Anna Miskova

AUGŠANAS FAKTORU, GĒNU UN TO PRODUKTU SADALĪJUMS I TRIMESTRĪ CILVĒKA EMBRIJU IMPLANTĀCIJAS GADĪJUMOS OLVADĀ UN DZEMDĒ

Promocijas darbs
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – morfoloģija

Darba zinātniskie vadītāji:
Dr. med., Dr habil med., profesore Māra Pilmane
Dr med., asociētā profesore Dace Rezeberga

Rīga, 2012

Projekts veikts ar ESF projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa Universitātē" atbalstu.

ANOTĀCIJA

Šajā promocijas darbā ir aplūkoti un analizēti ļoti nozīmīgi procesi, kas attiecas uz grūtniecības iestāšanās iespējamību un tās saglabāšanu pēc embrija implantācijas ar turpmāko trofoblasta invāziju un funkcionējošas placentas formēšanos. Iespējams, ka blastocistas implantācijas vieta ir atkarīga no izdalīto augšanas faktoru mijiedarbības ar mātes audiem, kas nosaka tiešu implantācijas lokalizāciju un turpmāko embrija attīstību.

Augšanas faktori ir nozīmīgi šūnu proliferācijas, migrācijas un diferenciācijas procesos, bet pareiza noteiktu gēnu ekspresija vai „klusēšana" koordinē cilvēka embrija attīstību. Dažādas implantācijas gadījumos augšanas un transkripcijas faktoru sadale ir maz izpētīta, nav noteikta faktoru nozīme olvada grūtniecības morfopatoģenēzē.

Dotā darba mērķis bija izpētīt dažādu augšanas faktoru, gēnu un to produktu ekspresijas sadalījumu cilvēka embrija, olvada un endometrija audos pirmajā trimestrī, kā arī augšanas faktoru un gēnu nozīmi nepareizas blastocistas implantācijas patoģenēzē.

Darbā tika lietota biotīna – streptavidīna imūnhistoķīmijas metode augšanas faktoru, to receptoru, Msx2, BARX1 un cilvēka defensīna beta 2 sadalījuma noteikteikšanai audos. Apoptozes noteikšanai tika izmantota *TUNEL* metode. Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai tika lietota puskvantitatīvās skaitīšanas metode. Iegūto datu puskvantitatīvai izvērtēšanai tika izmantotas neparametriskās statistikas metodes (ar *SPSS Statistic 17* datorprogrammas palīdzību): Manna−Vitnija (*Mann−Whitney*) tests. Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p<0,05$.

Promocijas darbs veikts ar ESF nacionālās programmas „Atbalsts doktorantūras un pēc doktorantūras pētījumiem medicīnas zinātnēs" atbalstu.

SUMMARY

This promotion work deals with the basic points of pregnancy existence, such as embryo implantation, further trophoblast invasion and formation of placenta. It could be possible that fertilized oocyte implantation depends on relation between embryo and endometrial or fallopian tube cells.

Molecular signalling at the time of blastocyst nidation could probably be the key to explain normal and abnormal implantation. Growth factors are important for regulation of a variety of cellular processes and typically act as signalling molecules between the cells. The role of growth factors in aetiology of ectopic pregnancy has not been yet clearly established.

The aim of this study was to analyze the role of growth factors, their receptors and some genes in human embryo, endometrial and oviduct tissues in a case of uterine or tubal pregnancy.

We used biotin–streptavidin method for determination of growth factors and their receptors, Barx1, Msx2 and TUNEL for evaluation of apoptotic cells. The distribution of these factors was detected semi quantitatively. The data was analyzed by nonparametric rank analysis with SPSS Statistic 17 software. A Mann-Whitney U test was used as appropriate for evaluation of significant differences. A p value <0.05 was considered as statistically significant.

The Promotion work has been elaborated with ESF project support “Support for doctoral and post-doctoral investigations Riga Stradins University”

SATURS

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI 7

IEVADS 9

1. LITERATŪRAS APSKATS 12

1.1. Embrija implantācija un to ietekmējošie faktori 12

1.1.1. Embrijs kā implantācijas objekts 13

1.1.2. Endometrijs – implantācijas vide 14

1.2. Mūsdienīga ārpusdzemdes grūtniecības patoģenēzes izpratne 16

1.2.1. Ārpusdzemdes grūtniecības riska faktori 17

1.2.2. Molekulārie mehānismi olvadā 18

1.2.3. *Conceptus* pārvietošanās olvadā 20

1.2.4. Olvada šūnu sastāvs 21

1.3. Augšanas faktori un to receptori 22

1.3.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1 22

1.3.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1 23

1.3.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75 24

1.3.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors 25

1.3.5. Hepatocītu augšanas faktors 26

1.4. Inervācija un centrālās nervu sistēmas attīstība 27

1.4.1. Sinaptofizīns 27

1.4.2. Hromogranīni A un B 27

1.4.3. Glijas fibrillārais skābais proteīns 27

1.4.4. Proteīngēnviela 9.5 28

1.5. Citokeratīni 5 un 13 28

1.6. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija 29

1.6.1. BARX1 gēns 29

1.6.2. Muskuļu segmentu homeoboksa gēns 2 30

1.7. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze 30

1.8. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas 31

2. MATERIĀLI UN METODES 33

2.1. Pētāmais materiāls 33

2.1.1. Pētāmie audi 33

2.1.2. Olvada audi ārpusdzemdes grūtniecības operācijas materiālā 33

2.1.3. Ķirurģiskā aborta operācijas materiāls 35
2.1.4. Embrija audi ķirurģiskā aborta operācijas materiālā 36
2.2. Morfoloģiskās metodes 37
2.2.1. Audu fiksācija 37
2.2.2. Rutīnās krāsošanas metodes 37
2.2.3. Biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmijas metode un reaktīvi 37
2.2.4. *TUNEL* metode 39
2.2.5. Datu apstrādes metodes 39
3. REZULTĀTI 41
3.1. Olvada grūtniecības pacienšu raksturojums 41
3.2. Dzemdes grūtniecības pacienšu raksturojums 44
3.3. Rutīnas krāsošanas metodes 45
3.3.1. Ektopiskās grūtniecības audu morfoloģiskais raksturojums 45
3.3.2. Dzemdes grūtniecības audu morfoloģiskais raksturojums 45
3.3.3. Embrija audu raksturojums 46
3.4. Olvada grūtniecības augšanas faktori un to receptori 47
3.4.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1 47
3.4.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1 47
3.4.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75 48
3.4.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors 49
3.4.5. Hepatocītu augšanas faktors 50
3.5. Olvada grūtniecības inervācija: proteīngēnviela 9.5 51
3.6. Olvada grūtniecības audu deģenerācijas enzīmi 52
3.7. Olvada grūtniecības programmētā šūnu nāve 53
3.8. Olvada grūtniecības antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas 54
3.9. Dzemdes grūtniecības augšanas faktori un to receptori 55
3.9.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1 55
3.9.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1 56
3.9.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75 57
3.9.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors 58
3.9.5. Hepatocītu augšanas faktors 59
3.10. Dzemdes grūtniecības inervācija: proteīngēnviela 9.5 59
3.11. Dzemdes grūtniecības programmētā šūnu nāve 60
3.12. Dzemdes grūtniecības antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas 61

3.13. Augšanas faktori un to receptori embrija audos 62
3.13.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1 62
3.13.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1 63
3.13.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75 64
3.13.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors 65
3.13.5. Hepatocītu augšanas faktors 66
3.14. Inervācija un centrālās nervu sistēmas attīstība 67
3.14.1. Sinaptofizīns 67
3.14.2. Hromogranīni A un B 68
3.14.3. Glijas fibrillārais skābais proteīns 68
3.14.4. Proteīngēnviela 9.5 68
3.15. Citokeratīni 5 un 13 embrija audos 68
3.16. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija embriju audos 69
3.17. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze embriju audos 70
3.18. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas embriju audos 71
3.19. Statistiskā datu analīze 72
4. DISKUSIJA 75
4.1. Pētījuma populācija un olvada grūtniecības riska faktori 75
4.2. Augšanas faktori, to receptori dzemdes un olvada implantācijas gadījumos 76
4.3. Programmētā šūnu nāve implantācijas vietā 82
4.4. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas implantācijas vietā 83
4.5. Augšanas faktori un to receptori embrija audos 83
4.6. Inervācija un centrālās nervu sistēmas attīstība 87
4.7. Citokeratīni 5 un 13 embrija audos 88
4.8. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija embrija audos 89
4.9. Programmētā šūnu nāve embrija audos 91
4.10. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas embrija audos 92
SECINĀJUMI 94
DARBA NOVITĀTE 95
PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU 96
IZMANTOTĀ LITERATŪRA 101
PIELIKUMS 133

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

Saīsinājums	Nosaukums angļu valodā	Tulkojums latviešu valodā
AFP	alpha-fetoprotein	alfa-fetoproteīns
BARX1	BARX1 homeobox gene	homeoboksa barx1 gēns
bFGF	basic fibroblast growth factor	bāziskais fibroblastu augšanas faktors
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	cikliskais adenozīnamonofosfāts
CB	canabioid (endogenous)	kanabioīds (endogēnais)
CNS	central nerve system	centrālā nervu sistēma
conceptus	the product of the union of oocyte and spermatozoon at any stage of development including	ieligzdenis
DNS	dezoxiribonucleic acid	dezoksiribonukleīnskābe
EGF	epidermal growth factor	epidermālais augšanas faktors
FGFR1	fibroblast growth factor receptor1	fibroblastu augšanas faktora 1 receptors
FSH	follicle stimulating hormone	folikulu stimulējošais hormons
GFAP	glial fibrillary acidic protein	glijas fibrillārais skābais proteīns
HB-EGF	heparin binding epidermal growth factor	heparīnu piesaistošais augšanas faktors
HGF	hepatocyte growth factor	hepatocītu augšanas faktors
hCG	human chorionic gonadotropine	cilvēka horiona gonadotropīns
HOXA10	homeobox protein A 10	*homeobox* olbaltumviela 10
hPL	human placental lactogen	cilvēka placentārais laktogēns
ICC	interstitial cells of Cajal	intersticiālās kajala šūnas
IGF-1	insulin-like growth factor 1	insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1
IGF-1R	insulin-like growth factor 1 receptor	insulīnam līdzīgā augšanas faktora 1 receptors
IGFBP-1	insulin-like growth factor 1 binding protein	insulīnam līdzīgā augšanas faktora 1 piesaistes olbaltumviela
IIS	pelvic inflammatory disease	iegurņa iekaisuma slimība
IL	interleukin	interleikīns
iNOS	inducible nitric oxide synthase	inducējama slāpekļa oksīda sintāze
IUS	intrauterine device	intrauterīna spirāle
IVF	*in vitro* fertilization	ārpusdzemdes apaugļošana
LIF	leukaemia inhibiting factor	leikēmiju inhibējošais faktors

tabulas nobeigums

Saīsinājums	Nosaukums angļu valodā	tulkojums latviešu valodā
MMP	matrix metalloproteinase	matrices metaloproteināze
Msx2	muscle segment homeobox 2 gene	muskuļu segmentu homeoboksa gēns 2
NGF	basic nerve growth factor	bāziskais nervu augšanas faktors
NGFR	nerve growth factor receptor	nervu augšanas faktora receptors
PAPP-1	pregnancy associated paraproteine A	ar grūtniecību saistītais paraproteīns a
PDGF	platelet derived growth factors	trombocītu atvasinātais augšanas faktors
PGP 9.5	protein gene product 9.5	proteīngēnviela 9.5
PNS	peripheral nerve system	perifērā nervu sistēma
PROKR	prokinetocine receptor	prokinetocīnu receptors
Sox17	SRY (sex determining region Y)-box 17 gene	sox17 (dzimumnoteicošā rajona) gēns
STS	sexually transmitted disease	seksuāli transmisīva saslimšana
TGF beta 1	transforming growth factor-beta 1	transformējošais augšanas faktors beta 1
TNF alfa	tumour necrosis factor alpha	audzēja nekrozes faktors alfa
TUNEL	terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling	deoksinukleotidiltransferāzes mediēta dns terminālo 3`- galu marķēšana ar deoksiuridinfosfātu
VEGF	vascular endothelial growth factor	vaskulārais endotēlija augšanas faktors

IEVADS

Šajā darbā ir aplūkoti un analizēti ļoti nozīmīgi procesi, kas attiecas uz grūtniecības iestāšanās iespējamību un tās saglabāšanu pēc embrija implantācijas ar turpmāko trofoblasta invāziju un funkcionējošas placentas formēšanos. Pēc Pasaules Veselības organizācijas (PVO) datiem, aptuveni 1 no 250 implantācijām (visā pasaulē ik stundu noris aptuveni 7 implantācijas) notiek ārpus dzemdes, tas rada briesmas ne tikai mātes reproduktīvajai veselībai, bet pat viņas dzīvībai (*Varma and Gupta,* 2009). Šis fakts ietekmē ne vien pašas sievietes un pāra, kurš vēlas radīt pēcnācējus, morāli, bet arī Latvijas demogrāfiskos rādītājus kopumā.

Lai saglabātu sievietes dzīvību, ārpusdzemdes grūtniecības ārstēšanai ir nepieciešama ķirurģiska iejaukšanās (klīnikā tiek ieviestas arī konservatīvas ārstēšanas metodes, neizmantojot ķirurģisku iejaukšanos, piemēram, lietojot metotreksātu, taču šādos gadījumos ir jāievēro noteikti kritēriji, kas ne vienmēr ir iespējams). Tādēļ ārpusdzemdes grūtniecības rezultātā sievietes reproduktīvā veselība un spējas radīt pēcnācējus var pasliktināties. Ņemot vērā to, ka ārpusdzemdes grūtniecības agrīna un savlaicīga diagnostika ir nozīmīga klīniska problēma, ir svarīgi izpētīt tās morfopatoģenēzi.

