. J. Dausset начал систематические исследования противолейкоцитарных антител у людей с помощью реакций лейкоагглютинации, связывания комплемента с тромбоцитами и в лимфоцитотоксическом тесте. Было показано, что лейкоагглютинины встречаются у 25% женщин, которые имели более 3 беременностей в анамнезе [Payne R., Rolfs M., 1958; van Rood J., 1958]. Лимфоцитотоксины находили еще чаще. Это оказалось дополнительным доказательством перехода лейкоцитов от плода к матери, поскольку антигены МНС не экспрессированы на эритроцитах человека и синцитиотрофобласте.

Большинство исследователей склоняется к тому, что вероятность появления антител к HLA-антигенам мужа возрастает с увеличением числа предыдущих беременностей. Если повторная беременность связана с другим отцовским HLA-гаплотипом, то синтез антител не усиливается. Особенно активно вырабатывают антитела те беременные, которым когда-либо ранее проводили гемотрансфузии.

При первой беременности антитела к HLA в III триместре обнаруживаются у 20—30% женщин, при повторных беременностях их находят в 40—50% случаев. Некоторые авторы считают, что процент иммунных к HLA-антигенам женщин к родам и после них нарастает, другие свидетельствуют, что в последнем триместре частота позитивных сывороток снижается. Доношенная беременность оказывает большее влияние на продукцию антител, чем прерванная искусственным абортom.

J. Vives и соавт. (1976) на основании анализа сывороток более чем от 2500 беременных рассчитали, что у первородящих женщин наибольшей цитотоксической активностью обладают сыворотки 6-го месяца ( $\approx 20\%$ ) беременности, а к 9-му месяцу на долю активных сывороток приходится менее 10%. При 2-й беременности наибольший процент иммунных сывороток соответствует 3-му месяцу ( $\approx 26\%$ ) и уменьшается к 4-му месяцу ( $\approx 17\%$ ), а затем вновь может нарастать (до 24%). При 3-й беременности наибольший цитотоксический эффект наблюдается на 3-й ( $\approx 23\%$ ) и 6-й ( $\approx 29\%$ ) месяцы. С увеличением числа беременностей растет количество серопозитивных женщин (особенно в 3-м и 8-м месяцах). Их доля от общего количества составляет 30%, а в конце беременности она составляет 26%. U. Koenig и N. Miller (1982) приводят другие цифры:

52% иммунных женщин после 1-й беременности, 76% — после 2-й и 81% — после 3-й. В I триместре лимфоцитотоксические антитела выявлялись у 26,6% женщин, во II — у 23%, в III — у 45,5%. Реже, по данным этих авторов, антитела встречались во II триместре, чаще — после родов.

При сравнении разных методов выявления лимфоцитотоксинов положительные результаты чаще давала холодовая проба (инкубация при 4°C). После родов лимфоцитотоксические антитела у женщин вырабатываются в течение 6 мес (после искусственного аборта — 4—9 мес), титр может нарастать, но на 6—8-м месяце концентрация их в крови снижается, возможно за счет специфического супрессорного фактора [Nakajima H. et al., 1982]. Вероятность обнаружения анти-HLA-антител возрастает при Rh-конфликтной беременности, она в этих случаях достигает 60—70% и не связана прямо с титром анти-Rh(D)-антител [Говалло В. И., 1977; Gligorič Y. et al., 1976].

При обследовании контингента беременных женщин без учета числа предыдущих беременностей нам не удалось отметить какой-либо зависимости гуморальной сенсибилизации от срока беременности (рис. 33). В целом лимфоцитотоксины у беременных обнаруживались чаще, чем лейкоагглютинины, отношение числа беременных женщин с антителами к неиммунным составило 3:2.

В последнее время определение анти-HLA-антител проводится с помощью более чувствительного (в 50 раз по сравнению с лимфоцитотоксической пробой) радиоиммунологического метода с использованием меченого <sup>125</sup>I-протеина А. Но даже этим методом было показано, что при первой и второй беременностях частота появления антител к HLA-антигенам не превышает 30%, а при 3-й и 4-й беременностях она возрастает до 50—60%. К концу беременности концентрация анти-HLA-антител увеличивалась [Irahaga M. et al., 1983].

Раздельное применение в цитотоксической пробе Т- и В-лимфоцитов крови позволило методически решить задачу сравнительной оценки активности сывороток беременных женщин к каждой популяции клеток крови. Выяснилось, что цитотоксины могут быть направлены против обеих или одной разновидности клеток, но нормальная беременность чаще сопровождается появлением анти-В-лимфоцитотоксинов или антител к их Fc-Ig-фрагментам [Chardonens X., Jeannet M., 1980; Lauren-

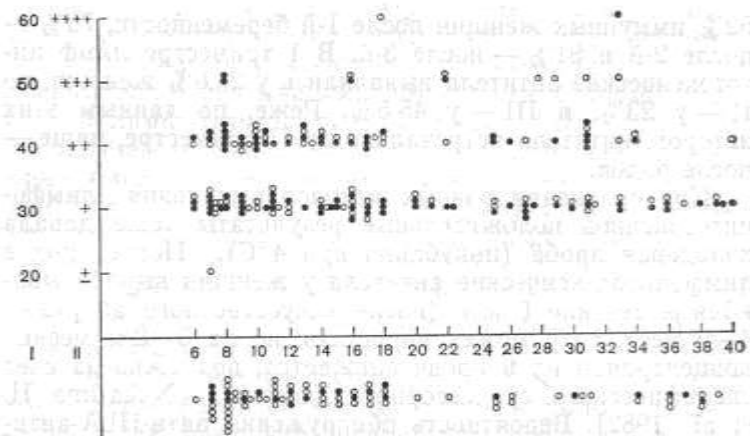


Рис. 33. Содержание противолейкоцитарных антител — лимфоцитотоксина и лейкоагглютининов в крови беременных женщин. По вертикали: I — лимфоцитотоксическая проба — ● в процентах; II — реакция лейкоагглютинации — ○ (± — +++++); по горизонтали — недели беременности.

taci G. et al., 1980]. Это может объясняться антиидиотипическим супрессорным действием антител к В-клеткам, которые закономерно присутствуют при нормально протекающей беременности и отсутствуют при самопроизвольных выкидышах [Power D. et al., 1983].

Раньше предполагали, что антитела к HLA-антигенам отца могут проникать через плаценту к плоду и неблагоприятно отражаться на исходе беременности и здоровье новорожденного. В ретроспективном исследовании Р. Тегасаки и соавт. (1970) высказывалось суждение, что женщины с высоким титром анти-HLA-антител дают значительно более высокий процент детей с врожденными аномалиями, чем серонегативные женщины. Предполагалось, что антитела к HLA неблагоприятно действуют и на детей при последующих беременностях. Наличие антител к тромбоцитам расценивали как фактор риска развития аутоиммунной тромбоцитопенической пурпуры [Beer A., Billingham R., 1976]. Дальнейшие исследования не подтвердили гипотезы о патогенной роли анти-HLA-антител. Даже в случаях Rh-гемолитической болезни к плоду переходят антитела к Rh, к IgG, иногда к антигенам ABO, но не к HLA-антигенам [Morisida M., et al., 1983].

S. Ahrons (1971) утверждал, что материнские анти-

HLA-антитела не оказывают вредного влияния на плод, а M. Tongio и S. Mayer (1975) предположили, что эти антитела фиксируются на плаценте, которая служит иммунологическим фильтром. В дальнейшем это положение получило много подтверждений. Материнские антитела к HLA-антигенам отца не переходят в кровоток плода [Werneburg B. et al., 1984]. Плацента полностью сорбирует введенные меченные  $^{125}\text{I}$  антитела к антигенам МНС I класса [Wegmann T. et al., 1983] и фиксирует антитела II класса [Tongio M. et al., 1983]. Антитела к МНС-антигенам не только связываются клетками плаценты, но, как было показано с помощью антител, меченных  $^{125}\text{I}$  и  $^{35}\text{S}$ -метионином, там перевариваются, причем разрушение антител в плаценте мышей достигает максимума уже через 6 ч после внутривенного введения их беременной самке. Все меченые антитела оказываются связанными фрагментами, меньшими по величине, чем интактная молекула IgG, а продукты их распада появляются в сыворотке при аллогенной беременности на 3 ч раньше, чем при сингенной [Raghupathy R. et al., 1984]. IgG-фракция экстракта плаценты человека, полученной после родов, содержала примесь HLA-антител, направленных исключительно против HLA-специфичностей отца ребенка [Sopoda Sh. et al., 1983]. Очевидно, что связывание плацентой HLA-антител способствует ее развитию, так как в эксперименте [Chaouat G. et al., 1985] было показано, что введение клеток селезенки самца самкам с угрозой аборта вызывает у них синтез МНС-антител и их абсорбцию на плаценте.

Антитела к МНС-антигенам отца обнаруживаются не только у беременных женщин, но и у самок всех живородящих млекопитающих. Они описаны у мышей и крыс [Smith R. et al., 1982; Bell S., Billington W., 1983], у коров [Newman M., Hines H., 1980], лошадей [Allen W., 1982], даже у живородящих амфибий (саламандра) [Chateaurenaud P. et al., 1979]. Эти антитела относятся к классу IgG2, связи между их титрами и численностью потомства нет [Chani A. et al., 1984]. Свойства антител к МНС-антигенам, возникающие при беременности, несколько отличаются от свойств антител при искусственной аллоиммунизации. Цитотоксические антитела при беременности могут быть блокирующими [Opels G. et al., 1972; Colombani J. et al., 1973] и антиидиотипическими, т. е. способны подавлять

распознавание МНС-антигенов отца Т-лимфоцитами матери [Jakobisiak M., et al., 1984], хотя они же иногда выявляются в неблокирующих сыворотках беременных при самопроизвольных абортах [Beard R. et al., 1983].

В эксперименте было также установлено, что протиготцовские аллоантитела, закономерно возникающие при 2-й и 3-й беременностях, могут и не являться классическими лимфоцитотоксинами, хорошо изученными при аллотрансплантации и беременности [Bell S., Billington W., 1981]. Более того, эти антитела у отвечающих самок вполне определенных линий мышей (самок CBA/J, беременных от самцов DBA/2J) лишь отчасти ограничены H-2-локусом [Smith R. et al., 1982; Bell S., 1984]. Было показано, что подобные аллоантитела обнаруживаются в смешанной гемабсорбции, они комплементнезависимы и взаимодействуют с такими клетками-мишенями, как эмбриональные фибробласты. Можно думать, что *in vivo* их синтез определяется TLX-антигенами трофобласта отцовской специфичности. Такие антитела накапливаются независимо от комплементзависимых антител и, возможно, представляют собой лишь часть пула гуморальных антител, индуцируемых беременностью. Может оказаться, что это полностью независимые от МНС-аллоантитела или они связаны лишь с антигенами II класса (Ir). Такую вероятность подчеркивают данные по независимому накоплению цитотоксических и нецитотоксических антител при предварительной иммунизации беременных самок клетками отцовской селезенки [Bell S., Billington W., 1983]. Нейцитотоксические антитела класса IgG1, возникающие в ответ на отцовские МНС-антигены, могут не только защищать плод от деструктивного влияния материнских лимфоцитов, но и способствовать усиленному образованию внеэмбриональных защитных тканей [Tartakovsky V., et al., 1983].

Самостоятельный гуморальный ответ на антигены плаценты, лишь частично связанный у мышей с H-2-различиями, может представить интересные возможности для объяснения интригующего факта связи репродуктивных процессов с антигенными различиями внутри инбредной линии животных. Актуальным и нерешенным остается также вопрос о взаимоотношении противолейкоцитарных антител с блокирующими факторами и взаимодействие последних с лимфоцитами-супрессорами.

### 8.5. Феномен супрессии аллотипа и идиотипа

Иммуноглобулины сыворотки крови имеют генетически детерминированные антигенные отличия, которые известны как аллотипы. Они подобно группам крови и антигенам МНС наследуются по кодоминантному принципу. Частные антигенные детерминанты Ig, определяющие аллотип, формируются в онтогенезе достаточно рано.

Было показано, что кролики с отсутствующим компонентом Ig могут быть успешно к нему иммунизированы, а беременные крольчихи, иммунные к аллотипу Ig самца, способны передавать потомству антитела к аллотипу, который тем унаследован по отцовской линии. Эффект этого переноса антител к потомству проявляется затем у него в подавлении продукции определенного Ig и компенсаторном усилении продукции унаследованного от матери аллельного гена.

Так, например, Ig-гетерозиготы- $B^1/B^2$  от  $B^1/B^1$ -матерей, иммунизированных против отцовского  $B^2$ -IgG, подавляют продукцию  $B^2$ -IgG и компенсаторно усиливают  $B^1$ -IgG, в результате чего общая концентрация IgG не изменяется.

Фенотипическая супрессия во время беременности продолжается ограниченное время, но она может наложить отпечаток на всю жизнь потомства. Подавленный аллотип проявляется, как правило, случайно, но затем его манифестация усиливается. Эффект аллотипической супрессии и компенсаторной экспрессии аллотипа отражает действие механизма, который регулирует относительную концентрацию Ig, синтезируемых разными генами. В-лимфоциты обладают поверхностными аллотипическими специфичностями. Их взаимодействие с антигенами, как полагают, может отражать либо деструкцию некоторых клеток, чувствительных к данному агенту, либо усиленный синтез противоположного аллотипа.

Аллотипическая супрессия пассивно передаваемыми антителами была отмечена и у мышей. При длительной иммунизации самок мышей линии BALB/c Ig самцов линии C57BL/6 и последующем их скрещивании погибало большинство самок в потомстве, а оставшиеся в живых сами затем оказывались стерильными. При чувствительном радиоиммунологическом анализе в крови самок мышей линии A/J, многократно рожавших от

сингенных самцов, нашли антитела к Ig родителя [Chaouat G. et al., 1979].

У людей существует опасность иммунизации женщины против аллотипа мужа при трансфузии случайно совпавшей крови, что может неблагоприятно отразиться на последующей беременности.

Об идиотипической супрессии при беременности уже упоминалось при описании растворимых блокирующих факторов (см. 7.3). Иммунологическое объяснение этого феномена, основывающегося на теории иммунных сетей [Iegre N., 1974], исходит из того, что лимфоциты матери, распознающие МНС-антигены плода отцовского происхождения (идиотипические рецепторы), могут служить аутоантигенами [Нестеренко В. Г., 1982]. Возникающие вторично по отношению к ним антиидиотипы выполняют иммунорегуляторную роль и в конечном счете подавляют материнские В-лимфоциты, продуцирующие анти-HLA-антитела, и Т-клетки, распознающие МНС-антигены плода и трофобласта.

Блокирующее действие сывороток беременных по отношению к аутологичным лимфоцитам может являться следствием антиидиотипической их направленности. R. Rocklin и соавт. (1973) показали, что сыворотка беременных женщин содержит ингибитор продукции фактора, ингибирующего миграцию лейкоцитов, материнскими лимфоцитами в присутствии отцовских аллоантигенов. Позже (1976) тот же автор описал женщину, имевшую три самопроизвольных выкидыша и нормально развивающуюся беременность от одного мужа. При беременностях, окончившихся выкидышами, блокирующие факторы в ее сыворотке крови отсутствовали, при благополучно протекавшей беременности они стали обнаруживаться. Поскольку HLA-гомозиготность в случаях самопроизвольных абортс автором не отмечалась, им сделан вывод о появлении в трофобласте каких-то «ненормальных» антигенов, которые при этом не индуцируют защитные механизмы, а вызывают лишь иммунный ответ.

J. Mowbray и J. Underwood (1985) указывают, что модуляция HLA-антигенов на трофобласте с помощью антител может в значительной мере определять исход беременности. При этом было отмечено, что нарушение беременности происходит чаще всего при отсутствии у беременной антител к HLA-антигенам отца. Это наблюдение, как и аналогичные данные других исследовате-

лей [Johnson P. et al., 1985], лишний раз подчеркивает иммунорегуляторную роль антител к HLA-антигенам отца, которые выступают в роли антиидиотипических факторов. Многие исследователи полагают, что отношения идиотип — антиидиотип выполняют основополагающую роль в регуляции иммунного ответа при беременности.

### **8.6. Клеточный иммунитет к антигенам плода**

Первые доказательства того, что беременность может иммунизировать женский организм к антигенам плода были получены в эксперименте на мышах. Лимфоидные клетки самки, скрещенной с H-2-несовместимым самцом, при введении их F<sub>1</sub>-гибридам вызывали более сильную РТПХ, чем клетки девственных самок той же линии [Sören L., 1967]. Многочисленные исследования, проведенные затем на инбредных животных, показали, что в сингенной системе лимфоциты беременных самок способны пассивно передавать интактным животным состояние сенсibilизации к антигенам самца. Это было видно по ускоренному отторжению пересаженного затем кожного трансплантата от самца.

У крыс даже первая беременность сенсibilизирует лимфоциты самки к МНС-антигенам кожи самца [Veber A., Billingham R., 1974].

Клетки регионарных (матка) лимфатических узлов у мышей на 14-й день аллогенной беременности развивали более выраженный пролиферативный ответ в СКЛ на клетки плода, чем в тот же срок при сингенной беременности. Аллогенная беременность у животных сопровождалась увеличением в парааортальных лимфатических узлах абсолютного, а не относительного числа антигенреактивных клеток [Head J. et al., 1978]. Эти клетки уже через 60 ч после оплодотворения и особенно заметно на 2-й неделе беременности индуцировали местную РТПХ при подкожном введении их в заднюю лапку самцов — гибридов-F<sub>1</sub> [Dorič M. et al., 1984]. Прямое исследование цитотоксической активности лимфоидных клеток у первобеременных мышей показало их слабую цитотоксическую реакцию против эмбриональных фибробластов. Однако клетки селезенки и лимфатических узлов беременных мышей сохраняли память об МНС-антигенах самца, и в случае вторичной стимуляции самок после родов клетками самца наблю-



дался резкий подъем цитотоксичности по типу анамнестического ответа [Smith G., Chappell F., 1984].

У людей было отмечено усиление способности лимфоцитов матери при культивировании их с лимфоцитами новорожденных детей (в соотношении 5:1) продуцировать фактор, подавляющий миграцию лейкоцитов. Доказательств того, что к продукции МИФ имеют отношение лимфоциты новорожденных, получено не было, так как в обратном соотношении клеток эффект отсутствовал, т. е. медиатор имел материнскую природу. По мере увеличения числа предыдущих беременностей выработка специфического МИФ (по отношению к клеткам своего ребенка) увеличивалась [Rocklin R. et al., 1973]. В экспериментах было отмечено, что МИФ после аллотрансплантации кожи появляется на 4-е сутки, а при беременности от того же самца — на 8—10-е сутки (срок имплантации эмбриона) и достигает максимума к родам и затем снижается [Gill T., Kunz H., 1980]. МИФ обнаруживается у мышей и людей при первой беременности, причем экстракты тканей плода вызывают подобный ответ лимфоцитов матери уже в I триместре [Вгоеп von В. et al., 1981].

Следует отметить, что в указанных работах исследовали способность лимфоцитов к продукции лимфокинов (МИФ) при специфическом их взаимодействии с антигенами плода. Динамика выработки МИФ в ответ на неспецифическую стимуляцию ФГА при нормальной беременности не отличалась от контрольных значений [Петров Р. В., Сотникова Н. Ю., 1983].

При беременности у женщин в сыворотке крови в высоком титре обнаруживаются также белки, продуцируемые сенсibilизированными лимфоцитами: интерлейкин-2 и В-клеточный фактор роста. Еще выше концентрация этих лимфоцитов оказывается при культивировании лимфоцитов крови беременной. Активность таких регуляторов клеточного иммунитета выше при наличии у женщины антител к HLA-антигенам отца [Miyagawa Y., Aoyama K., 1983].

Нами также были сопоставлены данные по клеточной и гуморальной сенсibilизации женщин с физиологически протекающей беременностью (табл. 14). Гуморальная сенсibilизация к HLA-антигенам исследовалась в общепринятых модификациях реакций лейкоагглютинации и лимфоцитотоксичности с клетками 20 доноров. Клеточная сенсibilизация изучалась в ре-

Таблица 14. Клеточная и гуморальная сенсibilизации беременных женщин к аллогенным лейкоцитам и экстрактам селезенки плодов (в процентах)

Обследованные	Число обследованных	Клеточная сенсibilизация	Сывороточный фактор		Антитела	
			блокирующий	усиливающий	лейкоагглютинины	лимфоцитотоксины
Беременные (триместр)						
I	54	39(72,2)	32(59,2)	9(16,6)	16(26,1)	30(55,5)
II	50	36(72)	22(44)	15(30)	15(30)	26(52)
III	50	42(84)	27(54)	13(26)	14(28)	27(54)
Роженицы	36	30(83,3)	5(13,9)	26(72,2)	—	—
Родильницы	32	26(81,2)	0	26(81,2)	9(25)	17(40,6)
Доноры	38	3(7,9)	0	2(5,2)	0	2(5,2)

акции подавления прилипания лейкоцитов (РППЛ), которая позволяет обнаружить продукцию лимфокинов специфически сенсibilизированными Т-лимфоцитами [Говалло В. И. и др., 1983]. Антигеном в реакции служил водно-солевой экстракт из селезенки (10—15) поздно абортированных плодов. Блокирующее или усиливающее действие сыворотки регистрировали в тех случаях, когда она не менее чем на 25% ослабляла или увеличивала значения РППЛ по сравнению с таковой на АВ-сыворотке интактного донора.

В данном исследовании не представлена выборка о числе беременностей предыдущих, так как ранее было показано, что процент женщин с клеточной сенсibilизацией в РППЛ при первой и третьей беременностях колеблется в пределах от 72% до 78% и столь же часто в I—III триместрах обнаруживается блокирующий сывороточный эффект [Алиханова И. Д., 1979].

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Физиологически протекающая беременность сопровождается клеточной сенсibilизацией, возникающей вследствие распознавания матерью антигенов плода. Клеточный ответ *in vitro* блокируется аутологичной сывороткой, усиливающее влияние сыворотки обнаруживается значительно реже.

2. Клеточный иммунитет и сывороточное блокирование сопровождается появлением в крови беременных гуморальных антител: в 52—55% случаев — лимфоци-

тотоксинов и в 26—30% случаев — лейкоагглютининов. Очень часто все указанные показатели обнаруживаются при беременности в комплексе, поэтому нет никакого основания противопоставлять эти формы иммунного ответа.

3. Клеточная сенсibilизация сохраняется у женщин и после родов, но с началом родовой деятельности уже в прелиминарном периоде блокирующий эффект сыворотки исчезал и сменялся усиливающим действием. У родильниц сыворотка крови обладала только усиливающим эффектом. Поскольку в родах не происходила элиминация из крови противолейкоцитарных антител, последние никак не связаны с блокирующими свойствами сыворотки.

Таблица 15. Клеточная сенсibilизация и блокирующее действие сыворотки (по данным РППЛ) при физиологическом течении и привычном невынашивании беременности (в процентах)

Обследованные	Число обследованных	Клеточная сенсibilизация	Блокирующее действие сыворотки	Усиливающее действие сыворотки
С физиологическим течением беременности	111	83(74)	55(49,6)	28(25,2)
С привычным невынашиванием беременности	40	28(70)	8(20)	21(52,5)

Насколько важен факт иммунного распознавания и связанного с ним блокирующего эффекта сыворотки для нормального развития беременности видно из табл. 15. Данные, использованные в ней, получены в нашей лаборатории И. Д. Алихановой (1979). Из приведенных результатов видно, что процент сенсibilизированных женщин в обеих исследованных группах был сходен. Но при нормальном течении беременности в 80% случаев подавление прилипания лейкоцитов было не менее 50% по сравнению с исходным (т. е. реакция считалась интенсивной), в то время как при угрозе прерывания реакция такой интенсивности встречалась вдвое реже. При угрозе прерывания беременности аутологичная сыворотка редко оказывала блокирующее действие, хотя выкидыш еще не произошел. В случаях иммунизации все эти показатели выравнивались.

Приведенные данные подчеркивают, что распознавание иммунной системой матери антигенов плода сопровождается при беременности одновременно усилением реакций супрессорного иммунитета и оба эти типа реакции — клеточная сенсibilизация и ее сывороточная блокада прослеживаются на протяжении всей беременности до родов.

### 8.7. Изменение субпопуляций лимфоцитов

Помимо изучения реактивности лимфоцитов матери на аллоантигены отца и плода, многими исследователями при беременности было изучено перераспределение субпопуляций лимфоцитов в крови и в лимфоидных органах. Особого внимания заслуживают те исследования, которые проводились с использованием очищенных антисывороток к специфическим рецепторам разных лимфоцитов и моноклональных антител.