Raksturīgākais ārpusdzemdes grūtniecības riska faktors ir iegurņa iekaisuma slimība (IIS): anamnēzē eksistējošs salpingīts palielina olvada (98%) grūtniecības risku līdz pat četrām reizēm (*Varma and Gupta,* 2009). Ar iekaisuma radītajām izmaiņām olvados tomēr pilnībā nevar izskaidrot iemeslus, kāpēc dīgļa ieligzdošanās norisinās vēderā dobumā (1,4%), olnīcās (0,2%) vai dzemdes kaklā (0,2%).

Pašreiz nav pilnībā noskaidrots, kādu faktoru ietekmē notiek blastocistas implantācija, un tas, vai šis process ir tieši atkarīgs no olvadu un endometrija šūnu mijiedarbības ar pašu embriju. Literatūrā ir pieejami dati par interleikīna 1 (*Huang et al*., 2005), interleikīna 11 (*Von Rango et al*., 2004) un angiogēnā faktora − vaskulārā endotēlija augšanas faktora VEGF (*Lam et al*., 2004; *Daponte et al*., 2005; *Daniel et al*., 1999) nozīmi olvada grūtniecības gadījumā. Izteikti priekšlikumi ektopiskas grūtniecības bioķīmiskajā diagnostikā noteikt VEGF (*Fasouliotis et al.,* 2004), tomēr tā klīniska lietošana ir diskutabla, jo prospektīvajā pētījumā, kura piedalījās 84 sievietes ar dzemdes un ārpusdzemdes grūtniecību 6. grūtniecības nedēļā, VEGF seruma koncentrācijas statistiski ticamas atšķirības nenovēroja (*Kucera-Sliutz et al*., 2002).

Pašreiz pētījumi par VEGF klīnisku lietošanu arī kombinācijā ar citiem marķieriem turpinās.

Transformējošais augšanas faktors beta 1 (TGF beta 1) regulē *conceptus* adhēziju pie endometrija virsmas (*Massuto et al*., 2010). Bāziskais fibroblastu augšanas faktors (bFGF) ar savu receptoru 1 (FGFR1) regulē angioģenēzi, proteolīzi un apoptozi embrija implantācijas procesā (*Zygmunt et al*., 2003; *Liu et al.,* 2005).

Mūsu iepriekš veiktā TGF beta 1, FGFR1, neiropeptīdu (sinaptofizīns, hromogranīni A un B) un nervu augšanas faktora receptora p75 (NGFRp75) sadales analīze parādīja, ka cilvēka dīgļa centrālajā nervu sistēmā visagrāk un vairāk rodas sinaptofizīns. Tas liecina par tā iespējamo nozīmi centrālās nervu sistēmas kontaktu veidošanā. Vāji iekrāsotas hromogranīnu saturošas šūnas bija atrodamas tikai dīgļa ganglijos, kas, iespējams, ir izskaidrojams ar citu neiropeptīdu (sinaptofizīns) veidošanās sākumu embrioģenēzē. NGFRp75 embrioģenēzē ir plaši izplatīts nervu audu, muskuļaudu un asinsvadu struktūras citolemmās. Tas agrīnās embrioģenēzes audos norāda uz nervu augšanas faktora receptoru būtisko lomu pirmajā trimestrī. TGF beta 1 un FGFR1 tiek plaši ekspresēti audos, kur aktīvi noris augšanas un diferenciācijas procesi. Homeoboksa gēns BARX1 veicina mīksto audu, īpaši sirds audu, kā arī motorneironu diferenciāciju, bet muskuļu segmentu homeoboksa 2 gēns (Msx2) − visas mezodermālās izcelsmes audu un orgānu attīstību no 8. līdz 12. embrionālajai nedēļai (Kukanova un Pilmane, 2006; 2007).

Augšanas faktori ir nozīmīgi šūnu proliferācijas, migrācijas un diferenciācijas procesos, bet pareiza noteiktu gēnu ekspresija vai „klusēšana" koordinē cilvēka embrija attīstību (*Attar*, 2004). Iespējams, ka blastocistas implantācijas vieta ir atkarīga no izdalīto augšanas faktoru mijiedarbības ar mātes audiem, kas nosaka tiešu implantācijas lokalizāciju un turpmāko embrija attīstību. Piemēram, ir zināms, ka cilvēka deciduālās šūnas embrija implantācijas vietā izdala insulīnam līdzīgo augšanas faktoru (IGF-1), taču peles ar nulles IGF-1 gēnu ir neauglīgas (*Kapur et al*., 1992; *Baker et al*., 1996).

Dažādas implantācijas gadījumos augšanas un transkripcijas faktoru sadale ir maz izpētīta, nav noteikta faktoru nozīme patoģenēzē un iespēja atbilstošo faktoru diagnostiku lietot klīnikā.

Dotā darba mērķis bija izpētīt dažādu augšanas faktoru, gēnu un to produktu ekspresijas sadalījumu cilvēka embrija audos pirmajā trimestrī, kā arī augšanas faktoru un gēnu nozīmi nepareizas blastocistas implantācijas patoģenēzē.

Dotajam aprakstošajam pētījumam tika izvirzīti šādi uzdevumi:

1) audu iegūšana no pieejamiem cilvēka embrijiem, kuru attīstība tikusi pārtraukta mākslīgas grūtniecības pārtraukšanas operācijas laikā pirms 12. gestācijas nedēļas pēc sievietes vēlēšanās;

2) olvadu audu iegūšana ārpusdzemdes grūtniecības operācijas materiālā;

3) endometrija audu iegūšana ķirurģiskā aborta operācijas materiālā;

4) histoloģiskas pārskata ainas aprakstīšana;

5) augšanas faktoru, to receptoru, neiropeptīdu un cilvēka defensīna beta 2 imūnhistoķīmiska noteikšana;

6) mezenhīmu ietekmējošo gēnu un transkripcijas faktoru ekspresijas izpēte agrīnās embrija attīstības stādijās;

7) izmantot *TUNEL* (*terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling)* metodi apoptotisko šūnu noteikšanai dažādos cilvēka embrija audos;

8) statistiskās analīzes veikšana par iespējamo augšanas faktoru un gēnu ekspresijas korelāciju nepareizas blastocistas implantācijas gadījumā.

Promocijas darbs veikts ar ESF nacionālās programmas „Atbalsts doktorantūras un pēc doktorantūras pētījumiem medicīnas zinātnēs" atbalstu.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Embrija implantācija un to ietekmējošie faktori

Embrija implantācija ir sarežģīts process, kurā notiek mātes un *conceptus* šūnu diferenciācija, proliferācija un invāzija un kurš ir nepieciešams grūtniecības sekmīgai attīstībai. Sekmīgai implantācijai ir vajadzīgs funkcionāli normāls embrijs blastocistas stadijā un receptors (uztverošs) endometrijs, kas izveidojas, pastāvot mātes un embrija šūnu signālmolekulu izdalei. Tikai 25–30% no apaugļotām olšūnām attīstās līdz dzīvi dzimušajam jaundzimušam (*Macklon et al*., 2002). Aptuveni 30% no neveiksmīgām implantācijām ir saistīti ar traucētu endometrija receptivitāti (*Chard*, 1991), bet 1–2% no visām implantācijām ir ektopiskas (*Farquhar*, 2005; *Varma un Gupta*, 2009). Izplatītākais grūtniecības pārtraukšanas iemesls implantācijas stadijā ir hromosomālas anomālijas, jo vairāk nekā 50% pirmā trimestra spontāno abortu embriju ir aneiploīdi (*Hassold et al*., 1980; *Chandley*, 1984; *Jacobs*, 1992). *Coste* pierādīja, ka ektopiska implantācija nav saistīta ar embrija hromosomālām anomālijām un parasti raksturīga embrijiem ar normālu kariotipu (*Goddijn et al*., 1996; *Coste et al.*, 2000). Iemesls ektopiskai implantācijai, iespējams, var būt traucēta molekulāra mijiedarbība blastocistas ieligzdošanas procesā (*Attar*, 2004).

Pēdējos gados embrija un endometrija sazināšanās sarežģītais mehānisms ir diezgan labi aprakstīts, balstoties uz pētījumu datiem par cūkām (*Jaeger et al*., 2001), grauzējiem (*Shiotani et al.*, 1993) un cilvēkveidīgajiem pērtiķiem (*Cameo et al*., 2004). Tomēr cilvēkam un dzīvniekiem implantācijas procesā pastāv zināmas atšķirības, kas padara cilvēka implantācijas procesu par unikālu. Balstoties uz trīs atšķirīgiem mijiedarbības veidiem starp blastocistu un endometriju, izdala centrālu, ekscentrisku un intersticiālu implantācijas tipu. Centrālās implantācijas gadījumā blastocista palielinās apmēros, veidojot plašu virsmu, un saplūst kopā ar endometrija epitēliju, neiespiežoties tajā. Tāds implantācijas veids raksturīgs trušiem, suņiem, cūkām, govīm un aitām. Ekscentriskā implantācija notiek pelēm un kāmjiem, kad endometrija epitēlijā veidojas invaginācija, kura apņem blastocistu. Cilvēka blastocista iebrūk endometrija epitēlijā un iegremdējas dzemdes sienā, tādu implantācijas tipu dēvē par intersticiālu. Šo procesu nav iespējams pilnībā aprakstīt, izmantojot dzīvnieku modeļus, jo starp sugām pastāv nopietnas atšķirības reproduktīvajā fizioloģijā (*Bischof et al*., 2000). Pašreiz aktīvi tiek veikti cilvēka embrija un endometrija morfoloģiskā un proteomiskā raksturojuma

pētījumi, un tie attiecas uz vienu no svarīgākajām un interesantākajām reproduktīvās medicīnas jomām – endometrija un embrija mijiedarbība agrīnas implantācijas stadijās.

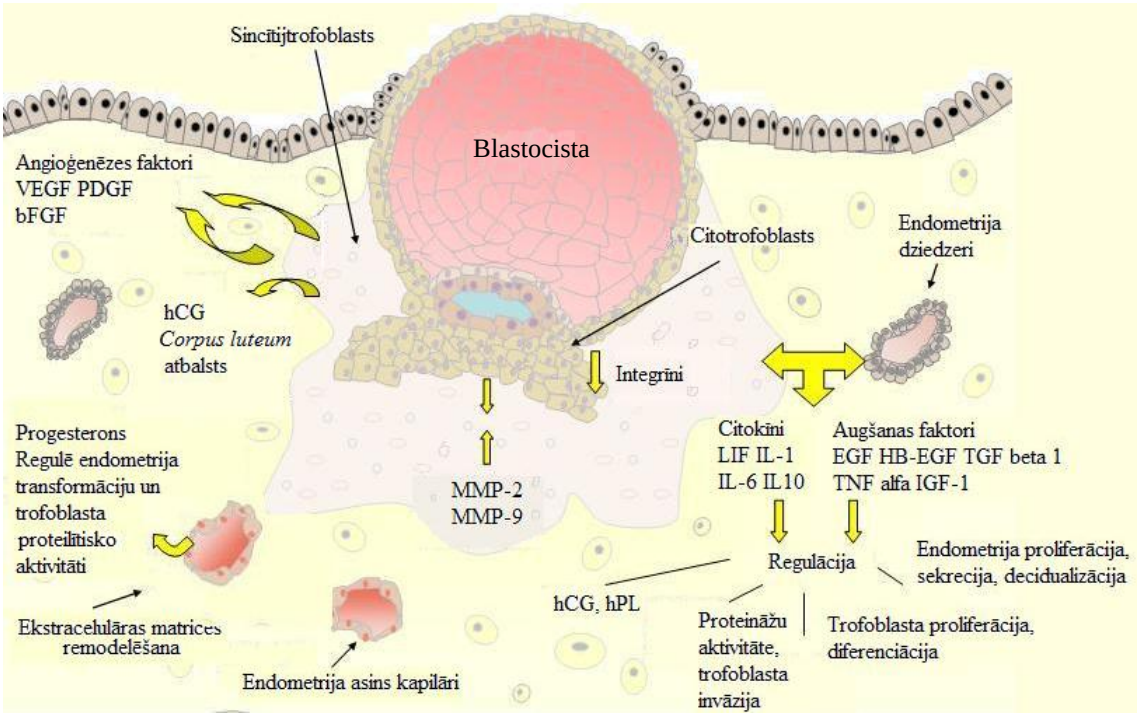
1.1.1. Embrijs kā implantācijas objekts

Cilvēka blastocista jau preimplantācijas stadijā izdala šķīstošās molekulas, kas modulē HOXA10 (gēns, kas kodē transkripcijas faktoru un nosaka šūnas pozīciju un polaritāti) ekspresiju endometrija epiteliocītu šūnu kultūrā. Tātad, iespējams, ka blastocista regulē endometrija epitēlija polaritāti pirms trofoblasta kontakta ar endometriju (*Sakkas et al*., 2000).

Embrija implantācija sākas ar blastocistas apozīciju, kad blastocista atrodas un novietojas pretī specifiskajam endometrija laukam (sk. 1.1. attēlu). Šajā posmā notiek citokīnu, hemokīnu un citu faktoru izdalīšana, kas regulē tādu adhēzijas molekulu, kā L-selektīna un integrīna aktivitāti (*Moser et al*., 2001; *Paria et al*., 2002). Apozīcijas stadijā endometrija epiteliocītu pinopodijas saskaras, t.i., „krustojas" ar sincītij-trofoblasta apikālās virsmas mikrobārkstiņām (*Lopata et al*., 2002).