С помощью соответствующих анти-IgM, меченных  $^{125}\text{I}$ , у мышей с сингенной и аллогенной беременностью было исследовано содержание разных лимфоцитов в костном мозге, селезенке, парааортальных лимфатических узлах и в крови [Chatterjee-Hasrouni S. et al., 1980]. Преходящие изменения содержания различных субпопуляций лимфоцитов были однотипны при обоих видах беременности, но в случае аллогенной беременности они были выражены заметнее (табл. 16).

Таблица 16. Изменение содержания субпопуляций лимфоцитов в селезенке мышей при сингенной и аллогенной беременности [по P. Lala и соавт., 1983]

Субпопуляция лимфоцитов	Стадия беременности					
	ранняя		средняя		поздняя	
	син-генная	алло-генная	син-генная	алло-генная	син-генная	алло-генная
T (ThY-1)	=	=	-	---	-	=
B	=	=	=	=	=	=
Ф	=	=	+	+++	+	+
ЕК	=	+	+	+++	+	+
T-субпопуляции						
I-J	=	=	+	+++	+	+
Ly 1,2	=	=	---	---	=	-
Ly 1	-	-	=	=	=	-
Ly 2	+	+	=	+	+	+

Условные обозначения: = не изменено (по сравнению с небеременными животными); - снижено; --- резко снижено; + повышено; ++ резко повышено.

Как видно, наиболее демонстративным было увеличение процента нулевых лимфоцитов, который особенно возрастал в костном мозге (на 6—8-й день беременности), в крови — на 8—9-й день, в селезенке и регионарных лимфатических узлах — на 12—14-й день. Авторы считают, что при беременности происходит миграция этих клеток из костного мозга во вторичные органы иммунной системы. Содержание В-клеток не изменялось, а соотношение субпопуляций Т-лимфоцитов было неодинаковым в разных органах. Авторы считают, что скорее всего именно 0-лимфоциты отражают распознавание матерью аллоантигенов плода, в частности МНС-антигенов I класса. Показательно, что аналогичное перераспределение субпопуляций лимфоцитов у мышей было зарегистрировано и при трансплантации опухолей TA-3 [Lala P., McKenzie I., 1982], развитии солидной опухоли Эрлиха [Garnis S., Lala P., 1978].

Увеличение содержания 0-лимфоцитов может быть объяснено также усилением естественной киллерной активности лимфоцитов при беременности, так как некоторыми авторами была отмечена связь между 0- и ЕК-лимфоидными клетками [Herberman R. et al., 1975]. Как видно из табл. 16, повышение содержания этих лимфоцитов при беременности происходило параллельно. Позже этими же авторами было установлено, что при сингенной и более заметно — аллогенной беременности у мышей число ЕК-клеток в селезенке и их активность возрастают быстрее, чем число 0-лимфоцитов. Это предполагает усиленное рекрутирование ЕК из 0-клеток беременных мышей. Клетки трофобласта при этом содержали структуры, являвшиеся мишенями для ЕК-лимфоцитов [Chatterjee-Hasrouni S. et al., 1984]. С другой стороны, клетки мышинного трофобласта и эмбриона подавляют активность ЕК [Blank M. et al., 1983]. Это свидетельствует об общности между антигенами опухолей, с которыми обычно взаимодействуют ЕК, и антигенами трофобласта. Но остается неясным физиологическое значение увеличения количества и активности ЕК при нормальной беременности, отмеченное S. Chatterjee-Hasrouni и соавт. (1984). Возможно это связано с повышением содержания интерферона при беременности [Fowler A. et al., 1980] или с необходимостью регулировать смену дифференцировочных антигенов трофобласта. Последнее подтверждается тем,

что ЕК более выражены в ранней стадии беременности [Alanen A., Lassila O., 1982a]. Но у беременных женщин число ЕК-клеток в крови снижено по сравнению с нормой, и к тому же их активность резко блокируется сывороткой во второй половине беременности и сывороткой рожениц [Toder V. et al., 1982, 1984]. В некоторых экспериментальных моделях (использование аутологичных эритроцитов как клеток-мишеней) активность ЕК при нормальной беременности у животных тоже оказалась сниженной [Georgieva R., 1983]. Вопрос о динамике ЕК при беременности и роли этих клеток во взаимоотношениях мать — плод нуждается в дальнейшем уточнении.

Отмеченное при беременности (особенно аллогенной) увеличение содержания I-J-несущих Т-лимфоцитов, отсутствующих у девственных самок, было характерно для крови, селезенки и регионарных по отношению к матке лимфатических узлов. Его скорее всего следует связать с увеличением субпопуляции лимфоцитов-супрессоров, к которым относят эти клетки [Tajiguchi M. et al., 1980]. Другие авторы тоже отметили заметное повышение Ia<sup>+</sup> и Ly 2<sup>+</sup>-супрессорных клеток у беременных мышей [Chaouat G., Voisin G., 1981], Т<sub>γ</sub>-супрессоров у свиней [Georgieva R., 1982].

Изучение состава субпопуляции лимфоцитов крови беременных женщин с помощью реакций розеткообразования дало противоречивые результаты [Головистиков И. Н., 1979; Goodfellow C., 1983]. Более постоянно отмечался не дефицит общих Т-лимфоцитов, а свойство сыворотки крови беременных подавлять реакцию Е-РОК [Говалло В. И. и др., 1977]. Применение для дифференцированной оценки субпопуляций лимфоцитов моноклональных антител показало, что при беременности изменяется не столько общий пул Т-клеток крови, сколько меняется соотношение разных их подклассов. Если в крови небеременных женщин соотношение Т-лимфоцитов хелперов/супрессоров (ОКТ4<sup>+</sup>/ОКТ8<sup>+</sup> или Т<sub>H</sub>/Т<sub>γ</sub>) было в пользу первых, то при беременности доля Т-хелперов снижалась, а число супрессоров заметно возрастало [Walter W. et al., 1982; Ong K. et al., 1983]. Абсолютное и относительное уменьшение Т-хелперов (в 2 раза по сравнению с нормой в III триместре) сопровождалось также резким увеличением числа моноцитов [Sridama V. et al., 1982]. S. Birkeland (1984) до 8-го месяца беременности отмечал увеличение Т-кле-

ток крови с фенотипом ОКТ3,4,8. У первобеременных женщин было отмечено не столько снижение ОКТ4<sup>+</sup>-хелперных лимфоцитов, сколько возростал процент Ia<sup>+</sup>-клеток [Yemamoto T. et al., 1983] и абсолютное количество ОКТ8<sup>+</sup>-клеток и T<sub>γ</sub>-супрессоров [Sriwanthana M. et al., 1983].

Выше говорилось, что с помощью функциональных тестов было установлено усиление супрессорной активности лимфоцитов крови беременных женщин (см. 7.2). Фенотипическая их индикация является сложной, поскольку среди ОКТ8<sup>+</sup>-клеток, наряду с T-супрессорами, могут присутствовать и T-киллеры, а наличие Fc-рецепторов к IgG не является строгим разграничительным признаком фенотипа T-супрессоров. Большинство исследователей приводит данные о том, что беременность не нарушает пропорции общих T/B-клеток в крови, но процент T<sub>γ</sub>- и ОКТ8<sup>+</sup>-лимфоцитов увеличивается по сравнению с небеременными женщинами [Scott J., Feldbush Th., 1978; Hirahara F. et al., 1980; Ong K. et al., 1983]. И вместе с тем имеются работы, авторы которых не смогли выявить фенотипических изменений состава лимфоцитов при беременности, в том числе не нашли нарушения равновесия ОКТ4<sup>+</sup>-, ОКТ8<sup>+</sup> и Ia<sup>+</sup>-клеток [Cheney R. et al., 1984] или даже отметили дефицит общих T-лимфоцитов крови фенотипа ОКТ6<sup>+</sup> [Vanderbeeken Y. et al., 1982]. Как видно, даже такой тонкий инструмент исследования, каким являются моноклональные антитела, не снял с повестки дня дискусию о характере изменений субпопуляций T-лимфоцитов в крови беременных. Очевидно лишь, что вся сумма наблюдений о перераспределении T-лимфоцитов в разных стадиях беременности не позволяет говорить о каком-либо генерализованном материнском иммунодефиците [Tallon D. et al., 1984].

Реакции СКЛ являются адекватным методом исследования взаимоотношения клеток матери и плода, поскольку беременность является уникальным биологическим феноменом, при котором лимфоциты двух различных организмов близко взаимодействуют, а плазма (сыворотка) крови представляет единственную биологическую среду, регулирующую *in vivo* их реакции. Было установлено, что пролиферативный ответ лимфоцитов матери на лимфоциты отца и новорожденного в СКЛ резко ослаблен [Говалло В. И. и др., 1977; Негуа Е., 1977; Granberg S. et al., 1979]. Это может быть

связано с наличием блокирующих субстанций, фиксированных на поверхности лимфоцитов крови [Pavia Ch., Stites D., 1979; Birkerland S., Kristofferensen K., 1980], маскировкой HLA-D-антигенов лимфоцитов беременных [Billing R. et al., 1977], супрессирующим действием растворимых в крови антигенов трофобласта группы ТА1 [Faulk W., McIntyre J., 1983], проявлением в СКЛ регуляторных супрессорных лимфоцитов [Говалло В. И. и др., 1978; Chaouat G. & Voisin G., 1979; Chaouat G. et al., 1982]. Здесь следует подчеркнуть, что ослабленный пролиферативный ответ лимфоцитов крови беременных в СКЛ к большинству аллогенных клеток настолько часто встречается при физиологически развивающейся беременности (а не только угрожающих абортах), что этот показатель вряд ли можно считать признаком акушерской патологии.

Ослабление ответной реакции на аллоантигены не сказывается, тем не менее, на способности лимфоцитов беременных реагировать на неспецифические митогены. В наблюдениях на мышах [Anderson D., 1980; Chattejee-Hasrouni S. et al., 1980], крысах [Bauminger S., Peler S., 1978], овцах [Miyasaka M., McCullagh P., 1981], женщинах [Говалло В. И. и др., 1977; Plum J. et al., 1978; Hawes C. et al., 1981] было отмечено, что беременность не влияет на уровень бласттрансформации лимфоцитов под влиянием митогенов для Т-зависи-

Таблица 17. Показатели неспецифической иммунологической активности Т-лимфоцитов женщин во II—III триместрах беременности (в процентах)

Показатель	Число наблюдений	Группы обследованных	
		беременные	контроль
Е-РОК на АВ-сыворотке	30	55,6±5,5	54,0±5,5
Е-РОК на аутологичной сыворотке (20%)	30	39,8±10,1 <sup>1</sup>	52,3±6,2
Реакция бласттрансформации с ФГА на АВ-сыворотке	50	70,4±6,4	68,1±4,0
Реакция бласттрансформации с ФГА на аутологичной сыворотке (20%)	50	45,7±3,8 <sup>2</sup>	72,3±2,3
Смешанная культура лимфоцитов	50	3,9±1,2	8,4±2,5

<sup>1</sup> Эффект блокирования (>25% от значений на АВ-сыворотке) был отмечен в 70% случаев.

<sup>2</sup> Эффект блокирования (та же оценка) был отмечен в 40% случаев.



мых клеток (ФГА, РРД, стрептокиназа-стрептодорназа, КонА) и Т-независимых (липополисахарид, РWM). Неспецифическая пролиферативная активность лимфоцитов беременных отчетливо подавлялась в наших исследованиях лишь под влиянием аутологичной сыворотки крови (табл. 17).

Все сказанное убеждает, что беременность сопровождается, по-видимому, селективной иммуносупрессией, при которой меняется не столько общий пул Т-лимфоцитов, сколько соотношение разных его подклассов.

### **8.8. Токсикозы беременности и дефект недостаточности иммунного распознавания**

В учебниках и руководствах по акушерству токсикозами беременности обозначают различные нарушения процессов адаптации организма женщины к беременности. Этот термин, достаточно общий, был введен еще в начале XX века. В иностранной специальной литературе принят термин токсемия беременных, которым определяют несколько более ограниченный симптомокомплекс: гипертонию, протеинурию, отеки, судороги (все это скорее можно отнести к проявлениям нефропатии и преэклампсии). При анализе патогенеза токсикозов беременности приводятся разные теории (почечная, гормональная, нейрогенная и т. д.), среди которых упоминается и возможная реакция матери на антигены плода.

Однако в настоящее время имеется много оснований полагать, что иммунологические факторы лежат в основе происхождения большинства токсикозов беременности и суть их заключается не в усилении, а ослаблении распознавания матерью аллоантигенов плода. Важную роль при этом играет нарушение функционально-барьерных свойств плаценты.

Так, известно, что проявления токсикозов у женщин довольно быстро нормализуются после удаления плаценты в родах. Патологические изменения при токсикозах в тканях плаценты и в кровеносных сосудах напоминают изменения, наблюдаемые при отторжении аллотрансплантатов. Размеры плаценты и ее морфологическая зрелость имеет прямое отношение к выраженности симптомов токсикоза. Введение противоплацентарной сыворотки беременным животным вызывает у них явления, сходные с токсикозами у людей. Зачас-

тую токсикозы, развивающиеся у первобеременных, не повторяются при следующей беременности от того же мужа, особенно если эта беременность оказалась доношенной. Эти наблюдения можно поставить в связь с недостаточностью иммунного распознавания антигенов плода и слабой продукцией матерью супрессорных факторов.

При преэклампсии рядом авторов была отмечена относительная гомозиготность беременной и ее мужа по HLA-антигенам [Jenkins D. et al., 1978; Scott J. et al., 1978; Halbrecht I. et al., 1979]. Вследствие этого лимфоциты матери развивали слабый пролиферативный ответ в СКЛ. Известно, что цитотрофобласт содержит антигены HLA I класса отцовского и материнского фенотипа, экспрессия этих антигенов, кроме прочих факторов, определяет степень его инвазии в слизистую оболочку матки [Goodfellow C. et al., 1976, 1983]. Отсутствие иммунной реакции сопровождается недостаточностью васкуляризации плаценты [Beer A., 1975]. При преэклампсии степень кровенаполнения плаценты, регулируемая диаметром кровеносных сосудов матки, уменьшается. В I—II триместрах нормальной беременности активно развивается система спиральных артериол плацентарного ложа, в то время как при преэклампсии артериальные сосуды развиты слабо и стенки их не столь эластичны [Robertson W., 1975]. Васкуляризация трофобласта и система клеточных ферментов обеспечивают дальнейшую его инвазию, но в условиях слабого иммунного ответа они страдают уже на ранних стадиях беременности. Отмечено также, что при преэклампсии резко уменьшено содержание клеток трофобласта в циркуляции матери [Jones C., Fox H., 1980]. Ранее уже говорилось, что антигенные отличия плода тесно связаны с развитием децидуальной реакции и становлением иммуносупрессорных механизмов (см. 7.4). Отсюда ясно, что относительная совместимость аллоантигенов матери и плода с самого начала беременности может вызывать дисбаланс иммунорегуляторных процессов. Иллюстрацией важности антигенных различий является и давнее наблюдение A. Stephenson и соавт. (1971) о частом возникновении преэклампсии в случае родственных браков.

Клетки трофобласта являются не только источниками МНС-антигенов, но и местом, где синтезируется комплемент. В случаях преэклампсии содержание в

крови беременных свободных компонентов компонента С3 и С4 резко снижается [Ohkawa R. et al., 1983]. Это в свою очередь ведет к тотальному угнетению всех иммунологических реакций. При преэклампсии ослаблен ответ лимфоцитов беременных не только в СКЛ, но и в реакциях бласттрансформации с ФГА, КоА и РРД, снижается усиленная при нормальной беременности продукция МИФ, падает уровень ЕК-клеток и лимфоцитов, опосредующих клеточный лизис [Scott J. et al., 1978; Hartge R., Weitzel H., 1978; Sargent I. et al., 1982; Alanen A., Lassila O., 1982]. Непосредственно перед проявлением симптомов преэклампсии может наблюдаться резкий подъем ответа лимфоцитов на ФГА (что не наблюдается при ранней несложившейся беременности), поэтому реакция бласттрансформации может иметь и прогностическое значение [Need J. et al., 1976].

Сведения о составе Т-клеток при токсикозах беременности противоречивы. Т. В. Златовратская (1980) отметила снижение числа Т-клеток при токсикозах, пропорциональное степени их тяжести, и усиление блокирующих свойств сыворотки. В других исследованиях не было найдено общего Т-В-дефицита при преэклампсии [Alanen A., Lassila O., 1982; Kabra V. et al., 1983] число ОКТ4<sup>+</sup>-хелперов росло, а содержание ОКТ8<sup>+</sup>-супрессорных клеток и блокирующих факторов (IgG всех четырех классов) оказалось резко сниженным [Bolis P., Francini M., 1982; Sargent I., Redman C., 1983]. Сыворотка крови при токсикозах беременности содержала не блокирующие, а усиливающие факторы [Matejčić N., 1983]. Лимфоциты женщин с токсикозами обладали повышенной склонностью к спонтанной бласттрансформации, и в то же время хуже стимулировали пролиферативный ответ лимфоцитов отца, чем другие аллогенные клетки [Sargent I. et al., 1982]. В сыворотках женщин с тяжелой преэклампсией не удалось обнаружить анти-HLA-антител ни до, ни после родов [Jenkins D. et al., 1977].

Очевидно, что иммунный ответ при поздних токсикозах беременности подавлен больше, чем при нормальной беременности. Механизмы такого угнетения могут быть связаны с отсутствием выраженной антигенной гетерозиготности плода, с ранней недостаточностью развития трофобласта [Loke Y. et al., 1980], снижением числа лимфоцитов-хелперов [Sridawa V. et al., 1982],

с действием супрессорных макрофагов на ЕК-клетки [Flannery G. et al., 1983]. Неясной остается роль лимфоцитов-супрессоров при токсикозах беременности [Singer C. et al., 1983].

Имеются все основания полагать, что в развитии некоторых токсикозов беременности, в частности нефропатий, каким-то образом реализуется антигенная общность плаценты и почек [Boss J., 1965]. В эксперименте было показано, что пассивно введенные противоплацентарные антитела абсорбируются на мембранах клеток гломерул, почечных канальцев, в капиллярах и на адвентиции почечных артерий. Напротив, антипочечные антитела абсорбируются на клетках трофобласта и желточного мешка. Растворимые антигены плаценты и почек трудно дифференцировать в прямой иммунофлюоресценции. Введение беременным животным нефротоксической антисыворотки, особенно в ранние сроки беременности, вызывает повреждение плаценты, а затем наступает гибель плода. Выше уже говорилось (см. 6.4) об общности многих плацентарных белков с антигенами внутренних органов (нерепродуктивных).

В крови женщин с преэклампсией, нефропатией и симптоматической гипертензией повышено содержание иммунных комплексов, особенно заметное с участием IgM и C2 и C3 [Yanamoto T. et al., 1983; Vazquez-Escobosa C. et al., 1983]. На тканевых срезах плаценты (в ее сосудах и ворсинках), печени и почек при иммунофлюоресценции отмечены отложения иммунных комплексов с комплементом, причем если IgG-комплексы могут быть нейтральными, то IgM-комплексы способны резорбировать ткани [Houwerde J. et al., 1982]. Пока не ясно, являются ли такие комплексы причиной или следствием развития токсикозов.

Патогенез токсикозов беременности еще только начинает изучаться во взаимосвязи с расстройствами иммунорегуляторных механизмов. Следовательно, должен проводиться и поиск иммунологических воздействий, коррегирующих иммунный статус беременных. При преэклампсии, когда иммунологический ответ беременных на аллоантигены плода заметно ослаблен, J. Scott и соавт. (1978) предложили проводить дополнительную иммунизацию женщин трансплантационными антигенами мужа, инъекции гамма-глобулинов. И. Н. Головистиков (1979) считает, что профилактические и лечебные мероприятия в случаях преэклампсии могут быть до-

полнены трансфузиями крови мужа, инъекциями В-лимфоцитов, пассивным введением антител против HLA-гаплотипа отца, применением иммуностимуляторов.

При иммунотерапии женщин с привычным невынашиванием беременности взвесью лимфоцитов мужа (см. 7.5) мы имели возможность отметить демонстративное снижение симптомов токсикоза уже в ближайшие сутки после иммунизации. Можно думать, что для иммунизации (внутрикожной или подкожной) вполне могут быть использованы не только отмытые от плазмы лимфоциты, но и взвесь лейкоцитов мужа, приготовленная по общепринятому в трансфузиологии методу. Такая несложная процедура, легко выполняемая в обычных родовспомогательных стационарах, может оказаться эффективным средством профилактики и лечения преэклампсии и других токсикозов беременности.

\* \* \*

Гетерозиготность по МНС-антигенам является биологически полезным признаком и обеспечивается пренатальным и постнатальным отбором, в котором важную роль играют антигены локуса T/t. Совместимость по МНС-антигенам искажает репродуктивные процессы и неблагоприятно сказывается на судьбе потомства. Трансплацентарный переход клеток крови плода в кровотоки матери — установленный факт, но требует дальнейшего исследования. Переход лимфоцитов матери к плоду не имеет места в физиологических условиях, иначе развиваются реакции, напоминающие РТПХ.

Гемолитическая болезнь новорожденных часто является следствием иммунизации Rh-негативной женщины Rh (D)-положительными эритроцитами плода — обычно в ситуации, где мать и плод совместимы по АВ0-антигенам. Эффективной мерой профилактики такой гемолитической болезни является введение беременной избытка анти-Rh (D)-глобулина. Гемолитическая болезнь, вызванная несовместимостью матери и плода по антигенам АВ0, изредка имеет место при первой беременности.

Появление у женщины антител к МНС-(HLA)-антигенам не связано с патологией беременности. Эти антитела сорбируются на МНС-антигенах плаценты и в дальнейшем подвергаются внутриклеточному перевари-

ванию. К плоду эти антитела не поступают, но можно думать, что им принадлежит важная роль в стимуляции развития плаценты.

Лимфоциты беременных распознают МНС-антигены отца. Клетки регионарных к матке лимфатических узлов (но не лимфоциты крови) дают усиленный пролиферативный ответ на клетки плода в СКЛ, а лимфоциты беременных женщин продуцируют интерлейкин-2 и разнообразные специфические лимфокины. Клеточный ответ блокируется *in vitro* аутологичной сывороткой.

Нормально развивающаяся беременность не сопровождается дефицитом Т-клеток крови, но изменяется соотношение хелперы/супрессоры в пользу последних.

Токсикозы беременности в некоторых случаях имеют иммунологическую природу. При преэклампсии отмечена гомозиготность супругов по МНС-антигенам, пониженный ответ лимфоцитов матери на аллогенные клетки в СКЛ, слабая продукция HLA-антител, компонента, лимфокинов. Иммунный ответ при поздних токсикозах значительно ослаблен. Другие токсикозы (нефропатии) связаны во многом с общими антигенами плаценты и почек. Актуален поиск иммунотерапии ранних и поздних токсикозов беременности.

## ГЛАВА 9

### ИММУНОБИОЛОГИЯ ЛАКТАЦИИ

#### 9.1. Участие молозива и молока в создании пассивного иммунитета новорожденных

При беременности и после родов у человека молочные железы имеют большое иммунологическое значение, поскольку в них не только концентрируются антитела из сыворотки крови, но и они сами могут служить местом продукции разнообразных иммуноглобулинов. В первые 5 сут лактации секретируется молозиво, затем — транзиторное или промежуточное молоко и начиная с 15-го дня — позднее или зрелое молоко. Молозиво и грудное молоко человека содержат все классы сывороточных Ig, секреторный SIgA, компоненты комплемента, лактоферрин, лизоцим, хемотаксический фактор, факторы, подавляющие миграцию макрофагов,

стимулирующие синтез интерферона. В молозиве и молоке выявлены также макрофаги, моноциты, Т- и В-лимфоциты, плазматические клетки, полиморфноядерные лейкоциты. Молозиво стимулирует удаление мекония, способствует колонизации желудочно-кишечного тракта новорожденного непатогенными лактобактериями. Клеточные компоненты молока способствуют защите новорожденного от кишечных и респираторных инфекций, противодействуют проникновению потенциальных аллергенов через незрелую слизистую желудка и кишечника. При отсутствии молока новорожденные погибают от различных кишечных инфекций, вызванных преимущественно патогенной кишечной микрофлорой. Еще в 1892 г. Пауль Эрлих продемонстрировал, что потомство от матерей, иммунизированных абрином и рицином, приобретает с молоком невосприимчивость к этим высокотоксичным продуктам. Он установил, что в молоке иммунизированных мышей присутствуют антитела, которые усваиваются при кормлении и обеспечивают надежную защиту новорожденных. Впоследствии факт создания пассивного иммунитета у новорожденных с помощью молозива и молока был многократно подтвержден и досконально изучен.

У коров, овец, коз, лошадей, ослов, свиней антитела из сыворотки крови матери не проходят через плаценту в кровоток потомства. Пассивный иммунитет у новорожденных здесь создается исключительно за счет антител молозива и молока. Переход антител через слизистую пищеварительного тракта осуществляется уже во рту и происходит достаточно быстро. Так, у телят антитела в неразрушенном виде находят в крови уже через 48 ч после первого кормления.

У потомства крыс, мышей, кошек и собак пассивный иммунитет создается как посредством трансплацентарного перехода материнских антител класса IgG, так и с помощью поступления антител с молоком. В отличие от копытных у животных этих видов активное всасывание антител из молока происходит не во рту, а в кишечнике.

У людей переход антител класса IgG из кровотока матери к плоду — основной путь создания пассивного гуморального иммунитета. В содержании различных антител в сыворотке крови матери и плода наблюдаются значительные различия. Так, у женщин, иммунизированных дифтерийным анатоксином, антитела в доста-

точно высоким титре присутствуют в крови, через 48—60 ч они появляются в молозиве, но не обнаруживаются в молоке. Антитела к антигенам тифозных бактерий (H- и O-агглютинины) могут присутствовать даже в высоких титрах в молозиве, но всегда отсутствуют в молоке. Однако другие антитела в молоке обнаруживаются, это относится к противозэритроцитарным антителам типа анти-ABO и -Rh(D), антителам к лейкоцитам, а также к антителам против *E. coli* и других энтеробактерий.

Хотя антитела обнаруживаются и в молоке, и особенно в молозиве человека, всасывание их через слизистую пищеварительного тракта в кровь не происходит. Антитела к Rh(D)-антигену, содержащиеся в молозиве и молоке Rh-отрицательной женщины, никогда не обнаруживаются в крови плода. Не происходит и всасывание антител к антигенам системы ABO. Это даже послужило ранее основанием усомниться в важном значении вскармливания для иммунологической защиты новорожденных.

Однако целый ряд клинических наблюдений свидетельствует о важной роли грудного молока в становлении иммунитета. Известно, что вскармливаемые грудью дети значительно реже болеют кишечными инфекциями, чем дети, не получающие грудного молока. Защитные свойства молока были уточнены, когда в нем обнаружили Ig разных классов. Содержание IgA в женском молозиве выше, чем Ig других классов, 90% IgA представлено секреторным SIgA [Goldman A. et al., 1982]. Была выявлена обратная зависимость между содержанием секреторного IgA в грудном молоке и частотой высеивания *E. coli* из фекалий новорожденных. IgA молока реагирует с пневмококками, стрептококками, поливирусами, нейтрализует эндотоксины разного происхождения. Вскармливание новорожденных молоком препятствовало эффективности оральной поливирусной вакцинации, видимо, за счет расщепления уже во рту новорожденных вакцинаторных штаммов [Head J., 1977; McClelland D., 1982].

Пассивный перенос иммунитета с молоком тем более важен, что у новорожденных, и тем более недоношенных, синтез собственного IgA отсутствует по крайней мере в течение первых недель жизни. Из-за незрелости апикальной мембраны эпителиальных клеток кишечника Ig легко переходят в кровь путем эндоцитоза. Мест-



ная защита важна и потому, что у новорожденных железистые клетки кишечника не вырабатывают слизи и муцина, поэтому при некротическом энтерите, при аллергических реакциях со стороны желудочно-кишечного тракта происходит массовое проникновение бактерий.

В молоке человека секреторного IgA содержится больше, чем в коровьем молоке. SIgA более устойчив к изменениям pH среды и действию протеолитических ферментов, чем сывороточный IgA. Это позволяет SIgA оказывать свой бактериостатический эффект в кишечнике новорожденного. По-видимому, SIgA связывает бактерии на поверхности слизистых оболочек и тем самым препятствует их проникновению в толщу тканей. Известно, что адгезия бактерий к слизистым мембранам некоторых внутренних систем организма происходит с помощью фимбрий, которыми микробы прикрепляются к слизистым оболочкам. В грудном молоке выявлены антитела к фимбриям (в IgM и особенно — в SIgA), которые защищают организм от инфекций, нарушая контакт микробов с клетками слизистых тканей [Eden S. et al., 1979]. Кроме того, SIgA захватывает патогенные антигены, расщепляет их и представляет иммунокомпетентным клеткам плода [Walker W., 1980].

В экспериментах на мышах было установлено, что бластные клетки лимфоидной ткани кишечника могут мигрировать в молочную железу сингенных животных и дифференцироваться в IgA-плазматические клетки. Именно этим объясняется специфичность IgA молока к микроорганизмам тонкого кишечника. Данный процесс регулируется, по-видимому, пролактином, так как их введение intactным животным увеличивает миграцию В-клеток в слизистую кишечника [Lamm M. et al., 1978].

Как видно, у млекопитающих разных видов содержание антител в молозиве и молоке изменяется в зависимости от эволюции проницаемости плаценты. При отсутствии прямого перехода IgG-антител из крови матери в кровь плода содержание IgG-антител в молоке особенно высоко. Напротив, у приматов и человека, потомство которых получает материнские IgG-антитела трансплацентарно, ведущим иммунологическим компонентом молока становится секреторный SIgA, обладающий высокой местной бактерицидной активностью.

## 9.2. Иммуноглобулины молозива и молока

В молозиве и молоке присутствуют Ig, поступающие из кровотока и продуцируемые в молочных железах. У коров, овец, коз, кроликов Ig сыворотки крови переходят в молоко без какого-либо разрушения. При этом концентрация их не подчиняется законам простой диффузии, так как содержание Ig в молозиве выше, чем в сыворотке крови. F. Dixon и соавт. (1961) показали, что у коров в послеродовом периоде концентрация γ-глобулинов в молоке в пять раз превышает концентрацию в сыворотке крови. Если в кровоток коровам вводили меченый сывороточный глобулин человека, то вскоре он почти целиком обнаруживался в молоке. В слизистой оболочке вымени были найдены плазматические клетки, что указывало на местный синтез Ig. Между селективным транспортом IgA из сыворотки и степенью локальной продукции IgA плазматическими клетками секреторного эпителия кишечника существует обратная зависимость [Sheldrake R. et al., 1984].

У жвачных животных за 5 нед до родов заметно увеличивается синтез IgG, особенно субкласса IgG1, который обладает повышенной способностью связывать комплемент. Содержание IgG1 повышается в крови и в молозиве, но уже перед самыми родами содержание IgG несколько снижается. Сразу после родов в молоке увеличивается концентрация IgM и IgA, иногда превышающая концентрацию в сыворотке крови в 5—7 раз (хотя в молозиве коров IgA почти отсутствует). Все же в молоке жвачных животных содержание IgG превалирует над содержанием IgA, так как IgG легче транспортируется в молочные железы, в эпителий альвеол, в которых много Fc-рецепторов. Соответственно и в клетках кишечника телят повышено число рецепторов к IgG, обладающему бактериостатическим действием и предохраняющему новорожденных от кишечных инфекций.

Секреторный IgA вырабатывается в плазматических клетках вымени, часто секреторный компонент IgA в несвязанном состоянии выявляется в коровьем молоке. Если IgG коров почти целиком переходит в молоко из крови, а IgA продуцируется местно, то IgM молозива состоит из смеси молекул, часть которых перешла из сыворотки, а другая синтезировалась в плазматических клетках вымени [Tyran B., Lisowski J., 1979].

При воспалительных процессах в вымени концентрация IgG и IgM в коровьем молоке резко нарастает, вероятно, вследствие усиления их экссудации из крови [Guidrany A. et al., 1980].

У мышей, крыс и кроликов содержание IgG и IgA в молозиве меняется в пользу последнего, несмотря на то что в крови беременных самок IgA встречается в следовых количествах. У девственных и небеременных мышей в молочных железах редко присутствуют плазматические клетки, процент которых начинает нарастать при беременности. В первые дни лактации вес молочных желез у самок мышей увеличивается в 6 раз, а число IgA-секретирующих клеток возрастает в 150 раз. Нарастание IgM- и IgG-продуцирующих клеток наблюдается реже. После прекращения или искусственного прерывания лактации число IgA-плазматических клеток резко снижалось, эпителий желез атрофировался. Предполагается гормональная регуляция этого процесса, в котором важная роль принадлежит гипофизарному пролактину [Waiss-Carrington P. et al., 1977; Lee C. et al., 1979].

У женщин в молозиве и молоке, как и во всех других внешних секретах, преобладает секреторный SIgA, содержание которого увеличивается перед родами. В молозиве его концентрация доходит до 20—40 мкг/мл, но затем в молоке она снижается до 1 мкг/мл. Полагают, что в 1-ю неделю лактации IgA поступает в молочную железу из кровотока, а со 2-й недели он секретируется преимущественно в молочной железе [Halsey I. et al., 1982]. Снижение концентрации IgA компенсируется большим количеством молока, которое начинает потреблять новорожденный, поэтому при нормальном грудном вскармливании ребенок получает примерно одно и то же количество SIgA. SIgA, выделенный из молока кормящих матерей, способен связываться с клетками слизистой оболочки рта новорожденных за счет своего секреторного компонента, концентрация рецепторов к SIgA в слизистой рта, так же как и концентрация SIgA в слюне недоношенных новорожденных, ниже, чем у доношенных, что может определять недостаточность их естественного иммунитета [Roberts S. et al., 1980].

Содержание IgA в молозиве составляет 150 мкг/мл, IgM — 20 мкг/мл, IgG — 2 мкг/мл, в молоке здоровых кормящих женщин содержание IgA — 1—0,5 мкг/мл,

IgM — около 0,1 мкг/мл, IgG — менее 0,05 мкг/мл [Ogra S. et al., 1978]. IgG состоит из IgG1 сывороточного происхождения и IgG2, продуцируемого молочной железой [Nieggodka M. et al., 1981]. Кроме того, в молозиве и молоке обнаружены IgD, часть которого связана с антителами к *E. coli*. Этот иммуноглобулин имеет сугубо материнское происхождение, поскольку плод не способен к самостоятельному синтезу IgD [Sewell H. et al., 1979]. Полагают, что IgD и IgE локально синтезируются в молочных железах [Bahna S. et al., 1982], на всем протяжении кормления их концентрация в молоке выше, чем в крови матерей. Уровень всех Ig молока связан с пищевым рационом кормящих матерей.

К концу 1-й недели кормления содержание IgM и IgG в молоке снижается, но концентрация IgA существенно не меняется [Прозоровская К. Н. и др., 1973; Быкова Е. Я., 1979]. При Rh-иммунном конфликте содержание IgG в молозиве сравнительно повышено, возможно за счет антител к Rh(D)-антигену, а концентрация SIgA уменьшена. Под действием ферментов молока молекулы IgG расщепляются на Fab- и Fc-фрагменты, их высокое содержание отмечено в 1-ю неделю после родов и постепенно снижается к концу недели, когда молозиво превращается в зрелое молоко [Быкова Е. Я. и др., 1980]. Было отмечено снижение концентрации IgA в молозиве и молоке у женщин с угрозой прерывания беременности в два раза и более по сравнению с нормальной беременностью [Прозоровская К. Н., Антонова Л. В., 1980].

### 9.3. Патологические реакции, вызываемые молозивом и молоком

У новорожденных некоторых видов млекопитающих, пассивный иммунитет которых создается исключительно антителами молозива и молока, иногда развивается гемолитическая болезнь. Это наблюдается часто у потомков лошадей и ослов — мулов, причем клинические симптомы очень напоминают эритроblastоз плодов человека. У лошадей, которые уже имели в потомстве мулов с симптомами гемолитической болезни, каждое следующее скрещивание с ослами будет сопровождаться такой же патологией потомства, в то время как потомство, полученное от тех же кобыл с жеребцами, будет здоровым. Симптомы болезни — агглютинация

эритроцитов, гематурия, желтуха — развиваются через несколько часов после рождения, а через 1—2 сут такие животные погибают. У кобыл в этих случаях в крови, молозиве и молоке обнаруживаются антитела, которые в высоком титре агглютинируют в непрямой пробе Кумбса эритроциты как жеребцов, так и мулов. Причинами развития гемолитической болезни в таких случаях служит иммунизация кобыл некоторыми антигенными специфичностями эритроцитов плода, унаследованными им от отца — мула, и переход этих антител из кровотока матери в молозиво и молоко, а оттуда, уже после рождения — в кровоток новорожденного. Для того, чтобы избежать пассивной передачи антител в этих случаях, потомство можно перевести на вскармливание у другой кобылы, у которой антитела отсутствуют.

Гемолитическая болезнь новорожденных той же этиологии бывает у чистопородных лошадей и свиней. Виной тому служат антигенные различия эритроцитов и способность антител молока проникать в циркуляцию плода.

У людей, как уже говорилось, антитела к Rh(D)-антигену могут в высоком титре присутствовать в молозиве и молоке Rh-отрицательных женщин, но это ничем не грозит Rh-отрицательному плоду, поскольку антитела молока разрушаются протеолитическими ферментами желудочно-кишечного тракта. Поэтому Rh-отрицательные кормилицы не представляют никакой опасности.

В молозиве и молоке находят до 18 различных антигенных специфичностей, из которых 10—11 при парентеральной иммунизации вызывают образование специфических антител (например, когда молоком коров иммунизируют кроликов). Некоторые из этих антигенов характерны только для молока, другие присутствуют и в молоке, и в молозиве. Молозиво и молоко содержат также такие уникальные ингредиенты, как казеин, продуцируемый в молочных железах во время лактации и не обнаруживаемый больше ни в каких жидкостях организма.

В случаях, когда по каким-либо причинам после родов длительное время молоко не производится, могут развиваться реактивные иммунологические состояния. Их причиной является контакт молочных протеинов с аутологичными лимфоцитами и развитие явлений

аутосенсibilизации. Поскольку многие антигены молока являются стадноспецифическими, т. е. появляющимися на определенном этапе развития женского организма, к ним не существует естественной толерантности. Контакт антигенов молока, выход которых во внешнюю среду по каким-либо причинам нарушен, с клетками регионарного лимфоидного аппарата может привести к развитию аутоиммунного мастита.

В экспериментах на животных было показано, что молоко может вызывать иммунный ответ при введении его аллогенному реципиенту. К. Вратанов (1974) показал, что инъекция 1,0 мл аутологичного молока лактирующим крольчихам может через 10 сут привести к генерализованной анафилаксии и появлению в крови преципитирующих антител.

У кормящих женщин встречаются иммунологические эксцессы в виде кожной повышенной чувствительности к собственному молоку. А. Апштап и соавт. (1972) утверждают, что у каждой 5-й женщины, прекращающей кормление грудью, в крови появляются гемагглютинины и комплементсвязывающие антитела к антигенам молока. Возможна этиологическая роль этих антител в аутоиммунных маститах, хотя пока такой экспериментальной модели на животных получить не удалось.

Примерно у 6% грудных детей наблюдаются явления аллергии к коровьему молоку, чаще проявляющиеся в виде диатеза и кожной сыпи. Причиной их развития могут быть такие антигены молока как бычий IgM и IgG,  $\alpha$ -лактальбумин,  $\beta$ -лактоглобулин, казеин и бычий сывороточный альбумин. Обычно такая патология связана с дефицитом IgA в крови детей и SIgA в молоке матери. При этом нарушаются защитная роль IgA в кишечнике и иммунорегуляторные реакции. Важным диагностическим показателем селективного дефицита IgA являются преципитирующие антитела к бычьему IgM [Barrett D. et al., 1979]. Возможно в этих случаях у детей имеет место и локальный иммунный ответ к ксеногенному белку. Исключение коровьего молока из пищевого рациона и перевод на вскармливание соевыми продуктами в этих случаях нормализует состояние детей, постепенно преципитирующие антитела из их крови элиминируются. Отмечена и прямая корреляция между длительностью грудного вскармливания и вероятностью развития экземы и сениной лихорадки [Tylor B. et al., 1983].

Педиатрам известен синдром, который называют «смерть в детской кроватке» (Crib Death). Этот симптомокомплекс развивается в первые месяцы жизни, летальный исход без всяких причин наступает у детей во сне. При патологоанатомическом исследовании выявляется цианоз слизистых оболочек, диффузные геморрагии и отек перикарда и легких. Данные за наличие какой-либо инфекции отсутствуют. Указанный синдром не является редким, так как только в США от него ежегодно погибают свыше 10 000 детей [Beer A., Billingham R., 1976].

A. Barrett (1954) предположил, что развитие этого синдрома связано с повышенной чувствительностью легких к пищевым продуктам, попадающим туда путем аспирации во время сна. Таким продуктом может являться коровье молоко, поскольку данная патология встречается почти исключительно у детей, находящихся на искусственном вскармливании. В отличие от детей, получающих материнское молоко, у искусственно вскармливаемых новорожденных уже через 2 недели вырабатываются антитела к антигенам коровьего молока. Такие антитела можно выявить с помощью пассивной гемагглютинации, но не они являются истинными медиаторами патологической реакции. За патологию ответственны IgE, которые в нормальных условиях связываются с рецепторами тканевых базофилов и базофильных гранулоцитов крови, а при взаимодействии с определенным аллергеном они могут стимулировать эти клетки к продукции биологически активных веществ (гистамина, серотонина и т. д.). Последние повышают проницаемость кожных капилляров и ведут к спазму гладкой мускулатуры.

Известно, что молодые морские свинки, сенсibilизированные коровьим молоком (даже через пищеварительный тракт), при последующем парентеральном введении молока дают анафилактическую реакцию. Эта реакция очень напоминает Crib Death, если вторичное введение коровьего молока производится морским свинкам интратрахеально. У задохнувшихся животных в легких обнаруживаются молочные протеины.

Все это свидетельствует, что естественная ингаляция коровьего молока в сенсibilизированные легкие действительно может быть причиной местной аллергической реакции, приводящей к трагическому исходу. Такая патология редко имеет место и у естественно

вскармливаемых детей, хотя известно, что острая аллергическая реакция в принципе может иметь место и по отношению к антигенам материнского молока.

#### **9.4. Клеточные реакции, связанные с молоком**

Гипертрофия секреторного эпителия молочных желез во время беременности сопровождается выраженной инфильтрацией интерстициальных тканей мононуклеарными клетками лимфоидного ряда, которая начинает снижаться после родов.

Количество лейкоцитов в коровьем молоке подвержено большим индивидуальным колебаниям, в 1 мл молока насчитывается 0,5—1 млн. клеток. Число их зависит от стадии лактации и времени суток, вечернее молоко богаче клетками, чем молоко утреннее. Среди клеток молока много эпителиальных, макрофагов, лимфоцитов, редко встречаются эозинофилы.

У крыс в молоке также была обнаружена значительная примесь лимфоцитов гематогенного происхождения. Еще в 1926 г. V. Emmel и соавт. показали, что кормление грудным молоком сопровождается подчас выраженной лейкопенией в крови, которая сочетается с инфильтрацией лимфоцитов альвеол молочных желез. Число лейкоцитов в молоке крыс составляет 2—15 млн/мл, из них 75% приходится на долю макрофагов, 23% — малых и больших лимфоцитов, а остальные 2% — нейтрофилы. С помощью радиоактивной метки <sup>3</sup>H-уридином была доказана возможность миграции сингенных или родительских лимфоцитов из эпителия кишечника крысят в пейеровы бляшки кишечника и мезентериальные лимфатические узлы. РТПХ при этом отмечалась редко, введенные лимфоциты обеспечивали бактериальную резистентность новорожденных [Seeling L., Billingham R., 1981].

По вопросу о способности родительских лимфоцитов, поступивших с молоком, сохранять функциональную полноценность у новорожденных мышей имеются разные мнения [Beer A. et al., 1973; Trentin J. et al., 1977]. В желудочно-кишечном тракте мышей в течение первых 2—3 нед жизни отсутствуют плазматические клетки, содержащие IgA; напротив, были найдены протеазы, разделяющие IgA на Fab и Fi-фрагменты, возможно связанные с защитой бактерий от иммунитета макроорганизма [Tomasi T. et al., 1977].



Лейкоциты в молозиве женщин присутствуют в концентрации 1,5—4 млн/мл, они представлены макрофагами, лимфоцитами; плазматические клетки в молозиве отсутствуют. В молоке содержится то же количество лейкоцитов, причем если в молозиве около 90% их относится к макрофагам, то в молоке процент макрофагов снижается до 65. Лимфоциты молока относятся к категории Т- и В-клеток, их соотношение составляет соответственно 33—50 и 22—35% [Ruben F. et al., 1982]. Материнское молоко также содержит лимфоциты, обладающие свойствами естественных киллеров и осуществляющие антителозависимую цитотоксичность [Tugrell D., 1981].

Лимфоциты молозива и молока трансформируются в бласты в присутствии ФГА и других митогенов, реагируют на аллогенные клетки в смешанной культуре, но ареактивны в СКЛ к лимфоцитам пуповинной крови новорожденного [Parmely M., Williams S., 1981]. Большинство лимфоцитов молозива обладает тем же фенотипом, что и зрелые Т-лимфоциты периферической крови, что свидетельствует об их важной роли в защите новорожденных от инфекционных агентов и в модуляции иммунного ответа с помощью растворимых лимфокинов [Pignata C. et al., 1982].

Показано, что 37—73% мононуклеарных клеток грудного молока образуют розетки с эритроцитами барана, 10% клеток взаимодействуют с моноклональными антителами к ОКТ3 и небольшое их число с антителами к ОКТ4 и ОКТ8. Среди В-лимфоцитов молока 9% несут поверхностные IgA, 9,5% — IgM и 3,7% — IgG-рецепторы [Hayward A., 1983].

Макрофаги молока, прилипающие к стеклу, способны к амёбоидным движениям и фагоцитозу. Изменения pH среды в пределах 3,0—7,0 не влияли на жизнеспособность этих лейкоцитов [Рахон Ch. et al., 1979]. Фагоцитарная активность макрофагов обычно не такая выраженная, как макрофагов крови, усиливается при развитии воспалительных изменений в молочных железах [Norgross N., 1982]. Моноциты молока человека в полной мере обладают Ia-антигенами и служат антигенпредставляющими клетками [Mori M., Hayward A., 1982].

Лейкоциты женского молозива способны к продукции лимфокинов, они продуцируют МИФ, а также медиатор, который может стимулировать дифференциров-

ку В-лимфоцитов в IgA-секретирующие клетки и подавляет *in vitro* продукцию IgG и IgM. Лимфоциты зрелого молока эту способность утрачивают [Pittard W., Bill K., 1979]. Макрофаги молока принимают участие в синтезе лизоцима, лактоферрина, комплемента и других бактерицидных продуктов. Женское молоко содержит вируснейтрализующие факторы неиммуноглобулиновой природы и стимулирует в культуре тканей митозы подобно тому, как это делает «фактор роста». Антитела к последнему подавляют митогенную активность молока.

Лейкоциты и лимфоциты молозива выполняют важную роль в предохранении самих молочных желез от инфильтрации. Они могут осуществлять фагоцитарные функции, синтезировать IgA-антитела и неспецифические антибактериальные вещества, мигрируют в окружающие их ткани и лимфатические сосуды, дренирующие область молочных желез. Вместе с лимфоцитами молока они способствуют формированию у новорожденного антимикробного иммунитета, в том числе и против туберкулеза. Почти все методы консервации молока — пастеризация, замораживание и лиофилизация ведут к гибели лимфоцитов, при этом снижается активность секреторного IgA молока. Прекращение кормления грудью новорожденных с кишечными расстройствами или респираторными инфекциями заметно ухудшает их состояние.

У детей, не питающихся материнским молоком, вирусные инфекции кишечника и дыхательного тракта отмечали в 30%, а у вскармливаемых материнским молоком в 13% случаев [Tugrell D., 1981].

Клеточные и гуморальные реакции, связанные с лактацией, не являются простым следствием поступления в молоко иммунологических продуктов деятельности материнского организма. Очевидно, что кормление материнским молоком — это эволюционный процесс создания не только пассивного, но и активного иммунитета у ребенка, без которого ему трудно было бы выжить в микробном окружении внешней среды. Передача потомству иммунитета с молоком происходит неодинаково у разных видов и изменяется в зависимости от участия в том же процессе плаценты. Но можно думать, что иммунологическое предназначение материнского молока не ограничивается только задачами адаптивного иммунитета, возможно в нем существует и

элемент иммунологического воспитания, отзвуки которого так или иначе прослеживаются во всей жизни индивида.

\* \* \*

У многих млекопитающих, в том числе и у человека, молочные железы в период лактации служат местом синтеза иммуноглобулинов, преимущественно IgA. IgG транспортируется в железы из кровотока. Секреторный SIgA оказывает бактериостатический эффект в пищеварительном тракте новорожденного, концентрация его особенно высока в молозиве.

В молоке содержатся также лимфоциты различных субпопуляций и макрофаги. Пассивный перенос с молоком этих клеток необходим для защиты новорожденного от вирусных и бактериальных инфекций, а также для созревания собственной иммунной системы. В последнем случае важную роль выполняют растворимые медиаторы клеточного иммунитета — лимфокины и монокины.