Apozīcijai seko adhēzijas fāze, kad starp epiteliocītiem un blastocistas embrija polu izveidojas ciešs kontakts, ko nodrošina adhēzijas molekulas integrīni un L-selektīns. Endometrija sagatavošana blastocistas adhēzijai ir no progesterona atkarīgs process, kurš sākas aptuveni septītajā dienā pēc ovulācijas ar implantācijas loga formēšanos receptīvajā endometrijā. Citi faktori, tādi kā, piemēram, IGF-1 piedalās integrīnu regulēšanā un nosaka blastocistas adhēziju endometrijam (*Kabir-Salmani et al*., 2004).

Implantācija turpinās ar invāzijas fāzi, kas sākas ar sincītijtrofoblasta iespiešanos caur endometrija epitēliocītiem un bazālo plātnīti, tā turpinās ar infiltrāciju endometrija stromā un asinsvados līdz pat miometrija ārējai trešdaļai. Bārkstainā citotrofoblasta šūnas no enkurbārkstiņu virsotnēm proliferē pretējā virzienā no savas bazālās plātnītes, veido šūnu kolonnas un migrē dziļāk bazālajā atlobenē, pārveidojoties par intersticiālā vai perifērā trofoblasta šūnām. Daļa šūnu migrē tālāk un invadē mātes spirāliskajās artērijās, kur tās sauc par endovaskulārā trofoblasta šūnām. Šī norise ļauj trofoblastam cieši kontaktēt ar mātes asinīm un nodrošina uteroplacentāro asinsriti (*Norwitz et al*., 2001).



1.1. att. Implantāciju ietekmējošie faktori (adaptēts pēc *Ramirez*, 2011)

Saīsinājumi:
bFGF – bāziskais fibroblastu augšanas faktors
EGF – epidermālais augšanas faktors
HB-EGF – heparīnu piesaistošais epidermālais augšanas faktors
hCG – cilvēka horiona gonadotropīns
hPL – cilvēka placentārais laktogēns
IGF-1 – insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1
IL – interleikīns
LIF – leikēmiju inhibējošais faktors
MMP – matrices metaloproteināze
PDGF – trombocītu atvasinātais augšanas faktors
TGF beta 1 – transformējošais augšanas faktors beta 1
TNF alfa – audzēja nekrozes faktors alfa
VEGF – asinsvadu endotēlija augšanas faktors

Trofoblasta migrāciju regulē trofoblasta un atlobenes autokrīnie un parakrīnie faktori, to disfunkcija ir pamats tādām reproduktīvajām problēmām kā ieraduma un *missed abortation* jeb „apstājusies" grūtniecība, preeklampsija un citi.

1.1.2. Endometrijs – implantācijas vide

Embrija veiksmīgas implantācijas priekšnosacījums ir tā saucamā „implantācijas loga" (nišas) formēšanās endometrijā. Tās rezultātā endometrijs pieņem vai uztver blastocistu (*Tabibzadeh et al*., 1995). Šis process ir atkarīgs no estrogēnu un

progesterona iedarbības, un tas ilgst 5−7 dienas pēc ovulācijas. Implantācijas logam seko neuzņēmīgā jeb refraktārā fāze, kad blastocistas implantācija nav iespējama (*Psychoyos*, 1993). Tātad endometrijā darbojas divas regulējošo molekulu grupas: viena padara endometriju par blastocistu receptīvu, otra − par blastocistu rezistentu struktūru.

Progesterons ir noteicošais faktors endometrija sagatavošanā blastocistas ieligzdošanai. Tā ietekmē pēc ovulācijas agrīnajā sekrēcijas fāzē uz endometrija epiteliocītu apikālās virsmas parādās mikroskopiski membrānas izaugumi jeb pinopodijas, līdz ar to atveras implantācijas logs (*Lopata et al*., 2002). Tādējādi blastocista ar adhēzijas molekulas E-kadherina palīdzību cenšas piesaistīties pie endometrija virsmas epiteliocītu pinopodijām.

Epitēlija virsmas glikoproteīns mucīns 1 nodrošina barjeru trofoblasta invāzijai, jo kontrolē integrīnu pieejamību saviem receptoriem (*Burghart et al*., 2002). Estrogēni un progesterons regulē mucīna 1 daudzumu uz epitēlija virsmas, tā daudzums palielinās līdz ar proliferācijas fāzi un sāk samazināties tuvāk vēlīnajai sekrēcijas fāzei (*Domingues et al*., 2002). Blastocista spēj atbrīvot izvēlēto implantācijas vietu no mucīna 1 apozīcijas fāzē (*Mesenguer et al*., 2001). Mucīns 1 kalpo par antiadhēzijas molekulu, kas trīs dienas pēc ienākšanas dzemdē neļauj blastocistai priekšlaicīgi implantēties (*Hill*, 2001).

Ekstracelulārajās matrices komponentēs arī notiek progesterona izraisītas pārmaiņas (*Salamonsen et al*., 2001). Agrīnajā sekrēcijas fāzē palielinās hialuronskābes, samazinās VI tipa kolagēna daudzums un palēninās III un I tipa kolagēna produkcija. Ekstracelulārās matrices proteīni, kā arī blastocistas producētie MMP 2 un MMP 9 regulē trofoblasta šūnu invazivitāti līdz mātes asinsvadiem, sadalot IV tipa kolagēnu (*Xu et al*., 2001).

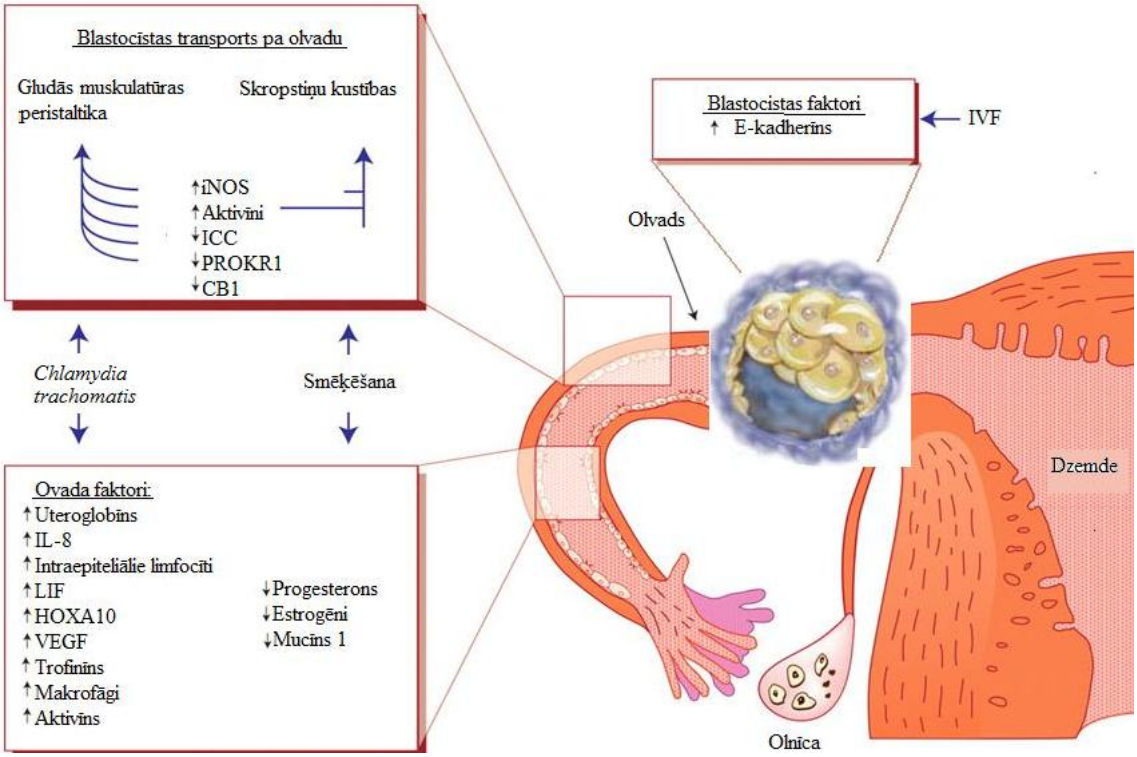
Stromas fibroblasti diferencējas par deciduālām šūnām, un katru šūnu norobežo laminīna, entaktīna, IV tipa kolagēna un heparinsulfātus saturošā bazālā plātnīte (*Salamonsen et al*., 2002).

Tādi augšanas faktori kā EGF, HB-EGF, TGF beta 1, TNF alfa, kā arī LIF un citokīni IL-1, IL-4, IL-6, IL-10 regulē trofoblasta diferenciāciju un invāziju, tie pašreiz tiek aktīvi pētīti (*Beceriklisoy et al*., 2009).

Implantācija ir sarežģīts process, ko regulē vairāki mātes un embrija faktori. Svarīgi, lai visi šie (arī pašreiz vēl nezināmie) faktori darbotos sabalansēti pareizajā laikā. Tas radītu iespēju apaugļotajai olšūnai pārveidoties par embriju un turpmāk veiksmīgi attīstīties līdz bērna piedzimšanai.

1.2. Mūsdienīga ārpusdzemdes grūtniecības patoģenēzes izpratne

Ārpusdzemdes jeb ektopiskās grūtniecības gadījumā *conceptus* implantējas ārpus dzemdes dobuma. Vairāk nekā 98% (*Walker*, 2007; *Varma and Gupta*, 2009) gadījumu ārpusdzemdes implantācija notiek olvadā, turklāt jāatzīmē, ka biežāk to novēro labajā olvadā, tas saistīts ar lielāku labās olnīcas ovulatoru aktivitāti. Retāk dīgļa implantācija notiek vēdera dobumā (1,4%), olnīcā (0,2%) vai dzemdes kakliņā (0,2%).



1.2. att. Faktori, kas ietekmē embrija implantāciju olvadā (adaptēts pēc *Shaw et al.*, 2010)

Saīsinājumi:
CB – endogēnais kanabioīds
HOXA10 – *homeobox* olbaltumviela 10
ICC – intersticiālās Kajala šūnas
IL – interleikīns
iNOS – inducējama slāpekļa oksīda sintāze
LIF – leikēmiju inhibējošais faktors
PROKR – prokinetocīnu receptors
VEGF – vaskulārais endotēlija augšanas faktors

Eiropā un Amerikas Savienotajās Valstīs ārpusdzemdes grūtniecība veido aptuveni 1−2% no visām grūtniecībām. Rietumu valstīs ārpusdzemdes grūtniecība ir galvenais mātes mirstības cēlonis pirmajā trimestrī (*Farquhar*, 2005; *Varma and Gupta*, 2009). Industriāli attīstītajās valstīs ektopiskās grūtniecības incidence ir augstāka un ir

novērota tendence, ka viena no desmit stacionētajām sievietēm, kurām ir diagnosticēta ārpusdzemdes grūtniecība, aiziet bojā ar to saistīto komplikāciju rezultātā (*Leke et al.*, 2004).

Mūsdienīgas ārpusdzemdes grūtniecības patoģenēzes pētījumi atbalsta hipotēzi, ka ektopiskā grūtniecība ir saistīta ar *conceptus* aizturi olvadā, bojātu embriju un pārmaiņām olvada mikrovidē, kas nosaka agrīnu blastocistas implantāciju (sk. 1.2. attēlu).

1.2.1. Ārpusdzemdes grūtniecības riska faktori

Ārpusdzemdes grūtniecības riska faktoru saraksts ietver olvadu bojājumu, kas radies ķirurģiskas iejaukšanās vai infekcijas (respektīvi, *Chlamydia trachomatis*) rezultātā, kā arī smēķēšanas sekas (*Farquar*, 2005) un *IVF* (no angļu val.− *in vitro fertilization*) procedūras rezultātā (*Pisarska et al*., 1998; *Tay et al*., 2000; *Bouyer et al*., 2003; *Varma and Gupta*, 2009).

Hlamīdiju infekcija tradicionāli tiek uzskatīta par olvada grūtniecības riska faktoru, un šo teoriju atbalsta daudzi retrospektīvu gadījumu kontroles pētījumi (*Walters et al*., 1988; *Chrysostomou et al*., 1992; *Bjartling et al*., 2007; *Machado et al*., 2007; *Bakken et al*., 2008). Dzīvnieku, pārsvarā grauzēju, hlamīdiju infekcijas izraisītās olvada grūtniecības modelis atklāj molekulāros mehānismus, bet tas nevar tikt pilnībā attiecināts uz cilvēka audiem. *Alut* un *Bjartling* uzskata, ka ascendējoša hlamīdiju infekcija izraisa citokīnu inducētu iekaisuma reakciju, kas sekmē blastocistas implantāciju olvadā (*Alut et al*., 1998; *Bjartling et al*., 2007).

Smēķēšana ir vairāku slimību, arī ektopiskās grūtniecības (*Waylen et al*., 2009) un citu reproduktīvo problēmu riska faktors. Nikotīns traucē embrija transportu pa olvadu, jo izraisa ciliāru diskinēziju un ietekmē olvada peristaltiku gan dzīvnieka, gan cilvēka olvadā (*Knoll et al*., 1995; *Rivles et al*., 2004; *Talbot et al*., 2005).

Olvada grūtniecības incidence salīdzinājumā ar dzemdes grūtniecību ir augstāka pēc *IVF* procedūras attiecībā – 2−5% pret 1−2% (*Strandell et al*., 1999; *Farquar*, 2005). Pacientes, kuras saņem *IVF* ārstēšanu olvada neauglības dēļ (īpaši pēc ķirurģiskās iejaukšanās olvados olvada grūtniecības vai salpingīta gadījumos), veido olvada grūtniecības riska grupu salīdzinot ar pret sievietēm, kuras saņem *IVF* vīra neauglības dēļ (*Strandell et al*., 1999; *Weigert et al*., 2009). *Revels* konstatējis, ka olvada

grūtniecības gadījumā, salīdzinājumā ar spontānu olvada grūtniecību (*Revel et al.,* 2008), pēc *IVF* procedūras ir raksturīgs paaugstināta E-kadherīna (adhēzijas proteīns, endometrija receptivitātes marķieris, kas ir nepieciešams blastocistas attīstībai pirms implantācijas) ekspresivitāte, īpaši citotrofoblasta šūnās. Tātad *IVF* embrijs un endometrijs abi ekspresē E-kadherīnu, kas traucē embrijam, kurš migrē olvadā un pieķeras pie tā epitēlija.