Аллоантигены молока в отдельных случаях могут вызывать аллергию, которая чаще развивается при искусственном вскармливании. Коровье молоко иногда может вызвать серьезную аллергическую патологию, особенно при дефиците в материнском молоке SIgA или недостаточном его усвоении в кишечнике ребенка. Показателем развивающейся невосприимчивости в таких случаях служит появление преципитирующих антител к бычьему IgM и IgE.

## ГЛАВА 10

### ИММУНИТЕТ НОВОРОЖДЕННЫХ

#### 10.1. Онтогенез лимфоидных клеток и органов

Кроветворные стволовые клетки в процессе эмбрионального развития человека первоначально возникают в желточном мешке, откуда они мигрируют в зародышевую печень, а позже — в развивающуюся вилочковую железу (тимус) и в костный мозг, который становится у 4-месячного плода основным органом кроветворения.

Вилочковая железа у эмбриона человека закладывается из сегментов глоточного кольца (отросток III—

IV жаберных дуг) на 6-й неделе внутриутробного развития. Стволовыми (родоначальными) клетками для Т-лимфоцитов являются большие базофильные клетки, их последовательная миграция происходит по схеме: желточный мешок — печень — кровь — вилочковая железа. Лимфоциты впервые появляются в крови (7—8 нед) и в вилочковой железе (8 нед), затем в лимфатических узлах (10 нед), селезенке (11 нед), слизистой оболочке кишечника (12 нед) и пейеровых бляшках (15—16 нед). Число лейкоцитов в крови на 12-й неделе составляет 1000/мл, а на 25-й неделе — 25 000/мл.

У 10—11-недельного зародыша человека в вилочковой железе можно уже различить корковое и мозговое вещество, к 13-й неделе в мозговом слое вилочковой железы появляются первичные тельца — тельца Гассала, число и размеры которых являются чутким индикатором возрастной эволюции вилочковой железы. Число лимфоцитов на 10-й неделе беременности в вилочковой железе составляет 15 000, в селезенке — 100 000, в костном мозгу — 150 000, к 13-й неделе их количество увеличивается в 10 раз, а к 16-й — в 100 [Carr M. et al., 1975]. Относительная масса вилочковой железы к массе тела достигает максимума в последнем триместре беременности, хотя абсолютное развитие этого органа продолжается до пубертатного возраста, после чего начинается прогрессивная его инволюция. Факторы, регулирующие рост и атрофию вилочковой железы, остаются неизвестными.

Наружный (корковый) слой вилочковой железы является местом активной пролиферации стволовых (или постстволовых) Т-клеток, среднее время деления больших лимфоцитов здесь составляет  $9\frac{1}{2}$  ч, за час в среднем продуцируется около  $5 \cdot 10^4$  лимфоцитов, а за сутки —  $1,2 \cdot 10^6$ . Во внутреннем (мозговом) слое выявляются уже более зрелые, преимущественно малые лимфоциты, темп митозов здесь ниже. Предполагают, что мононуклеарные клетки фетальной печени выделяют гуморальные медиаторы, которые способствуют созреванию Т-клеток в вилочковой железе (тимусе) [Mukhopadhyay N. et al., 1978].

С помощью моноклональных антител было показано, что до 14-й недели беременности в корковом слое содержатся преимущественно лимфоциты с фенотипом ОКТ4<sup>+</sup>, ОКТ6<sup>+</sup> и ОКТ8<sup>+</sup>, в мозговом — лимфоциты ОКТ3<sup>+</sup>. С возрастом увеличивалось число клеток ОКТ6<sup>+</sup> в кор-

ковом, а ОКТ3<sup>+</sup> — в мозговом слое. Доля ОКТ4<sup>+</sup> и ОКТ8<sup>+</sup>-клеток была максимальной на 14—20-й неделе, а затем несколько убывала или сохранялась на одном уровне. Таким образом, зрелые Т-клетки у плода появляются, начиная с 14-й недели внутриутробного развития [Gilhus N., Matre R., 1983]. Это созревание сопровождается и тем, что на тимоцитах мозгового слоя 14-недельного эмбриона уже отчетливо прослеживаются антигены HLA-A, -B и -C (I класса) и Ia-подобные антигены (II класса), т. е. наблюдается экспрессия антигенов, характерная для постнатального периода [Japosy G. et al., 1980].

В-лимфоциты впервые дифференцируются из стволовых клеток в печени плода, а затем — в костном мозге. Формирование последнего у эмбриона происходит на 7—8-й неделе, когда начинает образовываться хрящевой скелет. В дальнейшем в толщу хряща вместе с сосудами начинает проникать мезенхимная ткань, часть которой представлена остеокластами — основой будущей полости, а другая часть — предшественниками ретикулоцитов. Как кроветворный орган костный мозг начинает функционировать лишь с 4-го месяца беременности. Поступление стволовых клеток из костного мозга в кровяной ток происходит строго определенно: в час около 200—300 клеток, в сутки до 2% всего пула стволовых клеток. Интенсивность этого процесса меняется в зависимости от характера экзогенных и эндогенных раздражителей.

Хотя первые В-клетки обнаруживаются у 5—7-недельного зародыша, В-лимфоциты с поверхностными иммуноглобулинами (IgM) возникают к 11—12-й неделе. В этой стадии развития большинство лимфоцитов может быть отнесено к пре-В-клеткам [Asma G. et al., 1984]. В печени и костном мозге 8—20-недельного плода менее 5% клеток реагируют с антителами к ОКТ3, 4, 6 и 8, но соответственно 35—86% взаимодействуют с антителами к ОКТ10. Позже в этих органах и селезенке появляется популяция ОКТ3<sup>+</sup>-клеток, на 20-й неделе пропорция ОКТ4<sup>+</sup>- и ОКТ8<sup>+</sup>-клеток в селезенке повышается, но это происходит уже после тимоцитарной дифференциации лимфоцитов [Asma E. et al., 1983; Camps W. et al., 1984]. Дифференцировка В-лимфоцитов у плода и новорожденного носит различный количественный и качественный характер, в отличие от более однородной дифференцировки Т-клеток.

Плазматические клетки у плода при нормальном развитии отсутствуют, но они появляются при инфекционных заболеваниях матери, например при сифилисе, токсоплазмозе. Это указывает на то, что В-лимфоциты плода могут дифференцироваться в полноценные антителопродуцирующие клетки в случаях перехода инфекционных агентов через плаценту. Самостоятельный синтез плодом IgG и IgM начинается на 12—15-й неделе внутриутробного развития, а синтез IgA — на 30-й неделе [Miler I., 1980]. Самый ранний синтез Ig осуществляется в лимфоцитах кишечника и селезенке.

Рудимент селезенки появляется у плода человека на 5-й неделе, а лимфоцитами селезенка заселяется к 11-й неделе. Позже (12—15 нед) формируется центральная селезеночная артерия, по которой лимфоидные клетки из селезенки начинают поступать в развивающийся костный мозг, в лимфатические узлы. Уже на 3-м месяце жизни эмбриона селезенка является кроветворным его органом, но максимальная лимфопоэтическая активность селезенки отмечается к 5 месяцам. На 17—18-й неделе беременности клетки селезенки приобретают способность самостоятельно синтезировать IgG, в то время как пассивный перенос материнского IgG через плаценту начинается с 26-й недели [Kohler P., 1973]. Селезенка связана с деятельностью вилочковой железы, гипофиза, надпочечников и половых желез, она служит основным депо лимфоцитов-супрессоров. Спленэктомия мышей через 3—20 сут после рождения сопровождается резким усилением пролиферативной активности тимоцитов в присутствии ФГА и КонА. Лимфоциты-супрессоры у зародыша человека начинают обнаруживаться в печени на 8-й, а в крови на 14-й неделе внутриутробной жизни [Stern C., 1980; Unander A. et al., 1981].

Плод также синтезирует фракции комплемента (табл. 18): на 8-й неделе C3 и C5, на 11-й неделе — C3, C4 и C5, в селезенке к 14-й неделе внутриутробной жизни, кроме перечисленных фракций находят также C1q, а позже C7, C9 и C3акт. [Miler I., 1980].

## 10.2. Клеточный иммунитет новорожденных

Содержание в крови новорожденных детей Т-лимфоцитов по данным большинства исследователей не отличается существенно от содержания у взрослых людей [Halberg T., Halberg A., 1976. Stabile A. et al., 1979]

Таблица 18. Онтогенез некоторых иммунологических функций плода человека [по J. Miller, 1980]

Внутриутробное развитие, нед	Иммунологические функции
3-я	Гемопоз в желточном мешке
4-я	Синтез $\beta$ 1С глобулина (С3)
5-я	Закладывается селезенка, появляются лимфатические клетки в печени, реагирующие с антисывороткой к Т-лимфоцитам
6-я	Закладывается вилочковая железа, проявляются HLA-антигены
7-я	В крови появляются лимфоциты, клетки фетальной печени реагируют на аллоантигены в СКЛ
8-я	Вилочковая железа заселяется лимфоцитами, начинается синтез С3, С4, С5 и интерферона
9-я	В печени появляются лимфоциты, несущие поверхностные IgM и IgG на мембране, синтезируется лизоцим
10-я	Начинается синтез IgM, тимоциты реагируют на ФГА, клетки селезенки — на аллоантигены
11-я	Тимоциты способны образовывать Е-розетки, начинается лимфопоз в селезенке
12-я	Начинается синтез IgG, морфологически дифференцируются лимфатические узлы, тимоциты начинают реагировать на аллоантигены
13-я	Лимфоциты крови и селезенки реагируют на ФГА
14-я	Проявляется цитотоксическая активность лимфоцитов селезенки и крови, начинается синтез C1q
15-я	Лимфоциты крови и селезенки образуют Е-розетки
16-я	Проявляется цитотоксическая активность тимоцитов, начинается синтез С7-, С9- и С3-активатора
17-я	Тимоциты отвечают на ФГА
18-я	Начинается синтез С4
20-я	Максимальная лейкопоэтическая активность селезенки, появляются скопления лимфоцитов и первичные фолликулы в слизистой аппендикса
30-я	Максимальная гемопоэтическая активность костного мозга, начинается синтез IgA

или несколько понижено (табл. 19, 20). Вопреки некоторым работам, где при анализе Е-розеткообразующих клеток был отмечен их дефицит у новорожденных [Campbell A. et al., 1974; Karmazsin L. et al., 1978], исследования с помощью моноклональных антител показали, что абсолютное число Т-клеток у новорожденных зачастую превосходит их число у взрослых доноров (лимфоцитоз новорожденных), особенно заметное по числу

Таблица 19. Распределение Т- и В-лимфоцитов (в процентах) в тканях и периферической крови детей 1—3 мес жизни [по J. Neiburger и соавт., 1979]

Ткани и органы	Т-лимфоциты	В-лимфоциты	В-лимфоциты с рецепторами к Ig		
			IgG	IgA	IgM
Вилочковая железа	42,2	0,8	0,5	0	0,3
Лимфатические узлы	32,4±2,7	17,8±1,6	5,0±0,6	2,4±0,4	10,4±1,0
Селезенка	16	55	15	6	34
Аппендикс	19,4±3,5	22,3±6,5	6,0±2,7	2,1±0,9	14,7±3,8
Кровь	44,0±4,2	30,4±3,1	14,9±3,1	3,3±2,3	7,5±1,4
Кровь взрослых	46,3±1,8	26,5±2,3	16,1±0,9	5,2±0,4	7,5±0,5

так называемых активных Т-клеток [Falcao R., 1980; Semenzato G. et al., 1980; Hicks M. et al., 1983]. В то же время Т-лимфоциты новорожденных несли относительно незрелый фенотип ОКТ6 и ОКТ10 [Glot J. et al., 1978; Lucivero G. et al., 1983; Zola H. et al., 1983], но в возрасте 6—12 мес этот признак уже не регистрировался. Экспрессия HLA-DR-антигенов на моноцитах новорожденных и взрослых составляла соответственно 22,5 и 71,8% [Stiehm E. et al., 1984].

Лимфоциты, выделенные из периферической крови пуповины новорожденных детей, продуцировали МИФ под влиянием ФГА и взаимодействовали с антисывороткой к Т-клеткам столь же активно, как лимфоциты взрослых и детей 1—12 лет [Handzel Z. et al., 1980].

Таблица 20. Содержание Т-, В- и 0-лимфоцитов, а также лимфоцитов с мембранными рецепторами к IgG и IgM в крови новорожденных, матерей и взрослых доноров [по J. Christiansen и соавт., 1976], M±m

Группа обследованных	Число обследованных	Субпопуляции лимфоцитов				
		Т	В	0	с рецепторами к	
					IgG	IgM
Новорожденные	29	55,1±6,9 (40—65) <sup>1</sup>	13,6±6,9 (5—39)	31,3±7,7 (13—45)	11,8±6,4 (4—28)	1,8±2,1 (0—8)
Матери	16	71,6±6,3 (62—82)	7,0±3,3 (2—11)	21,4±6,3 (9—36)	3,7±2,3 (0—8)	3,1±2,3 (0—8)
Доноры	23	67,0±4,0 (59—75)	26,7±5,0 (19—35)	6,3±3,4 (3—16)	17,0±7,5 (5—30)	15,0±6,2 (5—25)

<sup>1</sup> Разброс результатов.



Они давали нормальный пролиферативный ответ на растительные митогены, но хуже реагировали с бактериальными антигенами [Rubin H. et al., 1981]. Это находило свое выражение в ослабленной реакции бласттрансформации лимфоцитов новорожденных в присутствии фильтрата культуры стафилококка, стрептолизина О и пневмококка типа I, дифтерийного анатоксина, стрептокиназы-стрептодорназы и других стимуляторов [Leikin S. et al., 1970; Stites B. et al., 1975; Alford C. et al., 1979].

Способность лимфоцитов пролиферировать в ответ на действие ФГА проявляется в онтогенезе раньше, чем на КонА [Leipo A. et al., 1980]. Многие авторы отмечают усиленную способность лимфоцитов новорожденных к спонтанной трансформации вне присутствия каких-либо митогенов [Semenzato G. et al., 1980]. Вместе с тем у новорожденных, как считают многие исследователи, имеет место определенная недостаточность клеточного иммунитета, не связанная с количественным составом Т-клеток и их пролиферативным ответом на митогены. Этот дефект относится к нарушению специализированных функций Т-клеток, таких как продукция интерлейкина-2, интерферона, клеточной цитотоксичности [Winter H. et al., 1983].

Лимфоциты новорожденных способны лизировать опухолевые клетки-мишени в присутствии и вне присутствия интерферона, т. е. они проявляют себя как ЕК. Такие клетки несут на своей поверхности НК-2 дифференцировочный антиген, присущий ЕК, но 70% из них не имеют характерных антигенов Т-лимфоцитов: ОКТ3, 4, 6, 8, 10. Морфологически это малые гранулярные и агранулярные лимфоциты или агранулярные гигантские клетки (размером больше 15 мкм). Лимфоциты с фенотипом НК-1<sup>+</sup> находятся в костном мозге, вилочковой железе, лимфатических узлах новорожденных, они несколько уступают в активности ЕК, содержащимся в крови и селезенке взрослых доноров [Abo T. et al., 1983]. Интерферон стимулирует ЕК взрослых сильнее, чем ЕК новорожденных. Возможно, что этим дефектом можно объяснить повышенную чувствительность новорожденных к внутриклеточным вирусам и ранним вирусным инфекциям [Lubens R. et al., 1982].

В целом клеточный иммунитет плода формируется достаточно рано, а ко дню рождения он имеет высокий процент Т-клеток и функциональная активность этих

клеток, особенно по отношению не к лектинам и аллоантигенам, а микробным агентам, становится достаточно высокой у здоровых и доношенных детей лишь к 6—12 мес жизни. Фагоцитоз макрофагов и нейтрофилов новорожденных также ослаблен в основном за счет недостаточности хемотаксиса, снижения уровня СЗ, IgM, IgG в сыворотке крови и циклических внутриклеточных нуклеотидов.

### 10.3. Супрессорный иммунитет новорожденных

Уже говорилось о том (см. 7.2), что лимфоциты (пуповинная кровь новорожденного) обладают супрессорными свойствами, так как они подавляют пролиферативный ответ аллогенных лимфоцитов взрослых людей на разнообразные митогены, снижают значения реакции бласттрансформации в СКЛ, интенсивность клеточно-опосредованного лимфолизиса и т. д.

Следует отметить, что в онтогенезе супрессорные свойства лимфоидных клеток плода проявляются достаточно рано. Пролиферация лимфоцитов матери при стимуляции ФГА или в СКЛ подавляется клетками печени ее плода, начиная с 8-й недели его внутриутробного развития, или лимфоцитами крови 14-недельного эмбриона. Способность к активной иммуносупрессии сохраняется клетками крови до 11-го месяца постнатального развития, после чего она значительно ослабевает [Unanue A. et al., 1981], но может прослеживаться и до 3-х лет [Taniguchi M., 1983].

Лимфоциты новорожденных плохо трансформируются в неспецифические цитотоксические клетки под влиянием ФГА или в присутствии аутологичных клеток, обработанных вирусом Эпштейна — Барра. Цитотоксичность не усиливается и после внесения в культуру интерлейкина 2. Однако те же клетки резко ограничивают продукцию растворимого хелперного фактора при внесении их в культуру Т-лимфоцитов взрослых лиц и подавляют синтез иммуноглобулинов при обработке В-лимфоцитов митогеном лаконоса [Palacios R., Anderson U., 1982]. Основную массу лимфоцитов новорожденного (пуповинная кровь), ответственных за супрессорную активность, составляют клетки с фенотипом ОКТ8, равным образом способные и неспособные образовывать розетки с эритроцитами барана. Искусственное удаление из взвеси лимфоцитов ОКТ8<sup>+</sup>-клеток приводило к полной утрате

супрессорных свойств [Rodriguez M. et al., 1981]. То же самое наблюдалось и после облучения лимфоцитов новорожденных 2000 Р [Tosato G. et al., 1980].

В экспериментах на животных [Argyris B., 1982] и наблюдениях на плодах и новорожденных было показано, что супрессорные лимфоциты способны продуцировать растворимый фактор, преодолевающий сосудистый и плацентарный барьер и блокирующий реакции клеточного иммунитета. Его действие ограничено рамками МНС-антигенов, он термостабилен (при 56 °С), устойчив к действию кортизона, ультрафиолета (10 000 эрг/мм<sup>2</sup>), проназы и пепсина. Активность Т-супрессоров у новорожденных мышей была неодинаковой у животных разных линий и зависела от короткоживущих клеток с фенотипом Ly-1<sup>+</sup>. Число таких клеток убывало с возрастом.

Супрессорным действием обладали не только лимфоциты, но и макрофаги новорожденных. Последние подавляли феномен распознавания чужеродных аллоантигенов в СКЛ при совместимости их по МНС-антигенам с отвечающими лимфоцитами [Santamaria M. et al., 1983].

Наряду с супрессорными лимфоцитами у новорожденных животных выявлены и контрсупрессорные клетки [Gershon R. et al., 1981; Rybczynska Z. et al., 1981]. В отличие от супрессоров селезенки и костного мозга, контрсупрессоры контролируются вилочковой железой, они имеют фенотип Ly-1<sup>-</sup>2<sup>+</sup>. Действие последних направлено не на инактивацию самих супрессорных лимфоцитов, а на ограничение активности высвобождаемых ими гуморальных медиаторов. Тонкие механизмы усиления активности супрессорных лимфоцитов новорожденных, отличающихся от механизмов у взрослых лиц, и ограничение этого влияния контрсупрессорами обеспечивают: а) правильное созревание собственных Т- и В-лимфоцитов ребенка; б) отсутствие отторжения аллогенных лимфоцитов матери, способствующих иммунологической защите новорожденного; в) предупреждение РТПХ со стороны материнских лимфоцитов.

#### **10.4. Гуморальный иммунитет новорожденных**

С помощью реакций розеткообразования К. А. Лебедев и соавт. (1972) нашли, что у новорожденных процент В-клеток соответствует содержанию у взрослых, а отно-

сительное их число у младенцев оказалось в 2—5 раз выше. X. М. Векслер и соавт. (1978) не нашли разницы ни в относительном, ни в абсолютном количестве В-клеток у новорожденных и взрослых. С. Agostin и соавт. (1981) установили, что В-клеток, несущих Ig, в 1 мм<sup>3</sup> у новорожденных и взрослых содержится 5,6 и 6%, а с Fc-рецептором соответственно 15,2 и 17,5%. С помощью моноклональных антител удалось уточнить, что число клеток, несущих IgG у новорожденных и взрослых составило 2,4 и 1,3%, IgA — 1 и 1,2%; IgM — 3,8 и 3,4% соответственно.

В-лимфоциты, полученные из периферической крови, при культивировании их с митогеном, выделенным из *Nocardia orosa*, дифференцируются в плазматические клетки. Применение моноклональных антител к IgM, IgG и IgA человека позволяет уточнить активность продукции иммуноглобулинов всех указанных классов. Т. Nagaoki и соавт. (1981) установили, что в пуповинной крови пул плазматических IgM-синтезирующих клеток составляет 1/6 от числа аналогичных клеток в крови взрослых доноров. Число IgA-синтезирующих клеток было незначительным, а IgG-клетки отсутствовали вообще. Раннее повышение IgM в сыворотке новорожденного может объясняться внутриутробной инфекцией. К концу 1-го месяца жизни число IgM-клеток достигало уровня таких клеток у взрослых, а число IgA- и IgG-синтезирующих клеток все еще оставалось сниженным. Кооперирующие с ними Т-хелперы у новорожденного (1 мес) были функционально зрелыми, так как добавление их в культуру В-клеток взрослого партнера сопровождалось увеличением количества плазматических клеток, синтезирующих иммуноглобулины всех трех классов. Впрочем, некоторые авторы отмечают недоразвитость Т-хелперных клеток вплоть до 4-месячного возраста младенца [Hayward A., Lydyard P., 1979].

Отсутствие синтеза IgA может быть также связано с активацией супрессорных клеток, присутствующих в популяции Т-клеток новорожденного. Об этом свидетельствует тот факт, что синтез IgA подавляется после добавления Т-лимфоцитов пуповинной крови к В-клеткам взрослых, стимулированных митогеном лакноса [Cheng H. et al., 1983].

Уровень свободного сывороточного IgG в момент рождения у младенца достаточно высок, затем в возрасте 2—3 мес его содержание снижается (по-видимому,

за счет утилизации пассивно переданных матерью антител), а потом вновь увеличивается и остается более или менее постоянным после 8-месячного возраста. Уровень IgM, обнаруживаемый с 1-й недели непрерывно нарастает в течение первых 4-х месяцев, а IgA появляется в сыворотке лишь на 3—4-й неделе и медленно увеличивается в течение первого года жизни [Martins D. et al., 1979]. Типичная динамика изменения концентрации IgG, IgM и IgA у детей разного возраста приведена в табл. 21. Статистически значимая разница в концентрации сывороточного IgA наблюдается в группе детей, вскармливаемых матерями и получавших коровье молоко [Savilahti E. et al., 1983]. Нарастание концентрации IgE и IgD, отсутствующих в сыворотке крови в первые дни после рождения, происходит в течение первого года жизни с максимальным пиком в возрасте 3 года [Падука И., 1982].

В слюне новорожденных детей отсутствовал также секреторный SIgA (<0,002 г/л), впервые он начинал обнаруживаться лишь в 2-месячном возрасте и достигал уровня взрослого человека ( $\approx 0,15$  г/л) лишь к 7-летнему возрасту [Miller I., 1980]. Возможно, что повышенная частота заболеваний дыхательного и пищевого тракта у новорожденного может быть связана именно с дефицитом секреторного SIgA и антител местного происхождения. В первые месяцы жизни существенный вклад в защиту слизистых оболочек у новорожденных

Таблица 21. Содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови здоровых детей [по E. Stiehm и соавт., 1966]

Возраст	Иммуноглобулины, г/л			
	IgG	IgM	IgA	суммарно
Новорожденные	10,31±2,00	0,11±0,05	0,21±0,13	10,44±2,01
1—3 мес	0,43±1,19	0,030±0,11	0,21±0,13	4,81±1,27
4—6 »	4,27±1,86	0,43±0,17	0,28±0,18	4,98±2,04
7—12 »	6,61±2,19	0,54±0,23	0,37±0,18	7,52±2,42
13—24 »	7,62±2,09	0,58±0,23	0,50±0,24	8,70±2,58
25—26 »	8,28±1,83	0,61±0,19	0,71±0,37	10,24±2,05
3—5 лет	9,29±2,28	0,56±0,18	0,93±0,27	10,78±2,45
6—8 »	9,23±2,56	0,65±0,25	1,24±0,45	11,12±2,93
9—11 »	11,24±2,35	0,79±0,33	1,31±0,60	13,34±2,54
12—16 »	9,46±1,24	0,59±0,20	1,48±0,63	11,53±1,59
Взрослые	11,58±3,05	0,99±0,27	2,00±0,61	14,57±3,53

Таблица 22. Концентрация фракций комплемента в крови новорожденных и детей первого года жизни [по P. Figeman и соавт., 1969]

Месяцы жизни	Содержание комплемента, г/л		
	C3	C4	C5
1 <sup>1/2</sup>	0,98±0,016	0,225±0,044	0,075±0,028
3	1,252±0,202	0,230±0,042	0,079±0,032
5	1,304±0,225	0,254±0,055	0,085±0,040
9	1,355±0,264	0,290±0,072	0,095±0,034
12	1,403±0,302	0,286±0,082	0,104±0,035

вносит материнский IgG, в дальнейшем здоровье в существенной мере определяется созреванием собственных иммунорегуляторных лимфоцитов.

Исследование классического (C1q, C3, C4, C5) и альтернативного (факторов В, Р) путей системы комплемента показало, что как синтез, так и потребление компонентов комплемента в результате активации у новорожденных понижены по сравнению со взрослыми. Дефицит комплемента особенно отчетлив у недоношенных детей [Drew J., Argoyave S., 1980]. Относительный дефицит компонентов комплемента выравнивается уже в первые 6 мес жизни детей (табл. 22).

#### 10.5. Иммуитет недоношенных детей

Согласно существующей классификации недоношенными считают детей, родившихся между 28-й и 38-й неделями внутриутробного развития, с массой тела от 1000 до 2500 г, длиной тела 37—46 см. В зависимости от массы тела при рождении различают четыре степени недоношенности: I ст. — масса тела 2001—2500 г, II ст. — 1501—2000 г, III ст. — 1001—1500 г, IV ст. — ниже 1000 г (последних считают поздним выкидышем). Для определения недоношенности большое значение имеет не только масса тела при рождении, но гестационный возраст и степень зрелости. В связи с этим в группу недоношенных детей не включают тех, у кого гестационный возраст превышал 32 нед [Дементьева Г. М., 1978; Таболин В. А. и др., 1981]. В иностранной специальной литературе чаще можно встретить термин гипотрофик, незрелый.

Дети разной степени недоношенности отличаются между собой состоянием при рождении, проводившейся терапией в первые дни и недели жизни, в дальнейшем — различной прибавкой в массе и психомоторном поведении. В связи с этим неоднородны и результаты изучения иммунологической реактивности, полученные разными авторами у разных детей.

У недоношенных детей чаще наблюдаются генерализованные бактериальные инфекции с исходом в сепсис, что вызывает повышенную смертность. Недоношенность часто связывают с предрасположенностью к аутоиммунным, аллергическим и опухолевым заболеваниям. У некоторых таких детей обнаруживается значительный дефицит фагоцитоза и системы сывороточных опсоинов [McGracken C. et al., 1971; Kaplan M. et al., 1972]. Опсонизирующая способность сыворотки термолабильна, она связана с фракцией комплемента С3, но не с иммуноглобулинами сыворотки [Fogman M. et al., 1969].

Метаболический дефект лейкоцитов крови недоношенных детей документируется также недостаточностью их хемотаксиса и способности к миграции. Это касается как спонтанной миграции лейкоцитов в капилляре, так и индуцированной лимфокинами [Chandra R. et al., 1975]. У недоношенных детей, особенно с массой тела ниже 2500 г, отчетливо отмечается дефицит внутриклеточного переваривания фагоцитированных бактерий, снижение бактерицидной активности сыворотки крови, факторов комплемента (Сq, С2, С3 и С4), С-реактивного белка, лизоцима. Наряду с этим некоторые исследователи считают антибактериальную активность лейкоцитов крови соответствующей активности доношенных младенцев [Wright W. et al., 1975].

Большинство исследователей придерживаются мнения, что для недоношенных детей характерен разной степени выраженности дефицит Т-лимфоцитов крови [Ferguson A. et al., 1974; Chandra R., 1975; Moscatelli P. et al., 1976]. Снижение абсолютного числа Т-клеток у недоношенных детей может быть следствием гипотрофии вилочковой железы, на что указывали еще F. Naeye и соавт. (1971).

Отмечена достоверная прямая зависимость доли Т-клеток от массы детей при рождении [Karmazsin L. et al., 1978], при этом число Т-клеток, образующих Е-розетки, развитие кожных реакций повышенной чувствительности на ДНХБ, пролиферация лимфоцитов под

влиянием ФГА и PPD особенно снижены у новорожденных с массой тела ниже 2000 г [Waga D., Barrett D., 1979; Neumann Ch. et al., 1984]. Л. П. Бондаренко (1982), изучавшая в сравнении иммунитет у доношенных и недоношенных детей в момент рождения, а также в 5—6 и в 12 мес, отметила, что исходный количественный и функциональный дефицит Т-лимфоцитов у недоношенных детей нивелируется к 5—6 мес жизни. Т-дефицит в основном касается субпопуляции Т-хелперов (Leu3<sup>+</sup>-клеток) и в меньшей степени Leu2<sup>+</sup>-супрессоров [Kiss S. et al., 1984]. Иногда абсолютное количество Т-лимфоцитов, сниженное у недоношенных новорожденных, восстанавливается и без всяких искусственных мероприятий чрезвычайно быстро, соответствуя показателям нормы уже на 3-й неделе жизни [Halberg A., Halberg T., 1977]. Пролиферативный ответ лимфоцитов крови здоровых доношенных детей на ФГА был выше, чем у взрослых доноров, но у недоношенных детей он был отчетливо снижен [Ferguson A., 1978].

У недоношенных детей концентрация сывороточного IgG ниже, чем у доношенных младенцев [Papadatos C. et al., 1970; Miler I., 1980], что, вероятно, указывает на недостаточно активный транспорт материнского IgG к плоду и сниженную его продукцию самим новорожденным. Это относится ко всем фракциям IgG — от IgG1 до IgG4, но наиболее выражен дефицит IgG1, который составляет 65% от содержания у доношенных детей [Catty D. et al., 1977]. Исходно низкий уровень IgG еще больше падает к 3-месячному возрасту, в то время как концентрация IgM и IgA к этому сроку нормализуется, возможно, за счет проводимой заместительной трансфузионной терапии [Бондаренко Л. П., 1982; Savilahti E. et al., 1983]. Ранее (см. 9.2) говорилось и о дефиците SIgA в слюне и слизистых пищевого тракта недоношенных детей.

Общее количество Ig-несущих В-лимфоцитов у недоношенных детей также снижено. P. Moscatelli и соавт. (1976) приводят такие цифры — при рождении у доношенных детей абсолютное число В-клеток составляет  $1485 \pm 810$ , у недоношенных —  $380 \pm 195$ . Все это свидетельствует, что недоношенность сопровождается первичным иммунодефицитом, который при правильно проводимой иммунокоррекции и общеукрепляющей терапии ребенка ликвидируется к 3—6-месячному возрасту.



У новорожденных младенцев нет количественного Т-дефицита, но Т-клетки имеют незрелый фенотип. При этом они хорошо трансформируются — спонтанно или, тем более, под влиянием митогенов, но отвечают слабее лимфоцитов взрослых на бактериальные антигены. Лимфоциты новорожденных также уступают лимфоцитам взрослых в активности продукции интерлейкина 2, интерферона, в естественной цитотоксичности.

Формальное содержание В-клеток в пуповинной крови также значительно, но они не столь активно продуцируют Ig, как В-лимфоциты взрослых. Это может быть связано с недостаточностью Т-хелперного фактора или с повышенным содержанием в крови лимфоцитов-супрессоров.

Лимфоциты крови плода и новорожденного при внесении их в культуру лимфоцитов матери или другого взрослого человека тормозят ответ последних на Т-митогены, аллоантигены и подавляют синтез В-клетками иммуноглобулинов. Супрессорная активность лимфоцитов и макрофагов снижается к 12 мес жизни. Наряду с супрессорами среди лимфоцитов новорожденных присутствуют и контрсупрессоры. Взаимоотношение этих типов клеток обеспечивает правильное созревание собственных Т- и В-лимфоцитов ребенка, а также регулирует взаимодействия аутологичных лимфоцитов с лимфоцитами материнского происхождения.

При глубокой недоношенности (дети с массой тела менее 2500 г) отмечается снижение абсолютного содержания Т- и В-лимфоцитов в крови, ослабление их функциональной активности, угнетение фагоцитоза, бактерицидной активности сыворотки крови, дефицит факторов системы комплемента, низкий уровень IgG и SIgA. При правильной терапии, а иногда и без лечения, показатели иммунитета у недоношенных детей к 6—12 мес соответствуют возрастной норме.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Весь ход созревания половых клеток, оплодотворения, имплантации эмбриона и его дальнейшего развития в организме матери отмечен активными иммунологическими процессами.

Сперматозоиды являются потенциально аутоантигенами, нарушение целостности барьера, изолирующего их от клеток иммунной системы, ведет к развитию клеточного и гуморального иммунитета, что становится причиной последующей мужской стерильности. В эксперименте это хорошо иллюстрируется моделью ЭАО после иммунизации тестикулярными тканями или деструкции одного семенника, в клинике то же наблюдается при перевязке семявыносящего протока — вазэктомии. Стерильность возникает в результате поражения антителами именно фертильной популяции сперматозоидов.

Аутоантигены сперматозоидов, возникающие в ходе последовательной смены мембранных белков, весьма многочисленны. Гематотестикулярный барьер, состоящий из нескольких непроницаемых слоев сократимых миоидных клеток, базальной мембраны, клеток зародышевого эпителия и сперматогониев, явился тем эволюционным приспособлением, которое предупредило прямой контакт гамет с клетками иммунной системы. В противном случае гаметы, как клетки с выраженными дифференцировочными антигенами и гаплоидным набором хромосом, были бы иммунологически распознаны и истреблены. Если бы гаметы не отличались по антигенному составу от соматических клеток, они бы утратили фертильность.

Иммуногенность сперматозоидов определяется не только их собственными антигенами, но и белками, которые абсорбируются ими из семенной плазмы. Среди последних особое значение имеет оболочечный антиген — SCA, близкий по специфичности к антигенам женского репродуктивного тракта. Благодаря SCA сперматозоиды могут дольше сохраняться в матке. Тому же способствуют антикомплемментарные и иммуносупрессорные факторы, присущие семенной плазме и, возможно, самим сперматозоидам. Очевидно, сперматозоиды могут стимулировать синтез супрессорных лимфоцитов, по крайней мере иммунизация самок мышей сперматозоидами вызывает ускоренный рост перевиваемой тератокарциномы (иммунизация ксеногенными фибробластами подавляет опухолевый рост). Максимальной иммуносупрессорной активностью обладают экстракты предстательной железы.

Яйцеклетки также обладают тканеспецифичными антигенами, сосредоточенными преимущественно в ПЗ.

Антитела к ПЗ подавляют пенетрацию сперматозоида в яйцеклетку. Предполагается, что на поверхности ПЗ имеются видоспецифические рецепторы к сперматозоидам, которые нарушаются преципитатом антител. Развивающаяся яйцеклетка содержит присущие только ей антигены, она, как и сперматозоиды, защищена от иммунных клеток организма фолликулярной жидкостью и наружными оболочками (преимущественно ПЗ).

Аутоантитела к антигенам ПЗ служат частой причиной женского бесплодия. Для исследования гуморальной сенсibilизации используют яйцеклетки свиней, имеющие много общих антигенов с яйцеклетками человека. Антигены яичников дают перекрестные реакции с антигенами других органов (селезенка, печень, почка) и эндокринных желез, поэтому иммунологическое повреждение яичников может наблюдаться при разных патологических состояниях (сахарный диабет, аддисонова болезнь, гипо- и гиперпаратиреозидоз).

Презиготический отбор сперматозоидов, который осуществляет яйцеклетка, по-видимому, имеет сугубо иммунологическую природу. Есть основания полагать, что эту функцию определяют гены локуса T/t, аллели которого выражены на сперматозоидах и яйцеклетке. Лocus T/t является эволюционным предшественником MHC-генов. Твердо установлено наличие на гаметях антигенов MHC I класса, присутствие антигенов MHC II класса окончательно не доказано. Возможно, что последние присутствуют в подпороговом количестве или замаскированы мукополисахаридами и сиаловыми кислотами, которые сами могут выступать как дифференцировочные антигены, они же снижают антигенность макромолекул антигенов MHC.

Поступление сперматозоидов в женский репродуктивный аппарат сопровождается массовым их фагоцитозом. Возможно, что такой процесс, развивающийся уже через несколько часов после контакта слизистой влагалища со спермой, является пусковым механизмом для миграции лимфоидных элементов из костного мозга в слизистую оболочку матки и для дифференцировки предшественников лимфоцитов-супрессоров. Полноценный фагоцитоз сперматозоидов отсутствует, если в цервикальной слизи и маточной жидкости присутствуют антитела к сперматозоидам (IgG и SIgA), которые препятствуют также последующей капацитации (сбрасывание SCA) сперматозоидов. Активный местный синтез

антител к сперматозоидам отмечен у большинства бесплодных женщин.

Следствием всасывания продуктов разрушенных сперматозоидов и их фагоцитоза является увеличение лимфатических узлов, дренирующих матку. Увеличение массы регионарных лимфатических узлов пропорционально степени МНС-антигенных отличий самца и самки, но оно имеет место и при сингенной беременности. Последнее служит доказательством того, что распознавание самкой антигенов самца является неперенным условием развития беременности, даже если эти различия ограничены Н—Y- и органо(ткане)- или трофобластспецифическими антигенами. В той же связи со степенью антигенных отличий находится интенсивность децидуальной реакции и активность развития трофобласта. Предполагают, что распознавание фетальных аллоантигенов самцами и самками различно. Последние, в частности, под действием аллоантигенов могут вырабатывать медиаторы, обеспечивающие усиленное образование эмбриональных тканей. У самок мышей беременность со стороны рога матки, повторно иммунизированного МНС-антигенами самца, бывает более многоплодной.

Процессы репродукции строго контролируются гонадотропными гормонами трех уровней: рилизинг-факторами (либеридами) гипоталамуса, фолликулостимулирующим и лютеинизирующим гормонами и пролактином гипофиза, стероидными гормонами — эстрогенами, андрогенами и прогестероном, вырабатываемых семенниками яичником, желтым телом, плацентой. Мишенью действия этих гормонов являются не только репродуктивные органы, но и иммунная система. На клетках вилочковой железы присутствуют рецепторы к андрогенам, эстрадиолу и прогестерону. Поскольку деятельность эндокринной системы и, в частности, взаимодействие разных гонадотропных гормонов основывается на принципах отрицательной обратной связи, можно думать, что вилочковая железа, побуждающая гипоталамус к продукции РФ, угнетается конечным звеном гормонального кругооборота — стероидными гормонами. Вилочковая железа при беременности временно атрофируется. В модельных опытах эстрогены и прогестерон проявляют себя как физиологические иммуносупрессоры.

Ранняя бластоциста совместно с желтым телом уже через несколько часов после оплодотворения яйцеклетки

начинает продуцировать иммуносупрессорный фактор — фактор ранней беременности. Он появляется еще до синтеза хорионического гонадотропина и фактически является первым сигналом успешной фертилизации. При аборте фактор ранней беременности столь же быстро элиминируется из крови. Его физиологическое назначение состоит в том, что он, как бы перенимая эстафету от трубной жидкости (обогащенной после фертилизации иммуносупрессорными продуктами неоплодотворившихся сперматозоидов), предупреждает распознавание бластоцисты периферическими лимфоцитами в доимплантационном периоде и после погружения бластоцисты в слизистую матки. ФРБ присоединяется к Т-лимфоцитам, побуждая их к продукции растворимых супрессорных медиаторов.

Следующим иммуносупрессорным компонентом является децидуальная реакция. К моменту имплантации слизистая матки оказывается не только прогестерон-подготовленной в секреторно-трофическом отношении, но и обогащенной локально генерируемыми лимфоцитами и клетками, поступившими сюда из костного мозга. В отличие от грызунов, у которых эндометрий трансформируется только после непосредственного контакта с бластоцистой, у людей превращение эндометрия в децидуальную оболочку наступает на поздней, лютеальной стадии менструального цикла даже в отсутствие эмбриона.

У облученных химеричных беременных мышей, получивших костный мозг донора, были найдены доказательства миграции из костного мозга (и возможно перитонеальной жидкости) лимфоцитов и макрофагов в слизистую предимплантационной матки. Экстракты децидуальной оболочки беременных подавляют *in vitro* реакции клеточного и гуморального иммунитета. Здесь возникают супрессорные клетки с новым фенотипом, а также регуляторные ЕК.

В селезенке, а особенно активно в лимфатических узлах, дренирующих беременную матку, концентрируются лимфоциты, способные продуцировать местный супрессорный фактор с мол. м. 25 000. Среди этих супрессорных клеток есть клетки, специфически направленные против МНС-антигенов плода отцовского фенотипа, против H—Y-антигена плода, и неспецифические супрессоры. Супрессорные лимфоциты представлены Т-лимфоцитами и большими гранулярными Т-независимыми клет-

ками, подавляющими развитие предшественников цитотоксических клеток в Т-киллеры. Из регионарных лимфатических узлов супрессорные лимфоциты могут мигрировать в кровоток или в матку.

В формировании разнообразных локальных супрессорных механизмов участвуют разные факторы, но решающим из них является присутствие в генитальном тракте оплодотворенной яйцеклетки и далее — бластоцисты, что определенным образом влияет на гормональный статус и модификацию иммунного ответа. Возможно, что индукторами супрессорных лимфоцитов служат дифференцировочные антигены, в частности продукты локуса *T/t*, являющиеся предшественниками МНС-антигенов и наиболее выраженные у раннего эмбриона, а также специфические антигены трофобласта. В последнем обнаруживаются антигены МНС только на уровне цитотрофобласта, в синцитиотрофобласте их нет.

Исследования, проведенные в последние годы с помощью моноклональных антител, показали, что на эмбрионе в стадии ранней и поздней бластоцисты экспрессированы исключительно МНС-антигены I класса, но по мере созревания эмбриона начинают обнаруживаться и антигены II класса. Такое одновременное проявление антигенов гистосовместимости разных классов в онтогенезе позволяет предположить, что биологическая их роль различна. Антигены МНС I класса возникают первыми, они служат маркерами генотипической индивидуальности и предназначены в основном для «внешних» нужд иммунитета (связь с чужеродными детерминантами, стимуляция реакций несовместимости, киллинг-эффект, рестрикция эффекторных иммунологических механизмов и др.). Антигены МНС II класса, также вносящие вклад в полиморфизм генотипа, биологически предназначены в большей мере для «внутренних» иммунологических задач, они определяют врожденные особенности силы иммунного ответа на разные антигены, регулирующие клеточные взаимодействия и продукцию лимфокинов, способствуют становлению иммунокомпетентности организма.

Поскольку плотность антигенных рецепторов у раннего эмбриона меньше, чем у зрелого плода, реакция на него напоминает иммунный ответ на слабые антигены. При этом более заметно стимулируются супрессорные, но не эффекторные лимфоциты. Выше уже говорилось, что увеличение массы регионарных лимфатических уз-

лов, во многом обязанное концентрации в них супрессорных клеток, происходит в зависимости от степени МНС-различий самца и беременной самки. Эта зависимость сохраняется и при формировании плаценты, масса которой увеличивается пропорционально аллоантигенной несовместимости. Наконец, привычное невынашивание беременности часто ассоциируется с HLA-гомозиготностью супругов, а дополнительное введение женщинам с угрозой самопроизвольного аборта клеток кожи или лимфоцитов крови их мужей является эффективной профилактикой такой патологии. При этом в крови таких женщин появляются отсутствовавшие ранее супрессорные субстанции (блокирующие факторы сыворотки, лимфоциты-супрессоры), что свидетельствует об участии дополнительного МНС-антигенного стимула в активации супрессорных влияний, опосредуемых плацентой.

В зрелой плаценте на границе плодной и материнской ее частей формируется аморфный фибриноидный слой, исключаящий инвазию трофобласта в децидуальную слизистую матки и наоборот. В мукополисахаридах фибриноида обнаруживаются Ig материнского и плодного происхождения. Фибриноидный слой служит, образно говоря, «ничейной землей», или иммунологическим барьером, удерживающим цитотоксические лимфоциты матери от физического контакта с антигеном ворсин трофобласта.

Существенно важно, что трофобласт с самого начала выполняет не только метаболические, но и иммунорегуляторные функции. Два его гормона — плацентарный лактоген (или хорионический соматомаммотропин) и хорионический гонадотропин человека обладают иммуносупрессорным действием, особенно выраженным при их высокой местной концентрации. ХГЧ в моче обнаруживается уже на 8-й день беременности, до формирования зрелой плаценты он — главный регулятор гормональных процессов. Особо физиологически активна (и в иммуносупрессии тоже) его  $\beta$ -субъединица, на основе которой предполагается создание надежных антифертильных вакцин.

Кроме гормональной иммуносупрессии, плацента оказывает иммунорегуляторное воздействие за счет своих специфических антигенов. К числу их относят  $\beta_1$ -гликопротеид и так называемые антигены TA1 и TA2 (последние имеют общие специфичности с лимфоцитами — TLX). TA1, присущий цито- и синцитиотрофобласту че-

ловека, появляется во II триместре беременности, он предотвращает иммунологическое распознавание лимфоцитами матери аллоантигенов плода. Отличия по TLX-антигенам матери и плода, общих для трофобласта и других тканей, стимулируют становление супрессорных механизмов как у аллогенных, так и у сингенных самок. Возможно, TLX-антигены ответственны за продукцию блокирующих сывороточных факторов.

Очищенные клетки трофобласта супрессируют *in vitro* образование цитотоксических лимфоцитов и пролиферативный ответ их на поликлональные митогены, они регулируют активность естественных киллеров, К-клеток и действуют совместно с децидуальными факторами. Этот эффект неспецифичен, он не ограничен генами комплекса МНС и не связан с токсичностью для лимфоцитов. Кроме иммуносупрессирующих факторов, плацента содержит иммуностимуляторы и иммуномодуляторы, действующие на разные мишени в иммунной системе и на разные стадии иммунной реакции. При нарушении одного из механизмов плацентарной защиты, по-видимому, происходит компенсация его действием другого фактора.

Блокирующие клеточный иммунитет сывороточные факторы еще не до конца расшифрованы. Они появляются в крови матери на самых ранних этапах беременности и сохраняются до родов. При сингенной беременности блокирующие факторы присутствуют в крови также, но в меньшей концентрации, чем при беременности аллогенной. Эти сывороточные глобулины абсорбируются на лимфоцитах крови беременной, что можно связать со слабой способностью последних отвечать стимулирующей активностью, когда их добавляют в СКЛ к аллогенным лимфоцитам. Блокирующие факторы (или часть их) удается элюировать с плаценты, что указывает на способность этих белков взаимодействовать с отцовскими МНС-детерминантами. Отдельными исследователями показана общность блокирующих субстанций с IgG плаценты, которые связаны с МНС-антигенами II класса отцовского фенотипа (HLA-DR). Обсуждается возможная комплексная природа этих иммуносупрессорных агентов (антитела + антигены).

Растворимые экстракты плаценты также содержат Fc-рецепторы к IgG, трансферрин, лактоферрин,  $\alpha_2$ - и  $\beta_2$ -микροглобулины, подавляющие ответ материнских лимфоцитов на аллоантигены. Возможно, что комплекс-



ное их присутствие в строме ворсин плаценты наряду с блокирующими факторами, антигенами ТА1 и стероидными гормонами обеспечивает эффективное подавление иммунитета в плаценте на всех этапах эволюции беременности.

Поскольку между антигенами трофобласта и некоторых злокачественных опухолей имеются выраженные перекрестные реакции, эмбриональные и плацентарные белки можно использовать для иммунодиагностики, а возможно — и для иммунотерапии в онкологической практике.

Все сказанное свидетельствует о том, что матка действительно является иммунологически привилегированной областью, но с одной поправкой — беременная матка. Кроме того, иммунологическая привилегия распространяется лишь на эмбрион, но не на иные аллотрансплантаты, которые использовали в модельных опытах для изучения иммунного статуса матки; «привилегия» обеспечивается трофобластом.

Так, трансплантация ксеногенной бластоцисты (внутренней клеточной массы) с сингенным трофобластом сопровождается развитием межвидовой химеры, а пересадка беременной самке сингенной бластоцисты с ксеногенным трофобластом сопровождается быстрым отторжением.