1.2.2. Molekulārie mehānismi olvadā

Cilvēka olvadu veido no steroīdiem atkarīgi dinamiski audi (*Jansen,* 1984), kuros šūnu proliferāciju, diferenciāciju un apoptozi regulē 17β-estradiols (*Monroe et al*., 2002). Tā trūkums inducē šūnas nāvi un palielina kaspāzes-1 (citokīnu aktivators) līmeni olvadā. Ir zināms, ka pacientēm ar olvada grūtniecību novēro estrogēnu alfa receptoru trūkumu (*Horne et al*., 2009). *Shao* uzskata, ka traucēta 17β-estradiola iedarbība uz atbilstošo receptoru, kā arī kaspāzes 1 modulēta interleikīnu 1, 8 un LIF atkarīga iekaisuma reakcija rada ar IIS asociētu olvada grūtniecību (*Derkinderen et al*., 1996; *Shao et al*., 2006; *Guney et al*., 2008).

Cits reproduktīvo funkciju nodrošinošs steroīds, respektīvi, progesterons, izraisa endogēna kanabioīda 1 (CB1) receptora ekspresiju olvadā dzeltenā ķermeņa fāzē. CB1 receptors ir endogēnu kanabioīdu receptors (endogēno neiromodulatoru lipīdu grupa), kas regulē olvada peristaltiku un ciliāro funkciju (*Shao et al*., 2006; *Horne et al*., 2008), kā arī integrīnu ekspresivitāti uz olvada epiteliocītu apikālās virsmas (*Derkinderen et al*., 1996). Sievietēm ar ektopisko grūtniecību novēro gan samazinātu progesterona receptoru (*Horne et al.,* 2009), gan CB1 mRNA ekspresiju olvadā (*Horne et al*., 2008). Lefols pierādīja, ka nikotīns izmaina endogēno kanabioīdu koncentrāciju smadzenēs (*Le Foll et al*., 2008), tātad nikotīna izraisīta endogēnā kanabioīdu nestabilitāte asociējas ar ektopisku grūtniecību (*Taylor et al*., 2007).

Gan progesterons, gan estradiols modulē arī uteroglobīna (pretiekaisuma olbaltumviela) ekspresiju, ko izdala olvada sekretorie epiteliocīti (*Quintar et al*., 2008). Kvinters pierādījis, ka sievietēm ar IIS un olvada grūtniecību uteroglobīna līmenis, īpaši implantācijas vietā, ir paaugstināts. Tātad embrijs regulē uteroglobīna ekspresiju, un šīs palielinātās ekspresivitātes rezultāts ir palielināta olvada epitēlija receptivitāte.

Citi faktori, tādi kā VEGF (*Lam et al*., 2004), iepriekš minētie HOXA10 (*Bagot et al*., 2000), antiadhezīvais glikoproteīns mucīns 1 (*Savaris et al*., 2008; *Al-Azemi et al*., 2009), blastocistas un epitēlija adhēzijas modulējošais membrānas proteīns trohinīns (*Nakayama et al*., 2003) un aktivīni, kas ir TGF-β dzimtas olbaltumvielas (*Refaat et al*., 2008), arī tiek novēroti pacientēm ar olvada grūtniecību olvada audos un ir uzskatāmi par iespējamiem patoģenēzes ķēdes locekļiem, bet katrs no tiem atsevišķi nevar pilnībā noteikt ārpusdzemdes grūtniecības dabu. Olvada mikrovidi regulējošo faktoru kopsavilkums ir parādīts 1.1. un 1.2. tabulā.

1.1. tabula

Mātes organisma kontrolētie faktori, kas veicina olvada grūtniecību

Faktors	Ekspresija olvada grūtniecības audos	Potenciālais efekts
Aktivētie makrofāgi	Palielināta	izmainīta olvada gludās muskulatūras kontraktilitāte prostaglandīnu disbalansa dēļ
Aktivīni	Palielināta	audu remodelēšanas disregulācija sekmē implantāciju olvadā
CB1	Samazināta	izmainīta olvada gludās muskulatūras kontraktilitāte
ICC	Samazināta	zaudē spēju ģenerēt impulsus, samazinās olvada gludās muskulatūras kontraktilitāte
iNOS	Samazināta	relaksē olvada muskulatūras kontraktilitāti un/ vai skropstiņu kustības, rezultātā samazinās olvada motilitāte
Interleikīns 8	Palielināta	olvada audu infekciozs bojājums
Mucīns 1	Samazināta	pieļauj anormāla embrija implantāciju
Prokineticīni	Samazināta	izmainīta olvada gludās muskulatūras kontraktilitāte

Saīsinājumi:
CB – endogēnais kanabioīds
ICC – intersticiālās Kajala šūnas
iNOS – inducējama slāpekļa oksīda sintāze

Pašreiz nav pilnībā noskaidrots, kādu faktoru ietekmē notiek blastocistas implantācija olvadā. Iespējams, šis process ir tieši atkarīgs no olvada šūnu mijiedarbības ar pašu embriju. Tālākie pētījumi ir nepieciešami šajā reproduktīvās fizioloģijas sfērā.

1.2. tabula

Embrija kontrolētie faktori, kas veicina olvada grūtniecības attīstību

Faktors	Ekspresija olvada grūtniecības audos	Potenciālais efekts
HOXA10	palielināta	palielina receptivitāti
Integrīni	palielināta	pastiprināta adhēzija
LIF	palielināta	palielina receptivitāti
Trofinīns	palielināta	pastiprināta adhēzija
Uteroglobīns	palielināta	palielina receptivitāti
VEGF	palielināta	pastiprināta angioģenēze implantācijas vietā

Saīsinājumi:
HOXA10 – *homeobox* olbaltumviela 10
LIF – leikēmiju inhibējošais faktors
VEGF – vaskulārais endotēlija augšanas faktors

1.2.3. *Conceptus* pārvietošanās olvadā

Embrija migrāciju olvados nosaka gludās muskulatūras kontrakcijas un epiteliocītu skropstiņu kustības (*Halbert et al*., 1989; *Lyons et al.,* 2006).

Gludās muskulatūras peristaltikas viļņi rodas olvada sašaurinājuma daļā un modulē – paātrina vai pavājina – embrija transportēšanu cauri olvadam (*Perez et al*., 2000). Peristaltiku pastiprina alfa adrenerģisko receptoru, bet samazina beta adrenerģisko receptoru stimulācija (*Samuelson un Sjostrand*, 1986). Tomēr adrenerģisko neironu stimulācija nav vienīgais mehānisms. Steroīdi, prostaglandīni (*Ziganshin et al*., 2004; *Wanggren et al*., 2008), NO (*Ekerhovd un Norstrom*, 2004), prokineticīni (*Shaw et al*., 2010), prostaciklīni (*Arbab et al*., 2002) un cAMP (*Lindblom et al*., 1978) arī modulē gludās muskulatūras peristaltiku un zigotas migrāciju pa olvadu.

Iespējams, ka gludās muskulatūras kontrakcijas nav noteicošais faktors embrija transportēšanai, jo *Halbert* pierādījis, ka bloķētas peristaltikas apstākļos skropstiņas spēj nodrošināt veiksmīgu embrija implantāciju endometrijā (*Halbert et al*., 1989). Skropstiņu aktivitāti regulē dzimumsteroīdi: lielāka progesterona koncentrācija ir saistīta ar ektopisko grūtniecību (*Paltieli et al*., 2000). Skropstiņu aktivitāte ir arī atkarīga no interleikīna 6, kas ir palielināts peritoneālajā šķidrumā gan endometriozes, gan IIS gadījumā (*Papathanasiou et al*., 2008). Folikulārajā šķidrumā esošie faktori arī pastiprina olvada skropstiņu kustības pēc ovulācijas (*Lyons et al*., 2006). Olvada

grūtniecības gadījumā novēro samazinātu skropstiņšūnu daudzumu un deciliāciju salīdzinājumā ar dzemdes grūtniecību vienādā gestācijas laikā (*Vasquez et al*., 1983).

1.2.4. Olvada šūnu sastāvs

Olvada epitēlijā ir atrodamas sekretorās šūnas un skropstiņšūnas, kuru attiecību dinamika ir atkarīga no menstruālā cikla fāzes. Epitēlijā ir arī bazālas – mazdiferencētas šūnas, kā arī papildu šūnas, kas varētu būt neaktīvas sekretorās šūnas. Stromu veido fibroblasti, retikulārās šķiedras, lipocīti, gludie miocīti, neiroendokrīnās šūnas, deciduālās šūnas, lutienizētas stromas šūnas un imūnkompetentās šūnas.

Cilvēka olvadā un dzemdē atrod arī tā saucamās intersticiālās Kajala šūnas (ICC), kas ģenerē elektriskos impulsus un veido gludās muskulatūras peristaltikas viļņus (*Shafik et al*., 2005; *Popescu et al*., 2007). Ir zināms, ka hlamīdiju infekcija izraisa ICC šūnu bojāeju, līdz ar to palēninās arī olšūnas un embrija migrācija olvadā (*Dixon et al*., 2009).

Dominējošās imūnās šūnas olvada audos ir T limfocīti un makrofāgi (*Vassilliadou et al*., 1998). Makrofāgu daudzums, īpaši implantācijas vietā, ir palielināts olvada audos pacientēm, kurām ir olvada grūtniecība (*Von Rango et al*., 2001). Makrofāgi piedalās imūnajās reakcijās un izdala citokīnus, prostaglandīnus, kas samazina olvada peristaltiku un sekmē embrija aizkavēšanos olvadā, bet makrofāgu izdalītie augšanas faktori remodelē olvada audus, kuri veicina patoloģisku implantāciju (*Tonello et al*., 2007).

Olvada epitēlijā novēro intraepiteliālus CD8+ limfocītus, kas atpazīst embriju un ļauj tam virzīties pa olvadu bez imūnās sistēmas aktivizēšanās (*Kutteh et al*., 1990). Intraepiteliālie CD8+ limfocīti ir no steroīdiem atkarīgas šūnas, kas ekspresē estrogēnu beta receptoru. Tādu limfocītu daudzums palielinās olvada grūtniecības skartos audos un piedalās iekaisumā reakcijā, kas predisponē olvadu ektopiskajai grūtniecībai (*Ulziibat et al*., 2006).

TGF beta 1, bFGF, FGFR1, IGF-1, IGF-1R, NGF, NGFRp75 un HGF ir zināmi šūnu prolifērācijas un diferenciācijas faktori, kuru sadalē var būt izmainīta cilvēka embrija implantācijas vietā olvadā. MMP 2 un 9, kā arī cilvēka defensīns beta 2 var ietekmēt pārmaiņas audos, kas nosaka nepareizu implantāciju.

1.3. Augšanas faktori un to receptori

1.3.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1

TGF beta1 ir multifunkcionālā olbaltumviela, kas kontrolē šūnu proliferāciju, diferenciāciju un citas funkcijas (*Yang et al*., 2003). Ir zināmas piecas TGF beta izoformas: TGF beta 1, TGF beta 2, TGF beta 3, TGF beta 4, TGF beta 5. Cilvēkam raksturīgas ir tikai trīs, no kurām dominējošā ir TGF beta 1, kura aktivizē šūnas virsmā lokalizētos serīna/treonīnināzes receptorus, kas izraisa kodolā esošo *Smad* proteīnu fosforilāciju. Rezultātā notiek *Smad* un citu DNS saistošo proteīnu mijiedarbība, rezultātā notiek specifisko gēnu transkripcija (*Howe,* 2003; *Chin et al*., 2004).

Praktiski visas cilvēka šūnas sintezē TGF beta 1 lielmolekulāru priekšteča formu un ekspresē TGF beta receptorus (*Hicks et al*., 1999). Latentā TGF beta aktivāciju nodrošina plazmīns un tam līdzīgās proteāzes, kas sašķeļ proteīnu. Pēc bioloģiski aktīva TGF beta 1 izveidošanās to piesaista dažādi ekstracelulārās matrices proteīni, kas modificē tā funkcijas (*Piek et al*., 1999; *Flanders et al*., 2003).

TGF beta 1 darbojas autokrīni, parakrīni un endokrīni (*Wyatt et al*., 2007), piedalās arī mezenhimocītu migrācijā, skeletoģenēzē (*Atchley et al*., 1991) un regulē šūnu kondensāciju, nosaka topošā skeleta formu (*Hall et al*., 2000). Vienlaikus faktors var inducēt gan apoptozi, gan epitēlija–mezenhīmas transformāciju (*Fang un Svoboda,* 2005; *Yu et al*., 2009).

Pieauguša cilvēka organismā TGF beta 1 regulē tādus sarežģītus procesus kā iekaisums, audu reģenerācija un remodelēšana, piedalās ļaundabīgo šūnu transformācijā patoloģijas gadījumā, regulē hematopoēzi, angioģenēzi, imūnos procesus un apoptozi (*Roberts and Spon,* 1993; *Kingsley*, 1994; *Massaque*, 1996). TGF beta 1 veicina leikocītu diferenciāciju, pastiprina VEGF sintēzi un bFGF efektus. Ir zināms, ka TGF beta 1 modulē limfocītu, makrofāgu un dendrītisko šūnu proliferāciju: inhibē T un B limfocītu veidošanos (*Prime et al*., 2004; *Horwitz*, 2006).

TGF beta 1 regulē endometrija ciklisku un grūtniecības transformāciju un *conceptus* adhēziju endometrija virsmai (*Massuto et al*., 2010).