Наряду со столь «глубокоэшелонированной» иммуносупрессией происходит и распознавание антигенов плода лимфоцитами матери. Последние сохраняют иммунологическую память, и в случае их повторной стимуляции теми же антигенами цитотоксические свойства лимфоцитов усиливаются. Доказательством распознавания МНС-антигенов плода является не только гипертрофия регионарных лимфатических узлов, но и появление в крови беременных противолейкоцитарных антител. Продукция этих антител не связана с какой-либо патологией беременности, это физиологический процесс. Лимфотоксические антитела удается элюировать с плаценты более чем у 90% беременных женщин, что говорит с одной стороны о закономерном характере такого гуморального ответа, а с другой — о сорбирующих свойствах плаценты. В последней антитела к МНС-антигенам отцовского происхождения подвергаются внутриклеточному перевариванию. В эксперименте показано, что антитела к МНС-антигенам отца стимулируют физиологическое созревание плаценты.

Очевидно, что антитела к МНС-антигенам выполняют при беременности и регуляторную роль. В некоторых работах функцию этих антител связывали с феноменом усиления, но вряд ли эта связь прямая, ибо наряду с МНС-антителами в крови беременных присутствуют блокирующие факторы, а динамика тех и других субстанций неодинакова. Среди антител к МНС-антигенам найдены антитела к продуктам локуса HLA-DR, что свидетельствует о наличии на клетках плода отцовских антигенов как I, так и II класса. В норме эти антитела никогда не проходят через плацентарный барьер, а сорбируются на его клетках. Полагают, что противолейкоцитарные антитела направлены против идиотипических молекул Т-лимфоцитов, распознающих МНС-антигены отцовского происхождения, и против соответствующих Fc-рецепторов материнских В-клеток. Вместе с тем в крови беременных циркулируют нецитотоксические антитела, не взаимодействующие с МНС-антигенами плода, но сорбирующиеся на клетках трофобласта. Возможно, что эти комплементнезависимые антитела индуцированы антигенами трофобласта и также служат естественными иммуномодуляторами. Пул антител в сыворотках беременных еще предстоит дифференцировать детальнее.

Наряду с гуморальным ответом при беременности регистрируется и клеточный иммунитет к антигенам плода. Этот иммунитет *in vitro* можно исследовать в цитотоксической реакции лимфоцитов матери против клеток трофобласта и эмбриональных фибробластов, а при отсутствии эмбриональных клеток-мишеней — по образованию лимфокинов — медиаторов клеточного иммунитета. Поскольку в клинических условиях реально применение лишь растворимых антигенов из аллогенной эмбриональной ткани, то особое значение приобретают такие реакции, как торможение миграции или подавления прилипания лейкоцитов. С помощью последней удалось показать, что более чем у 80% женщин нормальное протекание беременности сопровождается развитием клеточной сенсibilизации к эмбриональным антигенам (водно-солевые экстракты из пула селезенок поздних выкидышей или после медицинского аборта). Положительный результат в реакции подавления прилипания лейкоцитов блокировался сыворотками беременных. Блокирующий эффект не был специфичен (отмечались широкие перекрестные реакции), он исчезал в преламинар-

ном периоде родов, в то время как клеточная сенсбилизация сохранялась дольше.

У женщин с угрожающим самопроизвольным выкидышем клеточная реакция в РППЛ была ослаблена, а главное — отсутствовали блокирующие свойства сыворотки. Пересадка кожного лоскута от мужа или внутрикожная иммунизация лимфоцитами его крови (100—200 млн. клеток) способствовали восстановлению блокирующего действия сыворотки. После указанной однократной или повторной иммунотерапии 80—90% бездетных до того женщин родили в срок здоровых детей, развитие которых не отличалось от развития других сверстников.

Как свидетельствует большинство авторов, беременность не сопровождается дефицитом Т- или В-лимфоцитов крови (по крайней мере до 8-го месяца). Изменяется лишь соотношение хелперы/супрессоры (ОКТ4<sup>+</sup>/ОКТ8<sup>+</sup>) в пользу последних. При привычном невынашивании беременности содержание лимфоцитов-супрессоров в крови понижено, но оно возрастает вслед за введением отцовских лимфоцитов на фоне угрожающего самопроизвольного аборта. Ответ лимфоцитов беременных женщин на ФГА не изменен (но он также блокируется *in vitro* аутологичной сывороткой), а пролиферативная реакция на аллоантигены в СКЛ ослаблена.

При преэклампсии в высоком проценте случаев находят HLA-гомозиготность беременной и ее мужа, в крови таких женщин уменьшено содержание свободных факторов комплемента (С3 и С4), но увеличено содержание иммунных комплексов С3 с IgM, снижается ответ лимфоцитов на Т-митогены (ФГА, КонА, РPD) и клеточно-опосредованный лимфолизис, падает уровень ЕК. Соотношение клеток ОКТ4<sup>+</sup>/ОКТ8<sup>+</sup> повышается за счет Т-хелперных лимфоцитов. Лимфоциты женщин с токсикозами беременности обладают склонностью к спонтанной бласттрансформации, HLA-антитела у них не обнаруживаются ни до, ни после родов.

Все это указывает на то, что при преэклампсии распознавание матерью антигенов плода резко ослаблено. На сосудах и ворсинках плаценты отмечается отложение отсутствующих в норме иммунных комплексов с IgM. Это диктует целесообразность поисков иммунотерапии поздних токсикозов беременности, которая должна быть направлена на стимуляцию иммунного ответа. С подобной целью могут быть применены трансфузии крови от-

ца, внутривенное введение его В-лимфоцитов, антител к его HLA-фенотипу, а также, очевидно, иммунизация трансплантационными антигенами по схеме, разработанной для профилактики самопроизвольных абортов.

Таким образом, общие изменения иммунологической реактивности при беременности включают в себя три основных процесса: а) умеренное неспецифическое угнетение общей иммунореактивности матери за счет седативного действия гонадотропных гормонов и временной инволюции вилочковой железы; б) активное распознавание матерью антигенов МНС, унаследованных эмбрионом от отца; в) разнообразные общие и преимущественно местные иммуносупрессорные механизмы (табл. 23). Нарушение какого-либо из этих физиологических процессов может неблагоприятно сказаться на развитии беременности и состоянии новорожденного.

У новорожденного при рождении отмечается в крови увеличение абсолютного количества Т-клеток, которые являются еще незрелыми не только фенотипически, но и в регуляторном отношении. Ослаблена продукция лимфокинов, интерферона, иммуноглобулинов всех классов, комплемента. Особенно отчетливо указанные признаки прослеживаются при глубокой недоношенности (масса тела новорожденного ниже 2500—2000 г).

Эволюционно выработавшимся механизмом у некоторых млекопитающих и в том числе у человека является пассивная передача иммунитета от матери плоду не только с помощью гуморальных антител (через плаценту, в которой присутствуют Fc-рецепторы к IgG), но и с грудным молоком. В молозиве и далее в молоке повышено содержание IgG, секреторного IgA, лактоферрина, лизоцима, лимфокинов, макрофагов плазматических клеток, Т- и В-лимфоцитов. Вскармливание новорожденных грудным молоком препятствует развитию бактериальных и вирусных инфекций и способствует полноценному созреванию их иммунной системы. Лимфоциты матери заселяют на ранних этапах лимфоидные структуры кишечника новорожденного, обеспечивая его бактериальную резистентность.

С рождения и в течение первого года жизни ребенка число лимфоцитов-супрессоров в его крови увеличено. Это является не только отзвуком усиленной продукции таких клеток во внутриутробном периоде, но и физиологически целесообразным процессом именно в раннем постнатальном периоде, когда некоторые лимфоидные

Т а б л и ц а 23. Иммуносупрессорные факторы при беременности

Плод	Мать	Плод+мать
<p>Фактор ранней беременности, продуцируемый blastocystой</p> <p>Антигены МНС недостаточно иммуногенны, чтобы вызвать трансплантационный иммунитет (?)</p> <p>МНС-антигены трофобласта не индуцируют клеточного материнского иммунитета</p> <p>Трофобласт служит фильтром, задерживающим поступление к плоду антигенов и иммунных лимфоцитов</p> <p>Фибриноидный иммунологически нейтральный слой</p> <p>Отсутствие МНС-антигенов в амнионе и синцитиотрофобласте</p>	<p>Матка во время беременности становится иммунологически привилегированным органом по отношению к эмбриону</p> <p>Неспецифическая иммуносупрессия гормонами и другими биологически активными белками (утероглобулин и др.)</p> <p>Блокада рецепторов аллореактивных Т-клеток антиидиотипическими антигенами</p> <p>Блокада афферентного звена иммунита продуктами децidualных тканей</p> <p>Лимфоциты-супрессоры, накопивающиеся в регионарных лимфатических узлах, крови и селезенке</p>	<p>Блокирующие субстанции (антигены или их комплекс с антигеном)</p> <p>Маскировка молекулами Х1Т, утероглобулина, трансферрина, слюновых кислот и других биологически активных продуктов антигенов плода и трофобласта</p> <p>Непосредственное местное иммунодепрессивное влияние гормонов плаценты — Х1Т, плацентарного лактогена, простагландинов и др.</p> <p>Антигены ТA1, препятствующие распознаванию лимфоцитами матери антигенов плода, и ТA2 (ТLX), стимулирующие супрессорные механизмы иммунитета</p> <p>Иммуносупрессорные компоненты, фиксированные на ворсинах хориона IgG-плаценты, конфигурация МНС-эпитопа</p>

Таблица 24. Связь классических феноменов иммунитета с проявлениями иммунореактивности при беременности

Иммунологические феномены	Реакции при беременности
Иммунологически привилегированные места — передняя камера глаза, мозг, защечный мешок у хомячков	Децидуальная слизистая оболочка матки, трофобласт
Иммунологически привилегированные ткани	Трофобласт, амнион
Иммунологическая толерантность	Специфическая ареактивность кцовским аллоантигенам
Феномен усиления	Блокирующие сывороточные факторы
Иммуносупрессия	Неспецифическая супрессия иммунитета гонадотропными гормонами и белками плаценты
T-лимфоциты-супрессоры	Супрессорные лимфоциты в крови, регионарных к матке лимфатических узлах, децидуальной оболочке
Блокада T- и B-лимфоцитов избытком антигена	Блокада лимфоцитов клетками и растворимыми продуктами плаценты
Блокада T- и B-иммунных лимфоцитов комплексами антиген+антитело	Продукция при беременности комплексов антиген+антитело
Идиотип-антиидиотипическая регуляция	Связывание MHC-распознающих рецепторов T- и B-клеток антителами к MHC-антигенам отца и блокирующими факторами

структуры плода представляют собой химеры из собственных и материнских клеток. Лимфоциты-супрессоры предохраняют новорожденного от РТПХ со стороны поступивших с молоком материнских лимфоцитов, они регулируют своевременное созревание эффекторных лимфоцитов самого плода.

Таким образом, взаимоотношения иммунной системы матери и плода не прекращаются сразу после рождения. Беременность являет собой уникальную природную модель, которая позволяет исследовать и понять иммунологические процессы, воспроизведенные исследователями в тестах *in vitro* и искусственных лабораторных моделях (табл. 24). Разница лишь в том, что при беременности мы имеем дело с биологически целесообразными иммунорегуляторными реакциями, существо и значение которых определила эволюция, а не наше воображение.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алексеев Л. П.* Строение главного комплекса гистосовместимости HLA. — Иммунология, 1985, № 1, с. 10—16.
- Бодяжина В. И., Жмакин К. Н.* Акушерство: Учебник. 2-е изд. — М.: Медицина, 1979. — 534 с.
- Брондз Б. Д., Рохлин О. В.* Молекулярные и клеточные основы иммунологического распознавания. — М.: Наука, 1978. — 336 с.
- Быкова Е. Я., Говалло В. И., Орлова Н. Р., Лопырева Л. М.* Иммунорегуляторные механизмы при физиологической беременности и угрожающем аборте. — В кн.: Иммунология репродукции, София, 1982, с. 229—232.
- Векслер Х. М., Эбелс И. Г., Думеш В. И.* и др. Сравнительное изучение количественных соотношений Т-лимфоцитов и их субпопуляций и В-лимфоцитов у здоровых доношенных новорожденных детей. — Педиатрия, 1979, № 5, с. 20—23.
- Вербицкий М. Ш.* Изоантигенная несовместимость организмов матери и плода. — Минск: Беларусь, 1979. — 207 с.
- Вербицкий М. Ш., Папазов И. П.* Нарушение оплодотворения антителами к антигенам сперматозоидов и к прозрачным зонам яйцеклеток. — В кн.: Всесоюзный симпозиум по иммунологии воспроизведения. 2-й. Тезисы. М., 1980, с. 137.
- Вербицкий М. Ш., Папазов И. П., Шошев В. Н.* и др. Перекрестно-реагирующие антигены блестящей оболочки яйцеклеток млекопитающих. — Онтогенез, 1980, № 6, с. 583—593.
- Говалло В. И.* Иммуитет к трансплантатам и опухолям. — Киев: Высшая школа, 1977. — 384 с.
- Говалло В. И.* Трансплантация тканей в клинике (эволюционно-иммунологические аспекты). — М.: Медицина, 1979. — 287 с.
- Говалло В. И.* Лимфоциты-супрессоры при нормальной беременности и самопроизвольных абортах. — В кн.: Всесоюзный симпозиум по иммунологии воспроизведения. 2-й. Тезисы, 1980, с. 161—161.
- Говалло В. И.* Способ профилактики самопроизвольных выкидышей. А. с. 925346 (СССР). — Открытия, 1982, № 17.
- Говалло В. И., Дубровский А. В.* Длительное наблюдение больных раком легкого с метастазами после операции и иммунологического лечения. — Вопр. онкол., 1981, № 6, с. 69—73.
- Говалло В. И., Сидельникова В. М.* Профилактика угрожающего самопроизвольного выкидыша иммунизацией беременных женщин лимфоцитами крови их мужей. — В кн.: Иммунология репродукции. София, 1982, с. 333—337.
- Говалло В. И., Быкова Е. Я., Кальке И. К.* Сравнительный анализ методов иммунотерапии самопроизвольных выкидышей. — Акуш. и гин., 1985, № 3, с. 41—43.
- Говалло В. И., Стрижова Н. В., Алиханова И. Д.* Клеточные и гуморальные факторы, подавляющие иммунитет при беременности. —

- В кн.: Международн. симпозиум по иммунологии репродукции. 4-й. Тезисы докладов. София, 1978, с. 169—170.
- Говалло В. Н., Скуинь Л. М., Космиади Г. А., Ефимцева Н. Н.* Некоторые аспекты клинического применения реакции подавления прилипания лейкоцитов. — Иммунология, 1983, № 2, с. 81—84.
- Головистиков И. Н.* Иммунология беременности и лактации. — В кн.: Иммунология, М., 1979, т. 8, с. 199—232.
- Головистиков И. Н., Горлина Н. К., Татаринов Ю. С., Шевченко О. П.* Усиление генерации супрессорных клеток конканавалином А в присутствии трофобластического  $\beta_1$ -гликопротеида. — Иммунология, 1980, № 6, с. 33—37.
- Городилова В. В., Мандрик Э. В., Ульченко В. М.* Использование антигенного комплекса из эмбриона человека при изучении иммунного ответа у онкологических больных. — Вопр. онкол., 1982, № 1, с. 23—27.
- Демин Ю. С.* Генетика локуса Т и презиготический отбор у домашней мыши. — Цитология и генетика, 1982, № 2, с. 73—84.
- Димитров Д. Я.* Хориальный гонадотропин человека. — М.: Медицина, 1979, — 160 с.
- Зарецкая Ю. М.* Клиническая иммуногенетика. — М.: Медицина, 1983, — 208 с.
- Зотиков Е. А.* Антигенные системы человека и гомеостаз. — М.: Наука, 1982, — 237 с.
- Колесников С. И., Морозова Л. М.* Генетико-физиологические взаимоотношения матери и плода. — Новосибирск: Наука, 1985, — 182 с.
- Колесников С. И., Новиков В. Д.* Трофобласт и его участие в гомеостатических механизмах системы «мать—плацента—плод». — Акуш. и гин., 1977, № 12, с. 33—38.
- Ляшенко В. А., Воробьев А. А.* Молекулярные основы иммуногенности антигенов. — М.: Медицина, 1982, — 272 с.
- Медуницкии Н. В.* Повышенная чувствительность замедленного типа. — М.: Медицина, 1983, — 159 с.
- Нестеренко В. Г.* Аутологичные идиотип-антиидиотипические взаимодействия и регуляция иммунного ответа. — Иммунология, 1982, № 2, с. 5—15.
- Падука И. П.* Содержание сывороточных иммуноглобулинов пяти классов у здоровых детей раннего возраста. — Педиатр. акуш. і гін., 1982, № 5, с. 22—24.
- Папазов И. П., Вербицкий В. Ш., Донскова М. Д.* Влияние активной и пассивной иммунизации прозрачными зонами яйцеклеток на онтогенез у мышей, морских свинок, кроликов и обезьян. — В кн.: Всесоюзный симпозиум по иммунологии воспроизведения. 2-й. Тезисы, М., 1980, с. 137.
- Петров Р. В.* Иммунология. — М.: Медицина, 1982, — 368 с.
- Петров Р. В., Сотникова Н. Ю.* Регуляция выработки фактора, ингибирующего миграцию макрофагов, в эксперименте и во время беременности. — Иммунология, 1983, № 4, с. 37—40.
- Петров Р. В., Хаитов Р. М., Манько В. М., Михайлова А. А.* Контроль и регуляция иммунного ответа. — Л.: Медицина, 1981, — 311 с.
- Петрунин Д. Д., Козляева Г. А., Татаринов Ю. С. и др.* Плацентарный  $\alpha$ -микрोगлобулин-специфический белок фертильности. — Акуш. и гин., 1981, № 6, с. 16—17.
- Пинчук Г. В., Волгин А. Ю., Черников В. Г.* Антигены Т-лимфоцитов человека, идентифицируемые моноклональными антителами, и их



- роль в иммунологическом распознавании. — Мед. реф. журн. XXI, 1983, № 11, с. 38—41.
- Савельева Г. М., Антонова Л. В., Прозоровская К. Н. Значение иммунологических исследований в акушерстве и гинекологии. — Ташкент: Медицина, 1981. — 176 с.
- Семенков В. Ф. Иммуногенетика реактивности к антигенам Y-хромосомы (обзор литературы). — Мед. реф. журн. XXI, 1979, № 6, с. 37.
- Соколовская И. И., Милованов В. К. Иммунология воспроизведения животных. — М.: Колос, 1981. — 264 с.
- Субботин А. Д., Соловьева Н. П. Действие вне организма противоживчиковых антител на контакты овоцитов с живчиками. — В кн.: Всесоюзный симпозиум по иммунологии воспроизведения. 2-й. Тезисы. М., 1980, с. 29.
- Таболин В. А., Срагуцкий Л. С., Макарова Л. Ф. Гестационный возраст и методы его определения (обзор иностранной литературы). — Вопр. охр. мат., 1981, № 1, с. 9—13.
- Татаринюв Ю. С. Трофобластический бета<sub>1</sub>-гликопротеин. — Успехи совр. биол., 1983, т. 95, № 1, с. 57—64.
- Татаринюв Ю. С., Головистиков И. Н., Горлина Н. К. и др. Влияние трофобластического б<sub>1</sub>-гликопротеида на пролиферацию лимфоцитов в культуре, вызванную митогенами и аллогенными клетками. — Иммунология, 1980, № 5, с. 14—17.
- Трунова Л. А. Иммунология репродукции. — Новосибирск: Наука, 1984. — 158 с.
- Цирельников Н. И. Гистофизиология плаценты человека. — Новосибирск: Наука, 1980. — 184 с.
- Abedin M., Kirkpatrick Ch. Immunosuppressive activity of cord blood leukocytes. — Pediatrics, 1980, vol. 66, p. 405—410.
- Abo T., Miller C. A., Gariland G. L. Differentiation stages of human natural killer cells in lymphoid tissues from fetal to adult life. — J. exp. Med., 1983, vol. 157, p. 273—279.
- Agostini C., Colombatti M., Sanzari M. et al. B-lymphocytes in newborns. — Arch. Immunol., 1981, vol. 29, p. 79—84.
- Aitken R. J., Richardson D. W. Immunization against zona pellucida antigens. — In: Immunological Aspects of Reproduction and Fertility Control./Ed. J. P. Hearn. Lancaster, 1980, p. 173—182.
- Akle C. A., Adinolfi M., Welsh K. I. et al. Immunogenicity of human amniotic epithelial cells after transplantation into volunteers. — Lancet, 1981, vol. 2, N 8254, p. 1003—1005.
- Alanen A., Lassila O. Deficient natural killer cell function in preeclampsia. — Obstet. and Gynec., 1982, vol. 60, p. 631—634.
- Alexander N. J. Vasovasectomy: anti-sperm antibodies and infertility. — J. Reprod. Immunol., 1983, vol. 5, Suppl. p. 13—14.
- Allen L. S., McClure J. E., Goldstein A. L. et al. Estrogen and thymic hormone interactions in the femal mouse. — J. Reprod. Immunol., 1984, vol. 6, p. 25—37.
- Alomran A., Shenton B. K., Prova G. et al. A hypothetical mechanism of immune regulation produced by α<sub>2</sub>-macroglobulin. — Brit. J. Cancer, 1983, vol. 47, p. 563—569.
- Altman Y., Handzel Z., Levin S. Suppressor T-cell activity in newborns and mothers. — Pediat. Res., 1984, vol. 18, p. 123—126.
- Anderson D. J., Tarter T. H. Immunossuppressive effects of mouse seminal plasma components in vivo and in vitro. — J. Immunol., 1982, vol. 128, p. 535—539.