1.3.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1

Primārais faktors, kas inducē mezodermas veidošanos embrioģenēzē, ir bFGF, kas modulē šūnu proliferāciju un diferenciāciju *in vivo* un *in vitro* (*Zhang et al*., 1991). Tas ir plaši izplatīts gan mezenhimālas, gan mezodermālas un neiroektodermālas izcelsmes šūnās. bFGF spēj ieslēgties kodoliņā un stimulēt ribosomālo gēnu transkripciju, veicinot šūnas pāriešanu no G0 uz G1 šūnas cikla stadiju (*Bouche et al*., 1987).

bFGF veicina endoteliocītu, fibroblastu, hondrocītu, osteoblastu un sinoviocītu proliferāciju, piedalās lokālajā audu remodelēšanas procesā (*Du Cros et al*., 1993). Tas inducē jaunu kapilāru veidošanos *in vivo* un *in vitro* (*Qu et al*., 1998; *Van Winterswijk and Nout*, 2007), modulējot endoteliocītu proteolītisko aktivitāti angioģenēzes sākuma fāzē.

bFGF ir atrodams arī organisma cietajos audos. Locītavas skrimslī to novēro hondrocītu pericelulārajā matricē (*Vincent un Saklatvala*, 2006) un osteocītos. Minētais proteīns uzkrājas kaula matricē un autokrīni vai parakrīni iedarbojas uz nobriedušiem osteoklastiem, aktivizējot FGFR1 (*Chikazu et al*., 2000).

bFGF caur savu receptoru (FGFR1) regulē angioģenēzi, proteolīzi un apoptozi embrija implantācijas procesā (*Zygmunt et al*., 2003; *Liu et al*., 2005).

FGFR1 ir viens no četriem FGFR grupas receptoriem (*Eswarakumar et al*., 2005), kuram ir visaugstākā afinitāte pret bFGF (*Sato et al*., 2003). FGFR1 ir plašāk izplatītais membrānas receptors, kuru atrod lielākajā fiksēto šūnu daļā, kā arī neironos, asinsvados, ādas bazālajās plātnītēs un kaula augšanas zonās (*Hanneken et al*., 1994; *Wang et al*., 1994).

Praktiski visa cilvēka embrija galvas mezenhīma ekspresē FGFR1 no 18. attīstības nedēļas. FGFR1 plaši novēro šuvju rajonos, mezenhīmas kondensācijas vietās, osteoīdā un kaula trabekulu perifērijā, perihondrā un periostā (*McIntosh et al*., 2000).

Nobrieduša cilvēka organismā FGFR1 plaši atrodams dažādos audos: ādas šūnās, plaušās, radzenē, sirdī, placentā, nierēs, sēkliniekos un olnīcās, asinsvadu sieniņu šūnās un dermas fibroblastos (*Hughes*, 1997). *Hughes* uzskata, ka FGFR1 ir plaši atrodams visās orgānu sistēmās, kas nosaka tā nozīmi cilvēka audos (*Hughes*, 1997).

1.3.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75

Bāziskais nervu augšanas faktors (NGF) ir visplašāk aprakstītais neirotrofīnu saimes loceklis (*Chao*, 1992), kuru identificēja pirms vairāk nekā 50 gadiem (*Levi–Mantalcini*, 1987). Tas ir 118 aminoskābju peptīds, ko veido 3 subvienības (*Micera et al*., 2003). NGF kopā ar smadzenēm saistīto neirotrofo faktoru un neirotrofīnu-3 (NT-3), neirotrofīnu-4 (NT-4) un neirotrofīnu-5 (NT-5) ietilpst klasiskajā neirotrofīnu grupā (*Kalb*, 2005; *Dou et al.*, 2006).

Neirotrofīnu bioloģiskā funkcija ir perifērās un centrālās nervu sistēmas saglabāšana un vielmaiņas funkciju veikšana (*Shinder*, 1994). Tie nodrošina aksonu augšanu (*Chada and Hollenbeck*, 1985) un mielinizāciju (*Notterpek*, 2003), regulē to dzīvības uzturēšanu, neironu diferenciāciju un apoptozi (*Chesa et al*., 1988; *Thompson*, 1989). NGF piemīt arī citas svarīgas funkcijas ārpus nervu sistēmas. Ir zināms, ka NGF piedalās iekaisuma reakcijas inducēšanā un, aktivizējot endoteliocītus, inducē angioģenēzi (*Rahbek et al*., 2005; *Park et al*., 2007).

NGF piesaistās receptoram NGFRp75, kas ir transmembrānu glikoproteīns un TNF (tumornekrotisko faktoru) supersaimes loceklis (*Nykjaer et al*., 2005; *Johnston et al*., 2007), kas modulē tirozīnkināzes aktivitāti (*Mahadeo et al*., 1994; *Vesa et al*., 2000; *Dechant*, 2001). To raksturo ļoti plaša spektra funkcijas, tādas kā neironu reģenerācija un apoptozes inducēšana (*Dobrowsky and Carter*, 2000; *Miller and Kaplan*, 2001; *Bronfman and Fainzilber*, 2004; *Yamashita et al*., 2005). Tātad NGF caur NGFRp75 spēj gan inducēt, gan novērst programmēto šūnu nāvi (*Rabizadeh et al*., 1993; *Casaccia et al*., 1996; *Frade et al*., 1996; *Rabizadeh et al*., 2003). NGFRp75 regulē neirotrofīnu retrogrādo transportu (*Curtis et al*., 1995), ietekmē Švāna šūnu migrāciju (*Anton et al*., 1994; *Chelyshev and Saitkulov*, 2000) un aktivizē transkripcijas faktorus (*Carter et al*., 1996).

NGF ir atrodams keratinocītos, dermas fibroblastos (*Ioanne et al*., 2002), makrofāgos un tuklajās šūnās. NGF regulē tuklo šūnu attīstību un diferenciāciju, ietekmē histamīna un triptāzes sintēzi (*Welker et al*., 1998), stimulē B limfocītu proliferāciju un imūnglobulīnu sekrēciju (*Brodie and Gelfand*, 1992). Eozinofilie leikocīti sintezē un uzglabā NGF (*Solomon et al*., 1998).

NGF ir būtiska nozīme ne tikai neirodeģeneratīvo slimību, bet arī alerģisku iekaisumu, kā arī alerģiskās astmas patoģenēzē, audu reģenerācijā un fibrozē (*Micera et al*., 2003; *Sonar et al*., 2007).

Embrioģenēzē NGF nodrošina funkcionālo saikni starp nervu, endokrīno un imūno sistēmu, pārveidojot ārējās vides un endokrīnos signālus imunoloģiskajā atbildē (*Tometten et al*., 2005).

1.3.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors

Insulīnam līdzīgie augšanas faktori jeb somatomedīni ir polipeptīdu hormonu grupa, kas pēc savas struktūras ir ļoti līdzīgi insulīnam un rada anabolos un mitogēnos efektus *in vivo* un *in vitro* (*Baxter,* 1986; *D`Ercole*, 1987; *Humbel,* 1990), kā arī tiem ir ļoti svarīga nozīme audu attīstības procesos (*de Pablo et al*., 1990). IGF-1 ir viens no somatomedīnu saimes, kas darbojas gan autokrīni, gan parakrīni, gan endokrīni sava unikālā receptora IGF-1R dēļ (*Phillips et al*., 1980).

IGF-1 tiek sintezēts praktiski visās pieaugušo un īpaši augļu orgānu sistēmās. To atrod sirdī, plaušās, nierēs, aknās, aizkuņģa dziedzerī, liesā, zarnās, smadzenēs un hipofīzē (*Bell et al*., 1985; *Lund et al.,* 1986). Palmero konstatēja IGF-1 dzimumdziedzeros, proti, Sertoli šūnas sintezēja IGF-1 vairogdziedzeru hormonu ietekmē (*Palmero et al*., 1990). Arī placentā tiek sintezēts IGF-1, kas autokrīni vai parakrīni regulē placentas augšanu (*Fant et al*., 1986).

IGF-1 iedarbība uz mērķa šūnu var būt atkarīga no citu faktoru lokālās pieejamības, tā estrogēni inducē IGF-1 sintēzi dzemdē pelēm pēc ovarektomijas (*Murphy et al*., 1987). Iespējams, ka ne tikai estrogēni ietekmē mērķa šūnu proliferāciju, bet arī IGF-1 modulē un aktivizē estrogēnu iedarbību. Tāpat IGF-1 iedarbība ir nepieciešama, lai realizētu insulīna stimulētu skrimšļa augšanu *in vitro.*

Praktiski katra cilvēka organisma šūna ir IGF-1 mērķa šūna. IGF-1 ir šūnu augšanas un dalīšanas aktivators, programmētās šūnu nāves inhibitors (*Butler et al*., 2002; *Rincon et al*., 2005; *Ye un D`Ercole*, 2006; *Yu et al*., 2008). IGF-1 regulē arī šūnu invāziju, tā, piemērām, *Zhang* pierādīja, ka IGF-1R receptoru ekspresija korelē ar vēža šūnu invazivitāti (*Zhang,* 1992).

IGF-1 un IGF-1R ir būtiski embrija augšanai un attīstībai. Endometrija deciduālās šūnas ekspresē IGF-1 implantācijas vietā (*Kapur et al*., 1992), un, kā pierādīts, peles ar IGF-1 nulles gēnu ir neauglīgas (*Barker et al*., 1996). Mātes IGF-1 stimulē augļa augšanu, aktivizējot barības vielu transplacentāro transportu (*Iwashita,* 1994). Augļa intrauterīnās augšanas aiztures gadījumā novēro kompensatoru IGF-1

koncentrācijas pieaugumu asins plazmā (*Holmes et al*., 1999; *Ozkan et al*., 2008a). Pacientēm ar preeklampsiju placentās novēro palielinātu IGF-1 imūnreaktivitāti (*Ozkan et al*., 2008b). Tomēr zinātniskie pētījumi par IGF-1 turpinās.

1.3.5. Hepatocītu augšanas faktors

1983. gadā *Nakamura* aprakstīja hepatocītu augšanas faktoru HGF un pierādīja tā spēju stimulēt epiteliocītu proliferāciju, morfoģenēzi un angioģenēzi dažādās orgānu sistēmās (*Nakamura et al*., 1983). Sākumā HGF tika aprakstīts kā hepatocītu mitogēns, kas veicina aknu reģenerāciju (*Nakamura et al*., 1984), bet vēlāk tika noskaidrots, ka minētais proteīns piedalās praktiski visu orgānu sistēmu reģenerācijā (*Matsumoto et al*., 1992).

Implantācijas laikā HGF regulē trofoblasta invāziju (*Kauma et al*., 1999). Embrioģenēzes procesā HGF producē mezenhimocīti un tas kā morfogēnais faktors piedalās organoģenēzē (*Barros et al*., 1995; *Ohmichi et al*., 1998).

Orgānu bojājumu gadījumā asins plazmā pieaug HGF līmenis (*Funakoshi et al*., 2003). HGF palielina tubulāro epiteliocītu reģenerāciju nierē pēc unilaterālas nefrektomijas (*Kawaida et al*., 1994), inducē mitoģenēzi plaušās pēc to bojājuma (*Ohmichi et al*., 1996), sekmē gastrointestinālās gļotādas dzīšanu (*Nakahira et al*., 2006). HGF piedalās ādas (*Yoshida et al*., 2003) un matu (*Lindner et al*., 2000) atjaunošanā, kā arī skeleta muskulatūras (*Sisson et al*., 2009) un skrimšļa (*Wakitani et al*., 1997) bojājumu reparācijā.

HGF stimulē hemopoēzi, veicinot tās priekšteču šūnu proliferāciju (*Takai et al*., 1997) un trombopoetīna sintēzi aknās (*Kosone et al*., 2007). Tas piedalās glikozes metabolismā, sekmējot beta šūnu proliferāciju un insulīna produkciju Langerhansa saliņās (*Dai et al*., 2003). Līdz ar to pieauguša cilvēka organismā HGF ir svarīga nozīme kā parakrīnajam vai endokrīnajam mediatoram orgānu reģenerācijā, morfoģenēzē un kanceroģenēzē (*Nakamura et al*., 1992).

1.4. Inervācija un centrālās nervu sistēmas attīstība

1.4.1. Sinaptofizīns

Sinaptofozīns ir viens no vislabāk izpētītajiem sinaptiskajiem proteīniem (galvenais sinaptisko pūslīšu glikoproteīns), kas regulē sinapses funkcijas ar kalcija transporta palīdzību (*Sudhof et al*., 1987; *Pennuto et al*., 2003). Šis neiropeptīds piedalās neironu augšanā, kā arī sinaptoģenēzē un nodrošina kontaktus starp CNS un PNS (*Wiedemann un Franke*, 1985; *Gould et al*., 1986; *Buffa et al*., 1988).

Sinaptofizīns atrodams visos neironos un neiroendokrīnajās šūnās. Pašreiz sinaptofizīnu lieto kā sinapšu un neiroendokrīno šūnu marķieri, kā arī neiroendokrīno audzēju diagnostikā (*Calhoun et al*., 1996).

1.4.2. Hromogranīni A un B

Hromogranīni – A un B skābo sekretoro glikoproteīnu – granīnu saimes locekļi sākumā tika identificēti hromatofīnajās šūnās (*Uvnas et al*., 1977). Tie ir plaši izplatīti nervu un endokrīnajās šūnās. Hromogranīni ir prohormoni – tādu neiropeptīdu kā vazostatīns, pankreostatīns, katestatīns, parastatīns priekšteči (*Eiden*, 1987). Tie piedalās sekretoro granulu bioģenēzē un regulē hormonu izdali (*Larsson et al*., 1992; *Tischler*, 2002; *Hendy et al*., 2006).