- Andersson V., Britton S., De Ley M.* et al. Evidence for the ontogenic precedence of suppressor T-cells functions in the human neonats. — *Europ. J. Immunol.*, 1983, vol. 13, p. 6—13.
- Aoki K., Yagami Y.* HLA-DR compatibility in couples with recurrent spontaneous abortions. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 97—97.
- Argyris B. P.* Nature of neonatal splenic suppressor cells in the mouse. — *Cell. Immunol.*, 1982, vol. 66, p. 352—359.
- Artzt K.* Relationship of the murine t-haplotypes and the H-2 complex. — *Surv. Immunol. Res.*, 1983, vol. 2, p. 278—280.
- Asma G. E. M., van der Bergh R. L., Vossen J. M.* Development of pre-B- and B-lymphocytes in the human fetus. — *Clin. exp. Immunol.*, 1984, vol. 56, p. 407—414.
- Asma G. E. M., Langlois B. R., Vossen J. M.* Use of monoclonal antibodies in a study of the development of T-lymphocytes in the human fetus. — *Clin. exp. Immunol.*, 1983, vol. 53, p. 429—436.
- Badet M. T., Chateaufreynaud P., Mayer G.* Immunitary relations between mother and embryo during gestation. A comparative study in lower and higher vertebrates. — *Develop. Comp. Immunol.*, 1983, vol. 7, p. 731—734.
- Bahna S. L., Killer M. A., Heiner D. E.* IgE and IgD in human colostrum and plasma. — *Pediat. Res.*, 1982, vol. 16, p. 604—607.
- Ballieux R. E., Heijnen C. J.* Immunoregulatory T cell subpopulations in man: dessection by monoclonal antibodies and Fc-receptors. — *Immunol. Rev.*, 1983, vol. 74, p. 5—28.
- Baral E., Blomgren H., Roistein S.* Effect of estrogens on human blood lymphocyte subpopulations in vitro. — *J. clin. lab. Immunol.*, 1984, vol. 15, p. 195—197.
- Barrett D. S., Rayfield L. S., Brent L.* Suppression of natural cell mediated cytotoxicity in man by maternal and neonatal serum. — *Clin. exp. Immunol.*, 1982, vol. 47, p. 742—747.
- Bartocci A., Welker R. D., Schlick E.* et al. Immunosuppressive activity of human chorionic gonadotropin preparations in vivo: evidence for gonadal dependence. — *Cell. Immunol.*, 1983, vol. 82, p. 334—342.
- Beard R. W., Braude P., Mowbray J. F.* et al. Protective antibodies and spontaneous abortion. — *Lancet*, 1983, vol. 2, p. 1090—1091.
- Beer A. E.* The immunobiology of recurrent abortion. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 12—13.
- Beer A. E., Billingham R. E.* The immunobiology of mammalian reproduction. — Englewood Cliffs, New York: Prentice-Hall, 1976. — 240 p.
- Bell S. C.* Humoral immune responses in murine pregnancy. IV. Strain dependency and alloantibody specificity. — *J. Immunogenet.*, 1984, vol. 11, p. 21—31.
- Bell S. C., Billington W. O.* Anti-fetal allo-antibodies in the pregnant females. — *Immunol. Rev.*, 1983, vol. 75, p. 5—30.
- Bernardini A., Corbino N., Bapisarda P. G.* et al. Effect of immunization against human chorionic gonadotropin (LCG) on transplantation of Yoshida ascitic tumor. — *Microbiologica*, 1982, vol. 5, p. 383—388.
- Birkeland S. A.* OKT3, OKT4, OKT8 and SMIG-defined lymphocyte subpopulations in normal human pregnancy. — *J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 67—72.
- Birkeland S. A., Kristoffersen K.* The fetus as an allograft: a longitudinal study of normal human pregnancies studied with mixed lym-

- phocyte cultures between mother-father and mother-child. — *Scand. J. Immunol.*, 1980, vol. 11, p. 311—319.
- Biton S., Hama T., Mayumi T.* et al. Immuno-suppressive factor(s) in blastocysts cultured conditioned medium. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 69.
- Boettcher B., Kay D.* The production of antispermatzoal antibodies of the IgG and IgA classes in the male tract. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 48—49.
- Bolis P. F., Franchi M.* T-lymphocyte subpopulations in preeclampsia. — *Acta Europ. Fertil.*, 1982, vol. 13, p. 191—192.
- von Broen B., Albrecht S., Gryschek G.* et al. Cellular sensitization in man and mice during pregnancy to fetal antigens as detected by lymphokine assays. — *Arch. Geschwulstforsch.*, 1981, Bd 51, S. 371—374.
- Bulmer J. N., Sunderland C. A.* Bone marrow derived cell populations in the human placental bed identified by monoclonal antibodies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 31—32.
- Campbell D. A., Lorber M. I., Sweeton J. C.* et al. Breast feeding and maternal-donor renal allografts. Possibility the original donor-specific transfusion. — *Transplantation*, 1984, vol. 37, p. 340—344.
- Chaouat G., Kolb J. J.* Immunoactive products of murine placenta. II. Afferent suppression of maternal cell-mediated immunity by supernatants from short-term cultures of murine trophoblast—enriched cell suspensions. — *Ann. Immunol.*, 1984, vol. C135, p. 205—218.
- Chaouat G., Kiger N., Wegmann T.-G.* Vaccination against spontaneous abortion in mice. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, p. 389—390.
- Chaouat G., Kolb J.-P., Kiger N.* et al. Immunologic consequences of vaccination against abortion in mice. — *J. Immunol.*, 1985, vol. 134, p. 1594—1598.
- Chaouat G., Kolb J.-P., Riviere M.* Role of the placental interface and of trophoblast/maternal tissue interactions in the survival of the murine foetal allograft. — *Ann. Immunol.*, 1984, vol. D135, p. 302—306.
- Chaouat G., Mannot P., Hoffman M., Voisin G. A.* Regulatory T-cell in pregnancy. VI. Evidence for T-cell-mediated suppression of CTL generation toward paternal alloantigens. — *Cell. Immunol.*, 1982, vol. 68, p. 322—331.
- Chardonens X., Jeannot M.* Immunobiology of pregnancy: evidence for a fetal immune response against the mother. — *Tiss. Antigens*, 1980, vol. 15, p. 401—406.
- Chatterjee-Hasrouni S., Lala P. K.* MHC antigens on mouse trophoblast cells: paucity of Ia antigens despite the presence of H-2K and H-2D. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 127, p. 2070—2073.
- Chatterjee-Hasrouni S., Lala P. K.* Localization of paternal H-2K antigens on murine trophoblast cells in vivo. — *J. exp. Med.*, 1982, vol. 155, p. 1679—1689.
- Chatterjee-Hasrouni S., Parhar R., Lala P. K.* An evaluation of the maternal natural killer cell population during the course of murine pregnancy. — *Cell. Immunol.*, 1984, vol. 84, p. 264—275.
- Chatterjee-Hasrouni S., Santer V., Lala P. K.* Characterization of maternal lymphocyte subsets during allogeneic pregnancy in the mouse. — *Cell. Immunol.*, 1980, vol. 50, p. 290—302.
- Cheney R. T., Tomaszewski J., Raab S. J.* et al. Subpopulation of lymphocytes in maternal peripheral blood during pregnancy. — *J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 111—120.

- Cheng H., Sehon A., Tyson J. et al. Human cord blood T lymphocyte regulation of immunoglobulin synthesis. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 43—43.
- Cheng H., Delespesse G., Gripps V. et al. Helper and suppressor effects of cord blood T-lymphocytes on IgG synthesis. — *J. Allergy*, 1983, vol. 71, p. 163—168.
- Clark D. A., McDermott M., Szewczuk M. R. Impairment of host in graft reaction in pregnant mice. II. Selective suppression of cytotoxic T-cell generation correlates with soluble suppressor activity and with successful allogeneic pregnancy. — *Cell. Immunol.*, 1980, vol. 52, p. 106—118.
- Clark D. A., Slapsys R. M., Croy B. A., Rossant J. — Immunoregulation of host-versus graft responses in the uterus. — *Immunol. Today*, 1984, vol. 5, p. 111—115.
- Clark F., Wilson Sh., McCarthy R. In search of EPF: isolation and biochemical characterisation of the active polypeptides. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 60—60.
- Collins G. D., Chrest F. J., Adler W. H. Maternal cell traffic in allogeneic embryos. — *J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 2, p. 163—165.
- Cozad K., Warner C. M. Specificity of H-2 antigens expressed on mouse blastocysts. — *J. Exp. Zool.*, 1981, vol. 218, p. 313—320.
- Croy A., Rossant J., Clark D. A. Is there maternal immune rejection of the fetus in failed murine interspecies pregnancy? — *J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 3, p. 532—535.
- Csorba S., Marodi L., Varga S. Activity and characteristics of inflammatory effector cells in newborns. — *Acta paediat. Acad. Sci. Hung.*, 1984, vol. 25, p. 39—53.
- Davies M., McLaughlin M. E., Sutcliffe R. G. Immune responsiveness against the human placenta. I. Generation of cellular and humoral activity in experimental animals. — *Immunology*, 1982, vol. 47, p. 459—464.
- Daya S., Clark D. A., Devlin C. et al. Suppressor cells in human decidua. — *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1985, vol. 151, p. 267—270.
- D'Almeida M., Voisin G. A. Resistance of femal guinea pig fertility to efficient isoimmunisation with spermatozoa autoantigen. — *J. Reprod. Immunol.*, 1979, vol. 1, p. 237—247.
- D'Almeida M., Niveu T., Marquant-Le Guienne B. Interaction of guinea pig spermatozoa with immunoglobulins: evidence of FG-specific membrane receptors on spermatozoa. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 17—18.
- Deroche A., Piazzon I., Matusevich M., Pasqualini C. D. Newborn cells capable of regulating maternal alloreactivity. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 43.
- Dey S. K., Stechschulte D. J., Abdou N. I. Modulation of the in vitro lymphocyte response by rabbit blastocysts. — *J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 3, p. 141—146.
- Donat H., Morenz J. Importance of autoimmunity in infertile couples. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 52—52.
- Doric M., Kinsky R. G., Voisin G. A. Allogeneic reactivity of maternal lymphoid cell during the course of gestation. Modifications and sex differences in a local GVH assay. — *J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 187—195.
- Drew J. H., Arroyave C. M. The complement system of the newborn infant. — *Biol. Neonat.*, 1980, vol. 37, p. 209—217.

- Duc H. T., Massé A., Bobé P.* et al. In vivo and in vitro study of regulatory effect caused by placental extracts.—*J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 28—28.
- Dunbar B. S., Raynor B. D.* Characterization of Porcine zona pellucida antigens.—*Biol. Reprod.*, 1980, vol. 22, p. 941—954.
- Durandy A., Griscelli C.* Genetic restriction of the suppressor activity of newborn T-lymphocytes on specific in vitro antibody production.—*J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 41—41.
- Edwards R. G.* Immunity and control of human fertility.— In: *Immunology of human reproduction/Eds. J. S. Scott, W. R. Jones, London*, p. 415—439.
- Edwards R. G.* Conception in the human female.—London: Acad. Press, 1980.
- Falcao R. P.* Human blood lymphocyte subpopulations from birth to eight years.—*Clin. exp. Immunol.*, 1980, vol. 39, p. 203—207.
- Faulk W. P., McIntyre J. A.* Trophoblast survival.—*Transplantation*, 1981, vol. 32, p. 1—5.
- Faulk W. P., McIntyre J. A.* Immunological studies of human trophoblast: markers, subset and function.—*Immunol. Rev.*, 1983, vol. 75, p. 139—175.
- Fizet D., Bousquet J., Moulinier J.* Absence of a factor blocking a cellular cytotoxicity reaction serum of women with recurrent abortion.—*J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 96—96.
- Flynn A., Frinke J. H., Hilfiker M. L.* Estrogen stimulated production of IL-1 from human placental derived macrophages.—*Immunobiology*, 1982, vol. 163, p. 279—284.
- Fuchs T., Hammarström L., Smith C. I.* et al. In vitro induction of human suppressor T-cells by a chorionic gonadotropin preparation.—*J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 3, p. 75—84.
- Georgieva R.* Dynamics of T-suppressor and T-helper lymphocytes and haemolytic plaque-forming cells during normal pregnancy in the sow.—*J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 151—156.
- Gerenčar M., Kaštelan A.* The role of HLA-D region in fetomaternal interactions.—*Transpl. Proc.*, 1983, vol. 15, p. 893—895.
- Gill T. J.* Speculations on the transplantation biology of the maternal-foetal interface.—*Ann. Immunol.*, 1984, vol. D135, p. 307—309.
- Gill T. J., Kunz H. W.* The role of regional differences in the major histocompatibility complex in the production during pregnancy of a serum factor inhibiting macrophage migration.—*J. Immunogenet.*, 1980, vol. 7, p. 157—165.
- Gilhus K. E., Matre R.* The ontogeny of T-cell antigens in the thymus.—*Scand. Immunol.*, vol. 17, p. 323—328.
- Golander A., Zakuth V., Shechter Y.* et al. Suppression of lymphocyte reactivity in vitro by a soluble factor secreted by explants of human decidua.—*Europ. J. Immunol.*, 1981, vol. 11, p. 849—851.
- Goldman A. S., Gazza C., Nichols B. L.* et al. Immunologic factors in human milk during the first year of lactation.—*J. Pediat.*, 1982, vol. 100, p. 563—567.
- Goodfellow C. F.* Maternal lymphocyte responses during normal and abnormal pregnancies, measured in vitro using composite trophoblast antigens and PHA.—*Immunol. Rev.*, 1983, vol. 75, p. 61—85.
- Goto S., Tomoda Y.* Immunohistology of the human chorionic villus in search of blood group A and B antigens, Rh-D antigens and human lymphocytic antigens.—*J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl. p. 65—65.

- Grossman Ch.* Regulation of the immune system by sex steroids. — *Endocr. Rev.*, 1984, vol. 5, p. 435—455.
- Gulino A., Screpanti J., Pasqualini J.* Estrogen and antiestrogen effects on different lymphoid cell populations in the developing fetal thymus of guinea pig. — *Endocrinology*, 1983, vol. 113, p. 1754—1762.
- Gupta G. S., Kinsky R. G., Duc H.* et al. Immunoregulatory role of placental glycoproteins in cellular and humoral immunity. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 29—29.
- Halsey J. F., Mitchell E., Meyer R.* et al. Metabolism of IgA in lactating mice: origins of IgA in milk. — *Europ. J. Immunol.*, 1982, vol. 12, p. 107—112.
- Handzel Z. T., Levin S., Dolphin Z.* et al. Immune competence of newborn lymphocytes. — *Pediatrics*, 1980, vol. 65, p. 491—496.
- Hasebe H., Irahara M., Kinoshita T.* et al. Tissue specificity of porcine zona pellucida antigens in pigs, monkeys and humans. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 23—24.
- Hayward A. R., Kurnek J.* Newborn T-cell suppression: early appearance maintenance in culture and lack of growth factor suppression. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 126, p. 50—53.
- Head J. P., Lande L. J. M., Billingham R. E.* Concerning the lymphocyte drainage of the uterus. — *J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 3, p. 58—69.
- Hegde U. C., Prabhu G., Shastry P. R.* Study of cell membrane markers of human X and Y spermatozoa using lecting and monoclonal antibodies to HLA and DR antigens. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 22.
- Heyner S., Hunziker R. D.* Oocytes react with antibody directed against H-2 but not Ia antigens. — *J. Immunogenet.*, 1981, vol. 8, p. 523—528.
- Hicks M. J., Jones J. F., Minnich L. L.* et al. Age-related changes in T- and B-lymphocyte subpopulations in the peripheral blood. — *Arch. Path. Lab. Med.*, 1983, vol. 107, p. 518—523.
- Hirahara F., Gorai I., Tonaka K.* et al. Cellular immunity in pregnancy: Subpopulations of T-lymphocytes bearing Fc receptors for IgG and IgM in pregnant women. — *Clin. exp. Immunol.*, 1980, vol. 41, p. 353—357.
- Ho P. C., Wong L. C., Lawton J. W. M., Ma H. K.* Mixed lymphocyte reaction in gestational trophoblastic disease: presence of a specific plasma inhibitor of the response to paternal alloantigens. — *J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 105—110.
- Holdstock G., Chastenay B. F., Krawitt E. L.* Effects of testosterone, oestradiol and progesterone on immune regulation. — *Immunology*, 1982, vol. 47, p. 449—457.
- Houwerde J., Tevelde E. R., Nefkens M. J.* et al. Immune complexes in skin of patients with preeclamptic toxemia. — *Lancet*, 1982, vol. 2, № 8294, p. 387—388.
- Hsi B. L., Yeh C. J. G., Faulk W. P.* Human amniochorion: tissue specific markers, transferrin receptors and histocompatibility antigens. — *Placenta*, 1982, vol. 3, p. 1—12.
- Hunziker R. D., Cambel Ph., Wegmann Th. G.* Absence of maternal cellular traffic across the placenta. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 31—31.
- Hurtenback V., Shearer G. M.* Germ cell-induced suppression in mice. Effect of inoculation of syngeneic spermatozoa on cell-mediated immune responses. — *J. exp. Med.*, 1982, vol. 155, p. 1719—1729.

- Irahara M., Hasebe H., Kinoshita T.* et al. Detection and quantitation of antibodies against human lymphocytes in sera of pregnant women by an improved radioimmunoassay. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 38.
- Isojima S., Koyama K., Hasegawa A.* et al. Distribution and role fertilization of porcine zona pellucida antigens analyzed by monoclonal antibodies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 8.
- Itoh K., Matsuzaki N., Izumi Y.* et al. Purification and characterization of immunosuppressive factor derived from human trophoblast and malignant cells. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 30—31.
- Jakobisiak M., Singh B., Saidman S.* et al. Anti-IgM antibodies may regulate the humoral response to paternal HLA antigens in pregnant women. — *Clin. Invest. Med.*, 1984, vol. 7, p. 123—125.
- Jenkins D. M., O'Neill M., Johnson P. M.* HLA-DR-positive cells in the human amniochorion. — *Immunol. Lett.*, 1983, vol. 6, p. 65—67.
- Jenkinson E. J., Owen V.* Ontogeny and distribution of MHC-antigens on mouse placental trophoblast. — *J. Reprod. Immunol.*, 1980, vol. 2, p. 173—181.
- Johnson P. M.* Immunohistological and serological applications of monoclonal antibodies to human trophoblast membrane antigens in pregnancy and malignancy. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 8—9.
- Johnson P. M., Bulmer J. N.* Uterine gland epithelium in human pregnancy often lacks detectable maternal MHC-antigens but does express fetal trophoblast antigens. — *J. Immunol.*, 1984, vol. 132, p. 1608—1610.
- Johnson M., Everitt B.* Essential reproduction. — Oxford: Blackwell, 1980.
- Johnson P. M., Barnes R. M. R., Hart C. A.* et al. Determinants of immunological responsiveness in recurrent spontaneous abortion. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 90—90.
- Jones W. R.* Immunological fertility regulation. — Oxford: Blackwell, 1982.
- Jones W. R., Chen C., Mudge T.* et al. Autoantibodies in infertile women. — *Fertil. Steril.*, 1981, vol. 35, p. 239—254.
- Kalra V. B., Sareen P. M., Mishra K. K., Kalra R.* Cellular immune status in toxemia of pregnancy. — *Ann. Nat. Acad. Med. Sci. (India)*, 1983, vol. 19, p. 163—169.
- Kay D. J., Boettcher B.* Comparison of spermagglutinating and spermimmobilising antibodies in men and women. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 46—47.
- Kamps W. A., Cooper M. D.* Development of lymphocyte subpopulations identified by monoclonal antibodies in human fetuses. — *J. Clin. Immunol.*, 1984, vol. 4, p. 36—39.
- Kearns M., Lala P. K.* Bone marrow origin of decidual cell in the pseudopregnant mouse uterus. — *J. exp. Med.*, 1982, vol. 155, p. 1537—1541.
- Kirkwood K. J., Bell S. C.* Inhibitory activity of supernatant from murine decidual cells on the mixed lymphocyte reaction. — *J. Embriol. exp. Morph.*, 1981, vol. 61, p. 207—219.
- Kiss S., Walcz E., Revesz T.* et al. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of small-for-gestational age and appropriate-for-gestational age preterm neonates. — *Acta paediat. Acad. Sci. hung.*, 1984, vol. 25, p. 291—297.

- Klein J., David Ch. S., Demant P.* et al. Revised rules for naming class I and II class antigenic determinants controlled by the mouse H-2 complex. — *Immunogenetics*, 1983, vol. 17, p. 597—598.
- Kochenour N. K., Beeson J. H.* The use of RH-immune globulin. — *Clin. Obstet. Gynec.*, 1982, vol. 25, p. 283—291.
- Koenig V., Muller N.* Occurrence and characterization of different types of cytotoxic antibodies in pregnant women in relation to parity and gestational age. — *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 1983, vol. 147, p. 671—675.
- Koib J.-P., Chaouat G.* Immunoregulation by placental of maternal anti-fetal reactions. — *Immunobiology*, 1982, vol. 163, p. 113—117.
- Lala P. K., McKenzie J. F. C.* An analysis of T-lymphocyte subsets in tumor-transplanted mice on the basis of Lyt-antigenic markers and function. — *Immunology*, 1982, vol. 47, p. 663—674.
- Lala P. K., Chatterjee-Hasrouni S., Kearns M.* et al. Immunobiology of feto-maternal interface. — *Immunol. Rev.*, 1983, vol. 75, p. 87—116.
- Law H. Y., Bodmer W. F., Mathews J. D., Skedd D. C. G.* — The immune response to vasectomy and its relation to the HLA system. — *Tiss. Antigens*, 1979, v. 14, p. 115—119.
- Lee C.-Y. G., Wong E., Teh C.-Z.* et al. Generation of mouse oocyte monoclonal isoantibodies: their effects and those of antisperm monoclonal antibodies on in vitro fertilization. — *J. Reprod. Immunol.*, 1985, vol. 7, p. 3—13.
- Leeming G., McLean J., Gibbs A. C. C.* Thymic and body weight during first syngeneic and allogeneic pregnancy in the rat, and the effects of strain difference. — *Thymus*, 1984, vol. 6, p. 153—156.
- Leino A., Hirvonen T., Soppi E.* Ontogeny of PGA and ConA responses in the human fetus. Effect of thymosin. — *Clin. Immunol. Immunopath.*, 1980, vol. 17, p. 547—555.
- Lubens R. G., Gard S. E., Soderberg-Warner M.* et al. Lectindependent T-lymphocyte and natural killer cytotoxic deficiencies in human newborns. — *Cell. Immunol.*, 1982, vol. 74, p. 40—53.
- Lucifero G., Dell'Osso A., Jannone A.* et al. Phenotypic immaturity of T- and B-lymphocytes in cord blood of full-term normal neonates. — *Biol. Neonat.*, 1983, vol. 44, p. 303—308.
- Luster M. J., Hayes H. T., Korach K.* et al. Estrogen immunosuppression is regulated through estrogenic responses in the thymus. — *J. Immunol.*, 1984, vol. 133, p. 110—116.
- McClelland D. B. L.* Antibodies on milk. — *J. Reprod. Fertil.*, 1982, vol. 65, p. 537—543.
- McIntyre J. A., Faulk W. P.* Trophoblast modulation of maternal allogeneic recognition. — *Proc. nat. Acad. Sci. (USA)*, 1979, vol. 76, p. 4029—4033.
- McIntyre J. A., Faulk W. P.* Allotypic trophoblast-lymphocyte cross-reactive (TLX) cell surface antigens. — *Hum. Immunol.*, 1982, vol. 4, p. 27—35.
- McIntyre J. A., McConnachie P. R., Taylor C. G., Faulk W. P.* Clinical, immunologic and genetic definitions of primary and secondary recurrent spontaneous abortions. — *Fertil. Steril.*, 1984, vol. 42, p. 849—855.
- Marcus Z. H.* The importance of male inhibitory material in human reproduction. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 95—95.
- Marcus Z. H., Hess E. V.* Seminal plasma as a local modulator of the immune response. — *Biol. Reprod.*, 1980, vol. 22, Suppl., p. 123—125.



- Maruhashi T., Kajino T., Kanazawa K.* et al. Dynamics in production of blocking antibodies in pregnant women and their partial characterization. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 44—44.
- Matejčić C., Rukavina D., Uremović V.* Inhibition of rosette formation by normal pregnancy sera and EPH gestosis sera. — *Period Biologorum*, 1983, vol. 85, Suppl., p. 297—299.
- Mathur S., Goust J.-M., Williamson H. O.* et al. Antigenic cross-reactivity of sperm and T-lymphocytes. — *Fertil. Steril.*, 1980, vol. 34, p. 469—476.
- Mathur S., Neff M. R., Williamson H. O.* et al. Sperm antibodies and histocompatibility in couples with early spontaneous abortions. — *Fertil. Steril.*, 1984, vol. 41, p. 21—22.
- Maire R., Tonder O.* Localization of the binding site on IgG for solubilized placental Fc $\gamma$ -receptor. — *Scand. J. Immunol.*, 1984, vol. 19, p. 75—78.
- Matsuzaki N., Itoh K., Izumi Y.* et al. Immunosuppressive T cell circuit induced by trophoblast-derived Fc-binding protein. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 30—31.
- Mecori T., Kinski R. G.* The ability of placental extracts to modulate a direct PFC response to SRBCS in mice. — *Immunol. Lett.*, 1983, vol. 6, p. 21—24.
- Mehrotra N. N.* Depression of T-cell activity during pregnancy. II. Identification of factors in pregnancy serum inhibiting T-cell reactivity. — *Indian J. exp. Biol.*, 1982, vol. 20, p. 366—371.
- Mettler L., Paul S., Paul R.* Specificity of human spermatozoal antigens and their interaction with monoclonal sperm antibodies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 16.
- Milisauskas V. K., Cudkowicz G., Nakamura I.* Role of suppressor cell in the decline of natural killer cell activity in estrogen-treated mice. — *Cancer, Res.*, 1983, vol. 43, p. 5240—5243.
- (*Miller I.*) *Миллер И.* Иммунитет человеческого плода и новорожденного; Пер. с чешск. — Прага: Мед. изд-во, 1983.
- Miyagawa Y., Komiyama A., Akabane T.* et al. Cord IgM antibody specific for killer T-cells: lymphocytotoxic human fetal antibody recognising maternal killer T-cells proliferating in the presence of interleukin 2. — *J. Immunol.*, 1982, vol. 129, p. 1993—1998.
- Montgomery B., Lala P. K.* Ontogeny of the MHC-antigens on human trophoblast cells during the first trimester of pregnancy. — *J. Immunol.*, 1983, vol. 131, p. 2348—2355.
- Mori M., Hayward A. R.* Phenotype and function of human milk monocytes as antigen presenting cells. — *Clin. Immunol. Immunopath.*, 1982, vol. 23, p. 94—99.
- Morisida M., Kawakami S., Iizuka R.* Immunobiological function of trophoblast to circulating maternal IgG antibodies: antibodies to blood group antigen and HLA. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 29—30.
- Morton H.* Early pregnancy factor: a link between fertilization and immunomodulation. — *Aust. J. Biol. Sci.*, 1984, vol. 37, p. 393—407.
- Morton H., Rolfe B. E., McNeill L.* et al. Early pregnancy factor: Tissues involved in its production in the mouse. — *J. Reprod. Immunol.*, 1980, vol. 2, p. 73—79.
- Mowbray J. F., Underwood J. L.* Immunology of abortion. — *Clin. Exp. Immunol.*, 1985, vol. 60, p. 1—7.