Iepriekšējo gadu pētījumi apliecināja plašu hromogranīnu izplatību centrālajā nervu sistēmā (*Somogyi et al*., 1984; *Weiler et al*., 1990; *Schafer et al*., 1994), bet perifērajā nervu sistēmā hromogranīni (pārsvarā hromogranīns A) tika novēroti retāk (*Fisher-Colbrie et al*., 1985). Hromogranīnus atrod ne tikai nervu sistēmā, bet arī virsnieru serdē, enterohromatofinajās šūnās, paraganglijos un Langerhansa saliņu beta šūnās (*Helman et al*., 1988).

1.4.3. Glijas fibrillārais skābais proteīns

Glijas fibrillārais skābais proteīns (GFAP) ir starpdiedziņu proteīns, kuru sākumā uzskatīja par astrocītu citoskeleta specifisku sastāvdaļu (*Pekny et al*., 2004), bet vēlāk identificēja arī ependimā (*Sarnat*, 1998) nierēs, Leidiga šūnās, osteocītos,

hondrocītos, keratinocītos, aknās un aizkuņģa dziedzerī (*Fuchs and Weber*, 1994; *Eng et al*., 2000). CNS embrioģenēzē GFAP regulē neiroglijas diferenciāciju un migrāciju, vēlāk pārveidojas par astrocītu nobriešanas marķieri (*Royds et al*., 1986; *Gomes et al*., 1999; *McLendon*, 1994). GFAP pieauguša cilvēka organismā piedalās astrocītu mitozē (*Tardy et al*., 1990), regulē vārpstas dalīšanās funkciju, stabilizē hematoencefālisko barjeru (*Goss et al*., 1991). CNS atrod arī ependimocītos, PNS – Švāna šūnās, satelītu šūnās un zarnu glijas šūnās (*Conrad et al*., 2009). Tas tiek izmantots klīniskajā praksē audzēju diagnostikā, arī kā astrocītu marķieris.

1.4.4. Proteīngēnviela 9.5

Proteīngēnviela 9.5 (PGP 9.5) ir olbaltumviela, kuru no smadzeņu audiem 1973. gadā izdalīja *Thompson* (*Thompson et al*.,1983). Šī viela ir visplašāk izplatīta CNS, PNS un neiroendokrīno šūnu citoplazmā (*Lauweryns and Van Ranst*, 1988; *Campbell et al.*, 2003) un tiek lietota kā viens no precīzākajiem nervu šūnu, nervu šķiedru (*Lundberg et al*., 1988; *Quinn*, 2007) un neiroendokrīno šūnu marķieriem (*Howarth et al*., 1995; *Wick*, 2000). PGP 9.5 atrodama arī ārpus nervu sistēmas un tādos orgānos kā gonādas un nieres (*Diomedi-Camassei et al*., 2005) un mezenhimālajās neoplazmās (*Campbell et al*., 2003).

Patoloģiskajiem procesiem ir raksturīgas audu inervācijas izmaiņas, piemēram, *Quinn* pierādīja, ka adenomiozes gadījumā dzemde samazina PGP 9.5 imūnreaktivitāti, tātad adenomiozei arī ir raksturīgs samazināts nervu šķiedru daudzums salīdzinājumā ar normu (*Quinn*, 2007).

1.5. Citokeratīni 5 un 13

Epiteliālās šūnas satur starpdiedziņu filamentus, kas veidoti no polipeptīdu – citokeratīnu ķēdēm (*Franke et al*., 1979). No 2006. gada tika ieviesta jauna citokeratīnu klasifikācija, kurā citokeratīnus piedāvāts saukt par keratīniem, tomēr zinātniskajā literatūrā joprojām lieto vēsturisko nosaukumu. Cilvēka audos ir zināmi vismaz divdesmit keratīnu veidi (apzīmē ar arābu cipariem no 1 līdz 20), kas tiek ekspresēti epitēlijos dažādās specifiskās kombinācijās. Minēto citokeratīnu iezīmes izmanto vēža

diagnostikā un epiteliocītu diferenciācijas pakāpes noteikšanā (*Schweizer et al*., 2006). Citokeratīni embrioģenēzē tiek ekspresēti mezenhimocītos, dzemdes un asinsvadu gludajos miocītos, nabas saites stromā un miokardā (*Remotti et al*., 2000).

Visi vienkārtainie un daudzkārtainie epitēliji ekspresē CK 8 un CK 18. Diferencejoties, daudzkārtainie epitēliji zaudē CK 8 un CK 18, bet satur no CK 1 līdz CK 6 un no CK 10 līdz CK 17; CK 5 un CK 14/15 ekspresē bazālā slāņa šūnas (*Chu et al*., 2002). Keratinizācijai raksturīgi CK 1/2 un CK 10.

CK 5 kopā ar savu partneri skābo CK 14 atrod daudzkārtaino plakano epitēliju bazālajā slānī (*Lersch un Fuchs*, 1988; *Casatorres et al*., 1994). Uzskata, ka CK 5 un CK 14 saturošās šūnas ir virsējo slāņu priekšteču šūnas, respektīvi, mazdiferencētie keratinocīti (*Byrne et al*., 1994; *Fuchs*, 2007).

CK 13 uzskata par nepārragota epitēlija marķieri (*Gao un Mackenzie*, 1992), bet ir zināms, ka tā nav CK 13 vienīga funkcija. *Olson* konstatēja, kā cilvēka endometrija luminālās šūnas sekretorajā fāzē un truša endometrija luminālās šūnas periimplantācijas fāzē ekspresē CK 13 (*Olson et al*., 2002).

1.6. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija

1.6.1. BARX1 gēns

BARX1 gēns pieder pie Bar apakšklases *homeobox* gēnu saimes. Tas tika identificēts 1995. gadā (*Tissier-Seta et al*., 1995). Šis gēns embrioģenēzē regulē sklerogēnās un neiromezenhīmas attīstību, nosaka epitēlija un mezenhīmas mijiedarbību. *Tissier-Seta* pierādīja BARX1 nozīmi galvas mezenhīmas diferenciācijā, proti, augšžoklī, mēles kārpiņās un aukslēju aizmetņos. Embrija kaklā un galvas audos BARX1 tiek ekspresēts līdz mezenhīmas histodiferenciācijas brīdim. Tas liecina par BARX1 nozīmi saistaudu embrioģenēzē (*Mitsiadis et al*., 1998).

Pēdējo gadu pētījumi liecina par BARX1 nozīmi arī iekšējo orgānu attīstībā (*Guy et al*., 2004), tāpat arī *Miletich* un *Kim* norāda uz gēna nozīmi kuņģa epitēlija diferenciācijā un liesas attīstībā (*Miletich et al*., 2005; *Kim et al*., 2005; *Kim et al*., 2007). BARX1 ekspresiju novēro CNS un PNS embrionālās attīstības gaitā (*Jones et al*., 1997), kā arī ekstremitāšu aizmetņos (*Church et al*., 2005). Uzskata, ka gēns

piedalās embrija priekšējās zarnas attīstībā un regulē elpvada un barības vada sadalīšanu un epitēlija attīstību (*Woo et al*., 2011).

Turpmākā BARX1 gēna pētīšana parādīs tā plašāku nozīmi audu diferenciācijā un attīstībā.

1.6.2. Muskuļu segmentu homeoboksa gēns 2

Msx2 ir *homeobox* gēnu saimes loceklis, zināms arī, ka HOX8 ir transkripcijas faktors. Msx2 gēns kodē proteīnu, kas modificē transkripcijas aktivitāti un regulē apoptozi un to nervu kores šūnu izdzīvošanu, kuras piedalās kraniofaciālajā morfoģenēzē (*Liy et al*., 1995; *Takahashi et al*., 1996) un galvas asinsvadu attīstībā (*Lopes et al*., 2011). *Quadir* pierādīja, ka TNF alfa inducē Msx2 gēna ekspresiju un supresē adipocītu diferenciāciju (*Quadir et al*., 2011). Msx2 mezenhimāla ekspresija ekstremitāšu aizmetņos ir nepieciešama pirkstu skaita un lokalizācijas noteikšanai (*Bensoussan-Trigano et al*., 2011).

Msx2 embrioģenēzē piedalās mezenhīmas attīstībā un diferenciācijā, nosakot arī mezenhimālu transformāciju endotēlijā, kad attīstās sirds (*Chen et al*., 2008) un tās vārstuļi (*Chakraborty et al*., 2010).

1.7. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze

Jēdziens *apoptoze* tika izveidots 1972. gadā endogēni regulētas programmētās šūnu nāves apzīmēšanai (*Kerr et al*., 1972). Pašreiz apoptozes darbības uzsākšanas mehānismi ir plaši aprakstīti un ir zināms, ka tie ir saistīti ar kaspāzes un Bcl2 saimes locekļu aktivizāciju, kura parādās kā atbildes reakcija uz fizioloģiskajiem un traumatiskajiem signāliem (*Danial and Korsmeyer*, 2004; *Hotchkiss et al*., 2009).

Cilvēka organisma šūnās nepārtraukti notiek apoptoze, kas pastāvīgi atjaunojas, piemēram, ādas epidermas keratinocītos (*Pustisek et al*., 2011). Apoptoze ir plaši atrodama embrioģenēzē un gan tiek aktivizēta epigenēniski (faktori, kas nav ģenētiski determinēti), gan ir ģenētiski ieprogrammēta (*Betss et al*., 2001). Apotozes atradne un regulācija ir izsmeļoši aprakstīta vērša embrijam, kas ir atbilstošs modelis agrīnai zīdītāju attīstībai (*Lonergan et al*., 2007).

Viena no metodēm, kuru lieto apoptotisko šūnu identifikācijai, ir *TUNEL* metode, kas nosaka DNS fragmentāciju. Metode pamatojas uz deoksinukleo tidiltransferāzes mediētās DNS terminālo 3-galu marķēšanu ar deoksiuridinfosfātu. Ir zināms, ka hromatīna, kodola un DNS fragmentārisms ir klasiskas programmētās šūnu nāves pazīmes. Ar *TUNEL* metodi identificē apoptotiskas šūnas zīdītāju un arī cilvēka blastocistā (*Fabian et al*., 2005).

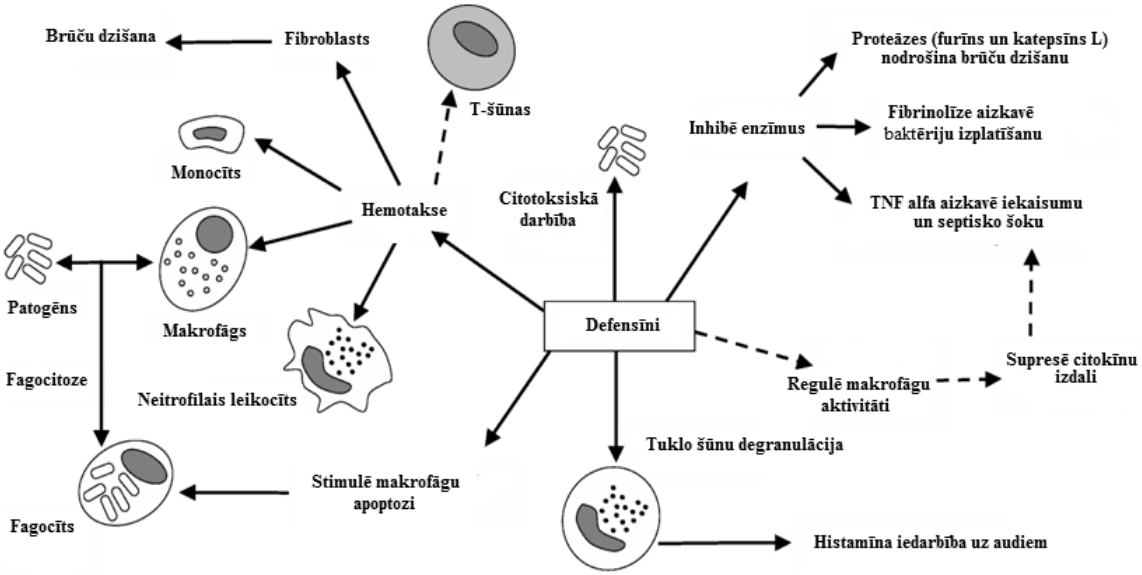
Kaspāzes ir cisteīnu saturošas proteāzes (apzīmē ar arābu cipariem no 1 līdz 14). Iniciatoras kaspāžu saimes olbaltumvielas aktivizēšana provocē reakcijas kaskādi, kas izraisa šūnu nāvi (*Villa et al*., 1997). Audzēja nekrozes faktors alfa (TNF alfa) piesaistās pie tās membrānas receptora un iedarbina kaspāzi 8 un 10 (ārējais ceļš), mitohondriālajā membrānā aktivizējas kaspāze 9 (iekšējais ceļš). Šīs iniciatorās kaspāzes aktivizē efektorās kaspāzes 3, 6 un 7, kas savukārt sinhroni šķeļ olbaltumvielas dažādās šūnu daļās (*Coleman et al*., 2001). Atšķirīgu kaspāžu aktivizācija ir atkarīga no substrāta un šūnām (*Slee et al*., 2001; *Walsh et al*., 2008). Kaspāzi 6 uzskata par „nāvessoda izpildītāju", kas koordinē vairāku strukturālo un reģenerācijas olbaltumvielu sadalīšanu (*Slee et al*., 2001).

1.8. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas

Cilvēka defensīni ir antimikrobās iedarbības olbaltumvielas, ko producē neitrofilie leikocīti un dažādas epiteliālās šūnas ādā, respiratorajā, gastrointestinālajā un uroģenitālajā gļotādā (*Lehrer and Ganz*, 1996). Cilvēkam ir aprakstītas divas defensīnu grupas: alfa un beta, kas atšķiras pēc cisteīna palieku lokalizācijas molekulā (*Ganz,* 2005).

Cilvēka beta grupas defensīnus aktivizē citokīni, interferons, TNF alfa (sk. 1.3. attēlu). Defensīni darbojas gan citotoksiski, gan stimulē imūno atbildi, mobilizējot T limfocītus, neitrofilos leikocītus un dendrītiskās šūnas, veicina tuklo šūnu degranulāciju. Defensīnu ietekmē palielinās makrofāgu fagocitārā aktivitāte un aktivizējas makrofāgu apoptoze. Šīs antimikrobās iedarbības olbaltumvielas sekmē brūču dzīšanu, aktivizējot fibroblastu darbību un regulējot proteāžu izdali (*Yang et al*., 1999; *Schroder et al*., 1999; *Garcia et al*., 2001). Cilvēka defensīns beta 2 nodrošina potenciālu antimikrobu aizsardzību pret gramnegatīvajām baktērijām *(Pseudomonas aeroginosa, Escherichia coli*) un *Candida* sēnēm (*Schneider et al*., 2005).

Endometrija epitēlija stromas neitrofilie leikocīti izdala cilvēka alfa un beta defensīnus, un ir pierādīts, ka tie neietekmē embrija implantāciju dzemdē (*Das et al*., 2007). Placentā un augļa apvalkos *E. Coli* ascendējošas infekcijas ietekmē novēro palielinātu cilvēka defensīnu beta 1, 2 un 3 izdali (*Garcia-Lopez et al*., 2010), bet defensīnu nozīme cilvēka embrija organoģenēzē nav pietiekami labi izpētīta.



1.3. att. Defensīnu iedarbība (adaptēts pēc *Ganz*, 2005)

2. MATERIĀLI UN METODES

2.1. Pētāmais materiāls

2.1.1. Pētāmie audi

Pētījumā iekļautas trīs audu grupas:

1) olvada audi ārpusdzemdes grūtniecības operācijas materiālā;

2) ķirurģiskā aborta operācijas materiāls;

3) embrija audi ķirurģiskā aborta operācijas materiālā.

Pētījumam tika izmantoti olvada audi no 17 pacientēm ar plīsušu vai progresējošu olvada grūtniecību. Tie tika iegūti salpingektomijas laikā, iepriekš saņemot pacientes informēto piekrišanu (sk. INFORMĀCIJA PAR PĒTĪJUMU UN PIEKRĪŠANA DALĪBAI PĒTĪJUMĀ pielikumā)

Olvada grūtniecības audus salīdzinājām ar dzemdes grūtniecības audiem, kas tika iegūti no 10 pacientēm, kuras pārtrauca grūtniecību pēc savas vēlēšanās. Audu paraugus ņēmām laika posmā no 2007. g. līdz 2008. gadam Rīgas 1. slimnīcā un SIA „Medicīnas centrā Elite". Kopējais pacienšu skaits − 27.

Operācijas tehnika bija atbilstoša Bezpeļņas organizācijas valsts akciju sabiedrības „Veselības statistikas un medicīnas tehnoloģijas aģentūrā" apstiprinātajām tehnoloģijām. Embriji un audi tika paņemti tikai tādos gadījumos, kad pēc sievietes vēlēšanās grūtniecība tika mākslīgi pārtraukta pirms 12. gestācijas nedēļas vai ārpusdzemdes grūtniecības operācijas laikā bija veikta grūtniecības pārtraukšana un pārtraukta arī embrija attīstība.

Pētījums tika veikts saskaņā ar RSU Ētikas komisijas atļauju (18.12.2007), un tā rezultātā netika nodarīts kaitējums sievietes veselībai.

2.1.2. Olvada audi ārpusdzemdes grūtniecības operācijas materiālā

Visas 17 pacientes tika stacionētas akūtā stāvoklī ar diagnozi ārpusdzemdes grūtniecība vai diagnozes kodu O00 saskaņā ar Starptautiskā slimību klasifikatora 10. versiju (sk. 2.1. tabulu). Katrai pacientei tika piešķirts kārtas numurs, lai nodrošinātu

personas datu neizpaušanu pētījuma gaitā, un savākti anamnēzes dati. Anketēšanu veica pētnieks pirms operācijas (sk. ANKETAS PARAUGS pielikumā). Mūs interesēja dati par pacientes vecumu, grūtniecību, abortu, IIS epizožu un partneru skaitu, STS un olvada operācijām anamnēzē. Dokumentējām arī kontracepcijas metodi, ko izmantoja pacientes. Grūtniecības laiku noteicām pēc pēdējo menstruāciju pirmās asiņošanas dienas. Pētījumā iekļāvām tikai tādas pacientes, kurām bija iespējama vienīgi operatīva ārpusdzemdes grūtniecības ārstēšana, proti, olvada izņemšana. Operācijas pieeja konvencionālā vai endoskopiskā metode, bija atkarīga no pacientes stāvokļa un tehniskām iespējām (sk. 2.1. tabulu). Uzskaitot pacientes, tās grupējām pēc grūtniecības nedēļu skaita.

2.1. tabula

Diagnoze un operācijas veids pacientēm ar olvada grūtniecību

Nr. p.k.	Vecums (gados)	Grūtniecības laiks (nedēļas)	Diagnoze	Operācija
1.	27	4/5	*Graviditas tubaria sinistra. Cystis ovarii sinistra. Adhesiones pelvis minor*	*Laparotomia. Adnexectomia sinistra*
2.	28	4/5	*Graviditas tubaria dextra. Adhesiones pelvis minor*	*Laparotomia. Adnexectomia dextra*
3.	31	4/5	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparoscopia. Salpingectomia dextra*
4.	38	4/5	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparatomia. Salpingectomia dextra*
5.	43	4/5	*Graviditas tubaria sinistra*	*Laparoscopia. Salpingectomia sinistra*
6.	23	5/6	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparotomia. Salpingectomia dextra*
7.	24	5/6	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparoscopia. Salpingectomia sinistra*
8.	24	5/6	*Graviditas tubaria dextra. Adhesiones pelvis minor*	*Laparoscopia. Salpingectomia dextra*
9.	31	5/6	*Graviditas tubaria sinistra*	*Laparoscopia. Salpingectomia sinistra*
10.	32	5/6	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparotomia. Salpingectomia dextra*
11.	33	5/6	*Graviditas tubaria sinistra*	*Laparoscopia. Salpingectomia sinistra*
12.	24	6/7	*Graviditas tubaria sinistra. Cystis ovarii sinistra*	*Laparatomia. Adnexectomia sinistra*
13.	25	6/7	*Graviditas tubaria sinistra. Adhaesiones pelvis minor*	*Laparotomia. Salpingectomia sinistra*

tabulas nobeigums

Nr. p.k.	Vecums (gados)	Grūtniecības laiks (nedēļas)	Diagnoze	Operācija
14.	25	6/7	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparoscopia. Salpingectomia dextra*
15.	30	6/7	*Graviditas tubaria sinistra. Adhaesiones pelvis minor*	*Laparoscopia. Salpingectomia sinistra*
16.	31	6/7	*Graviditas tubaria dextra*	*Laparoscopia. Salpingectomia dextra*
17.	35	6/7	*Graviditas tubaria dextra. Myoma uteri*	*Laparoscopia. Salpingectomia dextra*

2.1.3. Ķirurģiskā aborta operācijas materiāls

Endometrija audi tika savākti no 10 pacientēm, kuras brīvprātīgi pārtrauca savu kārtējo grūtniecību. Grūtniecības pārtraukšana tika veikta saskaņā ar Latvijas Republikas Seksuālās un reproduktīvās veselības likuma 5. panta otro daļu un Ministru kabineta noteikumiem Nr. 590 par „Grūtniecības pārtraukšanas organizatorisku kārtību".

Katrai pacientei tika piešķirts arī kārtas numurs, lai nodrošinātu personas datu neizpaušanu pētījuma gaitā (sk. 2.2. tabulu).

2.2. tabula

Vecums un grūtniecības laiks pacientēm ar fizioloģisku grūtniecību

Nr.p.k.	Vecums (gados)	Grūtniecības laiks (nedēļas)
1.	25	5/6
2.	37	5/6
3.	31	5/6
4.	25	5/6
5.	25	5/6
6.	42	6
7.	29	6
8.	37	6/7
9.	26	8
10.	31	12

Katras pacientes anamnēzes dati tika iegūti pirms operācijas izdarīšanas. Dati par pacientes vecumu, grūtniecību, abortu, IIS epizožu un partneru skaitu, STS un olvada operāciju esamību anamnēzē un pacientes izmantoto kontracepcijas metodi tika dokumentēti. Grūtniecības laiku noteicām pēc pēdējas menstruācijas pirmās asiņošanas dienas. Uzskaitot pacientēs, tās grupējām pēc grūtniecības nedēļu laika.

Grūtniecība tika pārtraukta ar ķirurģisku metodi, proti, dzemdes kiretāžu, pēc kuras audi tika savākti un fiksēti. Turpmākā audu šķirošana tika veikta RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā.

2.1.4. Embrija audi ķirurģiskā aborta operācijas materiālā

Pēc dzemdes grūtniecības operācijas materiāla audu šķirošanas embrija audi tika iegūti no 10 pacientēm (sk. 2.3. tabulu). Operācijas materiālā atradām divus veselus embrijus un embriju audu fragmentus, proti, ekstremitātes, iekšējo orgānu kompleksu un galvu. Uzskaitot pacientes, tās grupējām pēc grūtniecības nedēļu skaita.

2.3. tabula

Embriju audu grupas raksturojums

Nr.p.k.	Grūtniecības laiks (nedēļas)	Karnegi stadija	Embriju audi
1.	5/6	18.	vesels
2.	5/6	17.	vesels
3.	5/6	17.	galva
4.	5/6	18.	ķermeņa fragmenti, roka
5.	5/6	18.	ķermeņa fragmenti
6.	6	19.	ķermeņa fragmenti
7.	6	18.	ķermeņa fragmenti
8.	6/7	19.	ķermeņa fragmenti
9.	8	20.	ķermeņa fragmenti
10.	12	23.	ķermeņa fragmenti

2.2. Morfoloģiskās metodes

2.2.1. Audu fiksācija

Audu fiksācija uz 24 stundām tika veikta „Medicīnas centra Elite" un Rīgas 1. slimnīcas ginekoloģijas nodaļas operāciju zālēs pēc legālā aborta vai ārpusdzemdes grūtniecības operāciju veikšanas. Šim nolūkam tika izmantots piesātināts pikrīnskābes šķīdums (2% formaldehīda un 0,2% pikrīnskābes 0.1 M fosfātbuferī pH7.2). Pēc fiksācijas audu gabaliņus nogādāja RSU AAI Morfoloģijas laboratorijā, kur paraugus iegremdēja parafīnā pēc procesešanas procedūras. No parafīna blokiem tika pagatavoti 5 μm biezi griezumi. Tos deparafinizēja, dehidratēja ar spirtu (96°, 96°, 70°) un 10 minūtes skaloja destilētā ūdenī, pēc tam − fosfātu buferšķīdumā.

2.2.2. Rutīnas krāsošanas metodes

No katras pacientes operācijas laikā iegūtā audu materiāla tika sagatavoti 5μm biezi griezumi, kurus krāsoja ar hematoksilīnu un eozīnu (*Lillie et al.,* 1976). Nokrāsotie preparāti tika analizēti ar gaismas mikroskopijas tehniku, lietojot, ar *Leica DM RB* (Vācija) mikroskopu. Histoloģiskā aina tika fiksēta ar *Leica Microsystem AG* (Vācija) digitālo kameru.

2.2.3. Biotīna-streptavidīna imūnhistoķīmijas metode (*Hsu et al.,* 1981) un reaktīvi

Deparafinizētie paraugi tika ievietoti turētājā, ko ievietoja konteinerī ar citrāta buferi. Konteineri ar paraugiem uz 20 minūtēm ievietoja mikroviļņu krāsnī, tad izņēma no krāsns un atdzesēja, pēc tam ievietoja mazgāšanas buferī uz piecām minutēm. Piecas minūtes tika veikta bloķēšana ar peroksidāzi, tad – piecas minūtes ilga skalošana TRIS buferī. Tad audus 30 minūtes apstrādāja ar primārām antivielām un piecas minūtes tika veikta mazgāšana TRIS buferī. 30 minūtes tika izmantots *En Vision* (*Dako,* Dānija) vai *Immuno Cruz SC-2053* (ASV) krāsojošais komplekss. Tika lietots hromogēns diaminobenzidīns (DAB), kuru noskaloja un griezumus kontrastēja 2 minūtes ar

hematoksilīnu. Par imūnpozitīvām uzskatīja struktūras, kas diaminobenzidīna (DAB) ietekmē iekrāsojās brūnas. Antivielas, kas tika izmantotas augšanas faktoru, neiropeptīdu un gēnu imūnhistoloģiskai noteikšanai, ir aprakstītas 2.4. tabulā.

2.4. tabula

Pētījumā izmantotās antivielas

Faktors	Kods	No kā iegūts	Darba atšķaidījums	Ražotājs
BARX1	ab26156	truša	1:250	*Abcam*, Lielbritānija
bFGF	ab16828	truša	1:200	*Abcam*, Lielbritānija
Cilvēka defensīns beta 2	AF2758	kazas	1:100	*RnDsystems*, Vācija
CK13	ab58744	truša	1:250	*Abcam*, Lielbritānija
CK5	ab24647	truša	1:1000	*Abcam*, Lielbritānija
FGFR1	ab10646	truša	1:100	*Abcam*, Lielbritānija
GFAP	M0761	peles	1:50	*DakoCytomation*, Dānija
HGF	AF-294-NA	kazas	1:300	*RnDsystems*, Vācija
Hromogranīni A un B	B315100	peles	1:10	*DakoCytomation*, Dānija
IGF-1	MAB291	kazas	1:100	*RnDsystems*, Vācija
IGF-1R	AF-305-NA	peles	1:100	*RnDsystems*, Vācija
Kaspāze 6	ab52951	peles	1:100	*Abcam*, Lielbritānija
MMP 2	AF902	kazas	1:100	*RnDsystems*, Vācija
MMP 9	AF911	kazas	1:250	*RnDsystems*, Vācija
Msx2/HOX8	ab22601	peles	1:250	*Abcam*, Lielbritānija
NGF bāziskais	ab6199	truša	1:500	*Abcam*, Lielbritānija
NGFRp75	M3507	peles	1:150	*DakoCytomation*, Dānija
PGP 9.5	Z 5116	truša	1:150	*DakoCytomation*, Dānija
Sinaptofizīns	M0776	peles	1:10	*DakoCytomation*, Dānija
TGF beta 1	ab1279	peles	1:1000	*Abcam*, Lielbritānija

Katrai preparātu sērijai tika sagatavoti pozitīvie un negatīvie kontroles paraugi. Nokrāsotie preparāti tika analizēti, izmantojot gaismas mikroskopijas tehniku, respektīvi, ar *Leica DM RB* (Vācija) mikroskopu, pēc tam − ar programmu *Image Pro Plus* videoattēlu analizatoru sistēmā. Histoloģiskā aina tika fiksēta ar *Leica Microsystem AG* (Vācija) digitālo kameru.