- Murphy D. B., Horowitz M. C., Homer R. J., Flood P. M.** Genetic, serological and functional analysis of I-J molecules. — *Immunol. Rev.*, 1985, vol. 83, p. 79—103.
- Nagaoki T., Miyawaki T., Ciozbaru R. et al.** Maturation of B-cell differentiation ability and T-cell regulatory function during child growth assessed in a nocardia water soluble mitogendriven system. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 126, p. 2015—2019.
- Nakamura K., Tanaka F., Fumita Y. et al.** The role of placental IgG in the regulation of anti-fetal immunity. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 28—29.
- Norcross N. L.** Secretion and composition of colostrum and milk. — *J. Amer. Vet. Med. Acad.*, 1982, vol. 181, p. 1057—1060.
- Novotny E. A., Raveche E. S., Sharrow S. et al.** Analysis of thymocyte subpopulations following treatment with sex hormones. — *Clin. Immunol. Immunopath.*, 1983, vol. 28, p. 205—217.
- O'Hearn M., Stites D. P.** Inhibition of murine suppressor cell function by progesterone. — *Cell. Immunol.*, 1983, vol. 77, p. 340—346.
- Ohkawa R., Ohkawa K., Ohhashi T. et al.** Immunoregulatory mechanism of normal and abnormal pregnancy in the aspect of complement. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, p. 45—46.
- Oksenberg J. R., Persitz E., Amar. A. et al.** Mixed lymphocyte reactivity non responsiveness in couples with multiple spontaneous abortions. — *Fertil. Steril.*, 1983, vol. 39, p. 525—529.
- Olding L. B., Johnsen S. A., Unander M. et al.** Strong suppression of maternal leucocytes by fetal T-lymphocytes in human pregnancy—one of nature's ways of prohibiting rejection of the fetus? — *Transplant. Proc.*, 1982, vol. 14, p. 146—148.
- Ong K. S., Grieco M. H., Goel L. et al.** Increased T-lymphocyte bearing Fc receptors for IgG in pregnancy. — *Int. Arch. Allergy.*, 1983, vol. 70, p. 220—224.
- Oseroff A., Okada Sh., Strober S.** Natural suppressor cells found in the spleen of neonatal mice and adult mice given total lymphoid irradiation express the null surface phenotype. — *J. Immunol.*, 1984, vol. 132, p. 101—110.
- O'Sullivan M. J., McIntyre J. A., Prior M. et al.** Identification of human trophoblast membrane antigens in maternal blood during pregnancy. — *Clin. exp. Immunol.*, 1982, vol. 48, p. 279—287.
- Palacios R., Martinez-Maza O.** Is the Fc receptor on human T-lymphocytes a «negative signal receptor»? — *J. Immunol.*, 1982, vol. 129, p. 2479—2482.
- Papola F., Valeri M., Piazza A. et al.** Sottopopolazioni T-linfocitarie dopo aborto spontaneo. — *G. ital. ostet. ginec.*, 1985, vol. 7, p. 465—468.
- Parmely M. J., Williams S. B.** The role of fetal leukocytes in the regulation of anti-fetal immunity. — *Transplant. Proc.*, 1981, vol. 13, p. 1260—1263.
- Pasternak G., Schlott B., Reinhofer J. et al.** Reactivity in neoplasia, preneoplasia and pregnancy of lymphocytes against fetal extracts; cross-reactions between man and mouse. — *J. nat. Cancer Inst. (Wash.)*, 1982, vol. 69, p. 997—1004.
- Pavia C. S., Stites D. P.** Immunocompetence of murine placental lymphocytes. In vitro response to mitogens and to allogeneic cells. — *Immunobiology*, 1981, vol. 160, p. 228—240.
- Persellin R. H., Rhodes J.** Inhibition of human monocyte Fc receptor and HLA-DR antigen expression by pregnancy alpha-2-glycoprotein. — *Clin. exp. Immunol.*, 1981, vol. 46, p. 350—354.

- Persitz E., Amar A., Oksenberg J.* et al. Specific depressed mixed lymphocyte reaction in couples with recurrent abortions. — In: Immunology of Reproduction. Varna—Sofia, 1982, p. 428—431.
- Phuc L. H., Papiernik M., Dardenne M.* Thymic involution in pregnant mice. II. Functional aspects of the remaining thymocytes. — Clin. exp. Immunol., 1981, vol. 44, p. 253—261.
- Phuc L. H., Papiernik M., Berrih S.* et al. Thymic involution in pregnant mice. I. Characterization of the remaining thymocyte subpopulation. — Clin. exp. Immunol., 1981a, vol. 44, p. 247—252.
- Pignata C., Nespoli L., Maccario R.* et al. Colostral T-lymphocytes detected by intracytoplasmic and membrane markers. — Biol. Neonat., 1982, vol. 42, p. 217—221.
- Power D. A., Gatto G. R., Mason R. J.* et al. The fetus as an allograft: evidence for protective antibodies to HLA-linked paternal antigens. — Lancet, 1983, vol. 2, № 8352, p. 701—704.
- Rachmann F.* Immunological studies of mouse decidual cells: studies of cells in artificially induced decidua. — J. Reprod. Immunol., 1981, vol. 3, p. 41—48.
- Raghupathy R., Singh B., Wegmann T. G.* The fate of antipaternal H-2 antibodies bound to allogeneic placenta in vivo. — Proc. Can. Fed. Biol. Soc., 1982, vol. 25, p. 26—34.
- Raghupathy R., Singh B., Leigh J. B.* et al. The ontogeny and turnover kinetics of paternal H-2K antigenic determinants on the allogeneic murine placenta. — J. Immunol., 1981, vol. 127, p. 2074—2079.
- Rayfield L. S., Brent L., Rodeck C. H.* Development of cell-mediated lympholysis in human fetal blood lymphocytes. — Clin. exp. Immunol., 1980, vol. 42, p. 561—570.
- Rebar R. W.* The thymic gland and reproduction: do thymic peptides influence the reproductive lifespan in females? — J. Amer. Geriatr. Soc., 1982, vol. 30, p. 603—606.
- Redman C. W. G., Stirrat G. M., Sunderland C. A.* The expression of class I MHC-antigens by human non-villous trophoblast. — J. Reprod. Immunol., 1983, vol. 5, Suppl., p. 64—64.
- Roberts S. A., Wincup G., Harries D. A.* Mucosal receptor for IgA in the breast-fed neonate. — Early Hum. Dev., 1980, vol. 4, p. 161—166.
- Rocklin R. E., Kitzmiller J. L., Garovoy M. R.* Maternal-fetal relation. II. Further characterization of an immunologic blocking factor that develops during pregnancy. — Clin. Immunol. Immunopath., 1982, vol. 22, p. 305—313.
- Roda C. F., Amengual M. J., Miguet M.* et al. The effect of pregnancy serum and purified of alfa-foetoprotein (AFP) in T- and B-lymphocyte in vitro proliferation. — Biol. Reprod., 1983, vol. 8, p. 49—53.
- Rodriguez M. A., Bankhurst A. D., Ceuppens J. L., Williams R. C.* Characterisation of the suppressor cell activity in human cord blood lymphocytes. — J. clin. Invest., 1981, vol. 68, p. 1577—1585.
- Rote N. S., Caudle M. R., Urry R. L.* et al. The autoimmune nature of anti-zona pellucida antibody in infertility and chronic abortions. — J. Reprod. Immunol., 1983, vol. 5, Suppl., p. 53—54.
- Ruben F. H., Holzman I. R., Fireman Ph.* Responses of lymphocytes from human colostrum or milk to influenza antigens. — Amer. J. Obstet. Gynec., 1982, vol. 143, p. 518—522.
- Rubin H. R., Sorensen R. V., Polmar S. H.* Lymphocyte responses of human neonates to bacterial antigens. — Cell. Immunol., 1981, vol. 57, p. 307—315.

- Saiton Sh., Nakanishi A., Ichijon M.** Immune complex levels and complement levels in spontaneous abortions and normal pregnancies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 91—92.
- Sano M., Miake Sh., Yoshikai Y., Nomoto K.** Existence of suppressor cells in the spleen of allogeneic and syngeneic primiparous pregnant mice. — *J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 6, p. 239—251.
- Santamaria M., Festenstein H., Pena J.** Suppression de la respuesta celular a alloantigenos per macrofagos neonatos de ratones CBA/H. — *Immunologia*, 1983, vol. 2, p. 165—169.
- Sargent I. L., Redman C. W. G.** Immunohistological studies of placental immunoglobulins in normal and preeclamptic pregnancy using monoclonal antibodies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 27—28.
- Savilahti E., Järvenpää A. L., Rähä N.** Serum immunoglobulins in preterm infants: Comparison of human milk and formula feeding. — *Pediatrics*, 1983, vol. 72, p. 312—316.
- Scott J. R.** Immunologic aspects of recurrent spontaneous abortion. — *Fertil. Steril.*, 1982, vol. 38, p. 301—302.
- Seeling L. L., Billingham R. E.** Concerning the natural transplantation of maternal lymphocytes via milk. — *Transplant. Proc.*, 1981, vol. 13, p. 1245—1249.
- Semensato G., Piovesan A., Amodori G. et al.** T-cell immune function in newborn infants. — *Biol. Neonat.*, 1980, vol. 37, p. 8—14.
- Sethi K. K., Brandis H.** IgG-Fc-binding receptors on spermatozoa. — *Europ. J. Immunol.*, 1980, vol. 10, p. 964—965.
- Simpson E.** The role of H-Y as a minor transplantation antigens. — *Immunol. Today*, 1982, vol. 3, p. 97—99.
- Sinha D., Wells M., Faulk W. P.** Immunological studies of human placentae: complement components in preeclamptic chorionic villi. — *Clin. exp. Immunol.*, 1984, vol. 56, p. 175—184.
- Slapsys R. M., Clark D. A.** Active suppression of host-versus-graft reaction in pregnant mice. IV. Local suppressor cells in decidua and uterine blood. — *J. Immunol. Reprod.*, 1982, vol. 4, p. 355—364.
- Smart Y. C., Cripps A. W., Clancy R. L. et al.** Detection of an immunosuppressive factor in human preimplantation embryo cultures. — *Med. J. Aust.*, 1981, vol. 1, p. 78—82.
- Smith G.** In vitro susceptibility of mouse placental trophoblast to cytotoxic effector cells. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 39—39.
- Smith G., Chappell F.** Cytotoxic cell populations in normal and alloimmunized pregnant mice. — *Immunology*, 1984, vol. 52, p. 49—54.
- Smith R. N., Huston D. R., Rich R. R.** Primary cell-mediated lympholysis response to a maternal transmitted antigen. — *J. exp. Med.*, 1982, vol. 156, p. 1866—1871.
- Söderström K. O., Sege K., Anderson L. C.** Expression of MHC-antigens during spermatogenesis in the rat. — *J. Immunol.*, 1982, vol. 128, p. 1671—1675.
- Sonoda Sh., Vashiki Sh., Takami Sh. et al.** Affinity purification of HLA antigens by allospecific antibodies isolated from human placenta. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 34—35.
- Sridawa V., Pacini F., Yang S. et al.** Decreased levels of helper T-cell, a possible cause of immunodeficiency in pregnancy. — *New Engl. J. Med.*, 1982, vol. 307, p. 352—357.

- Stiehm E. R., Schtein M. B., Steeg P. S.* et al. Deficient DR antigen expression of human cord blood monocytes: reversal with lymphokines. — *Clin. Immunol. Immunopath.*, 1984, vol. 30, p. 430—436.
- Stites D. P., Sitteri P. K.* Steroids as immunosuppressants in pregnancy. — *Immunol. Rev.*, 1983, vol. 75, p. 117—138.
- Suciu-Foca N., Kohler H., King D. W.* Anti-idiotypic autoimmunity — a necessity for species survival. — *Surv. Immunol. Res.*, 1984, vol. 3, p. 311—318.
- Sunderland C. A., Redman C. W. G., Stirrat G.* Monoclonal antibodies to human syncytiotrophoblast. — *Immunology*, 1981, vol. 43, p. 541—544.
- Sunderland C. R., Redman G. W. G., Stirrat G. M.* HLA, A-, -B and -C antigens are expressed on nonvillous trophoblast of the early human placenta. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 127, p. 2614—2615.
- Szekeeres I., Fabian G., Pacsa A. S.* et al. Dialyzable serum factor after cellular immunity in pregnancy. — *Experientia*, 1981, vol. 37, p. 515—516.
- Tachi Ch., Tachi S.* Decidua as a possible immunological barrier during gestation in muridae rodents. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 32—33.
- Tallon D. F., Darach C. D. J., O'Dwyer E. M., Creally J. F.* Circulating lymphocyte subpopulations in pregnancy: a longitudinal study. — *J. Immunol.*, 1984, vol. 132, p. 1784—1787.
- (*Talwar G. R.*) *Талвар Г.* Иммунология концентрации: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1983. — 192 с.
- Taniguchi N.* Immune status in the human neonate. — *Asian. Med. J.*, 1983, vol. 26, p. 845—857.
- Taylor C., Faulk W. P.* Prevention of recurrent abortion with leucocyte transfusion. — *Lancet*, 1981, vol. 2, p. 68—70.
- Teodorczyk-Injeyan J. A., Jewett M. A., Falk R. E.* Modulation of the immune response to teratocarcinoma in mice sensitized by sperm antigens. — *J. Immunol. Reprod.*, 1982, vol. 4, p. 67—78.
- Thyphronitis G., D'Almeida M., Voisin G. A.* Lymphocyte populations and subpopulations in the blood of infertile men. — *J. Immunol. Reprod.*, 1982, vol. 4, p. 95—96.
- Toder V., Blank M., Amit S.* et al. Suppression of T-lymphocytes response by trophoblastic cells. — *Amer. J. Reprod. Immunol.*, 1984, vol. 5, p. 99—100.
- Toder V., Nebel L., Erland H.* et al. Studies of natural killer cells in pregnancy. II. The immunoregulatory effect of pregnancy substances. — *J. Clin. Lab. Immunol.*, 1984, vol. 14, p. 129—133.
- Tongio M. M., Werneburg B., Mayer S.* Transfer of anti-HLA-DR antibodies from the mother to the child. Are DR antigens expressed on the placenta? — *Tiss. Antigens.*, 1983, vol. 22, p. 24—28.
- Tosato G., Mograth J. T., Koski J. R.* et al. B-cell differentiation and immunoregulatory T-cell function in human cord blood lymphocytes. — *J. clin. Invest.*, 1980, vol. 66, p. 383—388.
- Tsunoda Y., Sugie T.* Effect of zona antibody on fertilization and implantation in serum mammals. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 24—25.
- Tung K. S. K.* Autoimmunity of the testis. — In: *Immunological Aspects of Infertility and Fertility. Regulation/Eds. D. S. Dhindsa, G. F. B. Shumacher.* New York, 1980, p. 33—92.
- Umesaki N., Kawabata M., Sako H.* et al. Role of macrophage in the immunity of pregnancy. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 42—42.

- Unander A. M., Olding L.* Ontogeny and postnatal persistence of a strong suppressor activity in men. — *J. Immunol.*, 1981, vol. 127, p. 1182—1186.
- Vanderbeeken Y., Vlieghe M. P., Delespesse G.* et al. Characterization of immunoregulatory T-cells during pregnancy by monoclonal antibodies. — *Clin. exp. Immunol.*, 1982, vol. 48, p. 118—120.
- Vidovič D., Klein J., Nagy L. A.* The role of T-cell subset in the generation of secondary cytolytic responses in vitro against class I and class II MHC-antigens. — *J. Immunol.*, 1984, vol. 132, p. 1113—1117.
- Wachtel S. S., Müller V.* On the nature of H-Y antigen. Concluding remarks. — *Differentiation*, 1983, vol. 23, p. S121—S123.
- Waltrez W. C., Baker D. A., Pullis C. K.* et al. Alterations in lymphocyte subpopulations during human pregnancy. — *Transplantation*, 1982, vol. 34, p. 307—308.
- Weetman A. P., McGregor A. M., Smith B. R.* et al. Sex hormones enhance immunoglobulin synthesis by human peripheral blood lymphocytes. — *Immunol. Lett.*, 1981, vol. 3, p. 343—346.
- Wegmann T. G.* The presence of class I MHC-antigens at the maternal-foetal interface and hypothesis concerning the survival of the murine fetal allograft. — *J. Reprod. Immunol.*, 1981, vol. 3, p. 267—270.
- Wegman T. G.* Fetal protection against abortion: is it immunosuppression or immunostimulation? — *Ann. Immunol.*, 1984, vol. D135, p. 307—309.
- Werneburg B., Tongio M. M., Mayer S.* Fetal immunization against the mother's lymphocytes. A report of two cases. — *Vox sang.*, 1984, vol. 46, p. 107—110.
- Wright L. J., Feinstein A., Heep R. B.* et al. Progesterone monoclonal antibodies blocks pregnancy in mice. — *Nature (London)*, 1982, vol. 295, p. 415—417.
- Yabushita H., Sawagushi K., Nakakita T.* et al. Immunosuppressive factors in early pregnancies associated with antibody dependent cell-mediated cytotoxicity. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 44—45.
- Yamashita K., Mure K., Shimizu T.* Lack of HLA (ABC and DR) antigens expression on the normal and abnormal (hydatiform mole and choriocarcinoma) trophoblastic cells. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, Suppl., p. 65—65.
- Yurewicz E. C., Sacco A. G., Subramanian M. G.* Isolation and preliminary characterization of a purified pig zone antigen from porcine oocytes. — *Biol. Reprod.*, 1983, vol. 29, p. 511—523.
- Zola M., Moore H. A., Bradkey J.* et al. Lymphocyte subpopulations in human cord blood: analyses with monoclonal antibodies. — *J. Reprod. Immunol.*, 1983, vol. 5, p. 311—317.

## СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АЗКЦ	— антителозависимая клеточная цитотоксичность
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АЛС	— антилимфоцитарная сыворотка
АМГФ-альфа <sub>2</sub>	— микроглобулин фертильности
АОК	— антителообразующие клетки
Гибриды F <sub>1</sub>	— гибриды первого поколения
H-гены	— локусы, антигены тканевой совместимости
Е-РОК	— реакция розеткообразования с эритроцитами барана (ЭБ)
ЕАС—РОК	— реакция розеткообразования с ЭБ, антисывороткой и комплементом
ЕК	— естественные киллеры
ФГА	— фитагемагглютнин
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон
ФРБ	— фактор ранней беременности
ИЛ	— интерлейкин
КОЛ	— клеточноопосредованный лизис (CTL)
КонА	— конканавалин А
ЛГ	— лютеинизирующий гормон
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа
МНС	— главный комплекс гистосовместимости
МИФ	— миграцию (лейкоцитов, макрофагов) ингибирующий фактор
МЕ	— международные единицы
ПАФ	— полный адъювант Фрейнда
ПЗ	— прозрачная зона (zona pellucida) яйцеклетки
ПЛЧ	— плацентарный лактоген человека
РРД	— туберкулин
РWM	— митоген лаконоса, стимулирующий В-лимфоциты
РБТ	— реакция бласттрансформации
РСК	— реакция связывания комплемента
РППЛ	— реакция подавления прилипания лейкоцитов
РТМЛ	— реакция торможения миграции лейкоцитов
РТПХ	— реакция трансплантата против хозяина
РФ	— рилизинг-фактор (гормон) гипоталамуса
СКЛ	— смешанная культура лимфоцитов
SCA	— скаферрин, поверхностный антиген сперматозондов
ТБГ	— трофобластический бета-гликопротеин
ФАЛ	— фактор, активирующий лимфоциты
ХГТ	— хорионический гонадотропин
ЭАО	— экспериментальный аллергический орхит

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	3
<b>Глава 1. Иммунная система . . . . .</b>	<b>8</b>
1.1. Антигены тканевой совместимости . . . . .	8
1.2. Клеточный иммунитет . . . . .	18
1.3. Гуморальный иммунитет . . . . .	24
1.4. Растворимые медиаторы иммунитета . . . . .	29
1.5. Макрофаги . . . . .	32
1.6. Модельные исследования <i>in vivo</i> . . . . .	35
<b>Глава 2. Иммунология сперматозоидов . . . . .</b>	<b>39</b>
2.1. Дифференцировка полов . . . . .	39
2.2. Сперматогенез . . . . .	41
2.3. Эндокринная регуляция сперматогенеза . . . . .	50
2.4. Антигены сперматозоидов . . . . .	54
2.5. Антитела к сперматозоидам . . . . .	64
2.6. Клеточно-опосредованный иммунитет . . . . .	72
2.7. Иммуносупрессорные свойства спермы . . . . .	73
<b>Глава 3. Иммунология яйцеклеток . . . . .</b>	<b>77</b>
3.1. Оогенез . . . . .	77
3.2. Эндокринная регуляция оогенеза . . . . .	83
3.3. Антигены яичников и фолликулярной жидкости . . . . .	87
3.4. Антигены яйцеклеток . . . . .	88
3.5. Антигены прозрачной зоны . . . . .	89
3.6. Антитела к прозрачной зоне . . . . .	92
3.7. Полиэндокринные аутоиммунные реакции . . . . .	97
<b>Глава 4. Местный иммунитет репродуктивного тракта . . . . .</b>	<b>99</b>
4.1. Изучение локального иммунитета . . . . .	99
4.2. Гормоны и местный иммунитет . . . . .	101
4.3. Антитела в семенной плазме . . . . .	104
4.4. Лимфоидный аппарат женского репродуктивного тракта . . . . .	105
4.5. Иммунология секреторных жидкостей . . . . .	107
4.6. Локальный синтез антител . . . . .	111
4.7. Местный клеточный иммунитет . . . . .	115
4.8. Иммунологический статус матки . . . . .	117
<b>Глава 5. Иммунология оплодотворения . . . . .</b>	<b>123</b>
5.1. Комплексная регуляция гонадотропными гормонами . . . . .	123
5.2. Иммунологические взаимоотношения гамет при оплодотворении . . . . .	128
5.3. Иммунология доимплантационного периода . . . . .	133
5.4. Иммунология имплантации . . . . .	137
5.5. Фактор ранней беременности . . . . .	141
5.6. Децидуальная реакция . . . . .	142
5.7. Внутриматочные секреты . . . . .	146
5.8. Вилочковая железа при беременности . . . . .	147
<b>Глава 6. Иммунология плаценты . . . . .</b>	<b>149</b>
6.1. Эволюция плаценты . . . . .	149
6.2. Гормональные функции плаценты . . . . .	155
6.3. Хорионический гонадотропин . . . . .	158
6.4. Антигены плаценты . . . . .	165
6.5. Рецепторы к IgG . . . . .	175



6.6. Иммунологические свойства клеток и экстрактов плаценты	178
6.7. Общие антигены трофобласта и опухолей . . . . .	182
<b>Глава 7. Супрессорный иммунитет при беременности</b> . . . . .	187
7.1. Неспецифическая иммуносупрессия . . . . .	187
7.2. Супрессорные лимфоциты при беременности . . . . .	188
7.3. Растворимые блокирующие факторы . . . . .	193
7.4. Местные иммуносупрессорные механизмы . . . . .	198
7.5. Иммунология и иммунотерапия самопроизвольных абортов	201
<b>Глава 8. Иммунологическое распознавание матерью антигенов плода</b> . . . . .	212
8.1. Экспериментальный анализ антигенного полиморфизма	212
8.2. Трансплацентарный переход клеток . . . . .	217
8.3. Эритроцитарная сенсibilизация при беременности . . . . .	219
8.4. Лейкоцитарная аллосенсibilизация матери . . . . .	223
8.5. Феномен супрессии аллотипа и идиотипа . . . . .	229
8.6. Клеточный иммунитет к антигенам плода . . . . .	231
8.7. Изменения субпопуляций лимфоцитов . . . . .	235
8.8. Токсикозы беременности и дефект недостаточности иммунного распознавания . . . . .	240
<b>Глава 9. Иммунобиология лактации</b> . . . . .	245
9.1. Участие молозива и молока в создании пассивного иммунитета новорожденных . . . . .	245
9.2. Иммуноглобулины молозива и молока . . . . .	249
9.3. Патологические реакции, вызываемые молозивом и молоком . . . . .	251
9.4. Клеточные реакции, связанные с молоком . . . . .	255
<b>Глава 10. Иммунитет новорожденных</b> . . . . .	258
10.1. Онтогенез лимфоидных клеток и органов . . . . .	258
10.2. Клеточный иммунитет новорожденных . . . . .	261
10.3. Супрессорный иммунитет новорожденных . . . . .	265
10.4. Гуморальный иммунитет новорожденных . . . . .	266
10.5. Иммунитет недоношенных детей . . . . .	269
<b>Заключение</b> . . . . .	272
<b>Список литературы</b> . . . . .	286

180304

Монография

**ВАЛЕНТИН ИВАНОВИЧ ГОВАЛЛО**  
**Иммунология репродукции**

Зав. редакцией Ю. В. Махотин. Редактор С. Д. Крылов. Художественный редактор Т. К. Винокурова. Художник Т. К. Винокурова. Технический редактор Н. М. Гаранкина. Корректор И. С. Парфенова  
ИБ № 4820

Сдано в набор 19.06.86. Подписано к печати 03.12.86. Т-21536. Формат бумаги 84×108<sup>1/2</sup>. Бумага тип. № 1. Гарнитура литерат. Печать высокая. Усл. печ. л. 15,96. Усл. кр.-отт. 15,96. Уч.-изд. л. 17,84. Тираж 9000 экз. Заказ № 361. Цена 1 р. 70 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», 101000, Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли, 113105, Москва, Нагатинская ул., д. 1.