2.2.4. *TUNEL* metode

Apoptozes noteikšanai tika izmantots standartizētas tehnikas komplekts *In Situ Cell Death Detection, POD Cat. No. 11684817910 Roche Diagnostics* (*Negoescu et al.,* 1998). Deparafinizētie audu paraugi 10 minūtes tika turēti fosfātu buferšķīdumā, kas saturēja 0,25% *TrixtonX-100*. Tad 30 minūšu laikā ar 3% ūdeņraža peroksīdu tika veikta endogēnās peroksidāzes aktivitātes bloķēšana, un paraugi trīs reizes piecu minūšu ilgumā tika skaloti fosfātu buferšķīdumā. Tad audu griezumi tika ievietoti citrāta buferšķīdumā un uz 10 minūtēm ielikti mikroviļņu krāsnī (lai atmaskotu antigēnu), pēc tam tos istabas temperatūrā atdzesēja. Audu griezumus pārklāja ar *DNase*, pēc tam tie tika mazgāti fosfātu buferšķīdumā un uz 10 minūtēm ievietoti 0,1 % govs seruma albumīna fosfātu bufera šķīdumā. Audu griezumus 30 minūtes 37°C inkubēja ar *TUNEL* (primārā antiviela). Pēc skalošanas fosfātu buferšķīdumā griezumus 30 minūtes 37°C inkubēja ar sekundāru antivielu, kas ir aitas antivielas fragments, kas konjugēts ar mārrutku peroksidāzi (*Converter – POD*) *Fab*. Pēc skalošanas fosfātu buferšķīdumā griezumus uz 7 minūtēm pārklāja ar diaminobenzidīna (DAB) homogēnu šķīdumu peroksidāzes noteikšanai un skaloja destilētā ūdenī. Kontrastkrāsošana tika veikta ar hematoksilīnu.

2.2.5. Datu apstrādes metodes

Imūnhistoķīmiski noteikto struktūru relatīvā biežuma apzīmēšanai tika lietota puskvantitatīvās skaitīšanas metode (*Tobin et al.,* 1990; *Pilmane et al*., 1998; *Pilmane et al*., 1999). Struktūru daudzums tika analizēts nejauši izvēlētos viena griezuma piecos redzes laukos. Tālākai analizēšanai izvēlējāmies vidēju struktūru daudzumu. Puskvantitatīvajai metodei tika izmantoti 2.5. tabulā dotie apzīmējumi.

2.5.tabula

Puskvantitatīvās metodes apzīmējumi

Apzīmējums	Skaidrojums
0	redzes laukā netika redzēta neviena pozitīva struktūra
+	redzes laukā − maz pozitīvu struktūru
++	redzes laukā − vidēji daudz pozitīvu struktūru
+++	redzes laukā − daudz pozitīvu struktūru

Izmantojot *TUNEL* metodi, arī nejauši tika izvēlēti 5 redzes lauki, kuros no 100 redzamām šūnām tika skaitītas pozitīvās apoptotiskās šūnas (pozitīvais krāsojums kodolos). Tika noteikts arī apoptotiskais indekss: apoptotisko šūnu attiecība pret visām pārējām šūnām no 100 skaitītajām (*Itoh et al.,* 2001).

Pētījuma grupu vispārīgai raksturošanai tika lietotas vispārpieņemtās aprakstošās statistikas metodes (*Altman,* 2000; *Teibe and Berkis*, 2001). Iegūto datu puskvantitatīvai izvērtēšanai tika izmantotas neparametriskās statistikas metodes. Divu neatkarīgu grupu salīdzināšanai, lietojot rangu skalas lielumus, tika lietots Manna−Vitnija (*Mann−Whitney*) tests. Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p<0,05$. Vairāku izlašu salīdzināšanai tika izmantots Kraskela−Vollisa (*Kruskal−Wallis*) tests. Korelācijas koeficients ir divu vai vairāku mainīgu lielumu saistības ciešuma kvantitatīvs rādītājs. Pēc rangu skalas lielumiem tika aprēķināts t.s. Spīrmena korelācijas koeficients (*Christensen*, 1996). Pētījumā kvalitatīvā saistība starp mainīgajiem, balstoties uz korelācijas koeficienta lielumu, tika novērtēta kā vāja, vidēja vai cieša (Krastiņš, 1990). Korelācijas koeficienta sadalījums bija šāds: r = 0–0,3 − vāja, maznozīmīga korelācija; r = 0,4–0,7 − vidēja korelācija; r = 0,7–0,9 − cieša korelācija. Statistiskā analīze veikta, izmantojot SPSS 17 (*SPSS Inc., USA*).

3. REZULTĀTI

3.1. Olvada grūtniecības pacienšu raksturojums

Visas pacientes iestājušās stacionārā progresējošas vai plīsuša olvada grūtniecības ārstēšanai. Diagnoze tika noteikta ambulatori. Pētījumā iekļāvām tikai tādas pacientes, kurām bija iespējama vienīgi operatīva ārpusdzemdes grūtniecības ārstēšana, t.i., olvada izņemšana. Līdz ar to katrai pacientei tika veikta *salpingectomia* labajā vai kreisajā pusē. Operācijas atradne tika dokumentēta katrai pacientei (sk. 3.1. tabulu).

3.1. tabula

Operācijas atradne pacientēm ar olvada grūtniecību

Nr. p.k	Gr.l. (nedēļas	Lokalizācija	Operācijas atradne
1.	4/5	labā olvada ampulārā daļa	labais olvads paplašināts, ampulārā daļā − 6x2cm, cieši saaudzis ar dzemdi un labo olnīcu, vēderā dobumā − 70ml serozi asiņaina izsvīduma
2.	4/5	kreisā olvada ampulārā daļa	kreisā olnīca ar multiplām cistām, kreisais olvads paplašināts ampulārajā daļā, ar cianotisku saturu, vēdera dobumā − 600ml asiņu
3.	4/5	kreisā olvada ampulārā daļa	kreisais olvads paplašināts ampulārajā daļā 2x3cm, izsvīdums Duglasa dobumā − 50ml
4.	4/5	labā olvada ampulārā daļa	labais olvads paplašināts ampulārajā daļā, izsvīdums Duglasa dobumā − 40ml
5.	4/5	labā olvada ampulārā daļa	labā olvada ampulārā daļa paplašināta, izsvīdums Duglasa dobumā – niecīgs
6.	5/6	labā olvada ampulārā daļa	labais olvads paplašināts 3x2cm, no tā gala izdalās asinis, vēdera dobumā − 100ml asiņu
7.	5/6	kreisā olvada ampulārā daļa	mazajā iegurnī saaugumi, kreisais olvads paplašināts ampulārajā daļā, no tā izdalās asins recekļi, vēdera dobumā − 100ml asiņu
8.	5/6	labā olvada ampulārā daļa	mazajā iegurnī saaugumi, labā olvada ampulārajā daļā 4x6 cm liels veidojums, vēderā dobumā − 300ml asiņu
9.	5/6	labā olvada ampulārā daļa	labais olvads paplašināts ampulārajā daļā, izsvīdums Duglasa dobumā − 40ml

tabulas nobeigums

Nr. p.k	Gr.l. (nedēļas	Lokalizācija	Operācijas atradne
10.	5/6	labā olvada ampulārā daļa	Dzemde nedaudz palielināta, labais olvads cianotisks, paplašināts, ar plīsumu ampulārajā daļā, vēdera dobumā − 500ml asiņu
11.	5/6	kreisā olvada ampulārā daļa	kreisā olvada ampulārā daļa paplašināta, izsvīdums Duglasa dobumā – niecīgs
12.	6/7	kreisā olvada ampulārā daļa	saaugumi starp dzemdi, olvadu un olnīcu, kreisā olnīca ar biezu kapsulu 5x6cm, kreisā olvada ampulārā daļa paplašināta, tajā asins recekļi, izsvīdums Duglasa dobumā − 70ml
13.	6/7	kreisā olvada ampulāra daļa	kreisais olvads paplašināts ampulārajā daļā − 3x3cm, izsvīdums Duglasa dobumā − 50ml
14.	6/7	kreisā olvada ampulārā daļa	kreisā olvada ampulārā daļa paplašināta, mazajā iegurnī saaugumi
15.	6/7	labā olvada ampulārā daļa	labais olvads paplašināts ampulārajā daļā 2x3cm, vēdera dobumā − 200ml asiņu
16.	6/7	kreisā olvada ampulārā daļa	mazajā iegurnī saaugumi, dzemde nedaudz palielināta, kreisā olvada gals slēgts, olvada ampulārajā daļā 4x6cm liels veidojums, labajā olvadā − saaugumi, izsvīdums Duglasa dobumā − 50ml
17.	6/7	labā olvada ampulārā daļa	labā olvada ampulārā daļa paplašināta, izsvīdums Duglasa dobumā – niecīgs

Saīsinājumi:
Gr. l. – grūtniecības laiks (nedēļās)

Piecām mūsu pacientēm grūtniecības laiks bija 4/5 grūtniecības nedēļas. Trim pacientēm grūtniecība lokalizējas labā olvada ampulārā daļa, bet divām pacientēm – kreisā olvada ampulārā daļa. Operācijas atradnei raksturīga paplašināta olvada ampulārā daļa, izsvīdums vai saasiņojums Duglasa dobumā. Saasiņojums vienai pacientei sasniedza 600ml asiņu. Vienā gadījumā tika atrasta kreisās olnīcas cista. Sešām pētījuma pacientēm grūtniecības laiks bija 5/6 grūtniecības nedēļas. Četrām pacientēm grūtniecība lokalizējas labā olvada ampulārā daļa, bet divām pacientēm – kreisā olvada ampulārā daļa. Operācijas atradnei raksturīga paplašināta olvada ampulārā daļa (vienai pacientei tika konstatēts plīsums olvada sienā), ar lielāku saasiņojumu Duglasa dobumā – 100ml divos gadījumos, pārējos gadījumos − 300ml un 500ml. Pārējām sešām pacientēm grūtniecības laiks bija 6/7 grūtniecības nedēļas. Četrām pacientēm grūtniecība lokalizējas kreisā olvada ampulārā daļa, bet divām pacientēm – labā olvada ampulārā daļa. Paplašināta olvada ampulārā daļa un izsvīdums Duglasa dobumā tika atrasts katrai pacientei. Saaugumi mazajā iegurni tika konstatēti sešām mūsu pacientēm.

Katrai pacientei tika apkopoti anamnēzes dati (sk. 3.2. tabulu). Vidējais vecums pacientēm ar olvada grūtniecību bija 29,7 gadi (no 23 līdz 43). Šī ektopiskā grūtniecība pārsvarā bija kārtējā grūtniecība (no 1. līdz 5., vidēji 2,4. grūtniecība), bet divām pacientēm – pirmā. Vidēji mūsu pacientēm bija pārtraukta viena grūtniecība (no 0 līdz 3). Grūtniecības laiks tika skaitīts no pēdējās menstruācijas pirmās dienas un vidēji ilga 6 gestācijas nedēļas un 3 dienas (no 4/5 līdz 6/7).

3.2. tabula

Anamnēzes dati pacientēm ar olvada grūtniecību

Nr.p.k.	Vecums (gados)	Grūtniecība (*n*)	Aborti (*n*)	IIS	Olvadu operāci jas	STS	Kontracepcija	Partneri (*n*)	Gr.l.
1.	27	0	0	0	nav	0	nav	3	4/5
2.	28	4	1	0	nav	0	IUS	2	4/5
3.	31	2	1	1	ir**	0	nav	N	4/5
4.	38	3	1	1	nav	ir*	nav	1	4/5
5.	43	2	0	1	ir***	0	nav	2	4/5
6.	23	1	0	0	nav	0	nav	5	5/6
7.	24	5	3	2	nav	0	nav	1	5/6
8.	24	0	0	2	nav	0	nav	3	5/6
9.	31	3	1	0	nav	0	nav	6	5/6
10.	32	2	1	1	nav	0	nav	1	5/6
11.	33	4	0	0	nav	0	nav	1	5/6
12.	24	2	1	2	nav	0	nav	3	6/7
13.	25	2	1	0	nav	0	nav	1	6/7
14.	25	2	1	0	nav	0	nav	3	6/7
15.	30	3	2	1	nav	0	nav	1	6/7
16.	31	2	1	1	nav	0	nav	6	6/7
17.	35	5	2	1	nav	0	nav	5	6/7

Saīsinājumi:
** *Salpingotomia sinistra*
***Salpingectomia unilateralis*
**Chlamydia, Mycoplasma*
Gr.l. - grūtniecības laiks (nedēļas)
IIS – iegurņa iekaisuma slimība(epizožu skaits)
n ─ skaits; N – nav zināms
STS – seksuāli transmisīva saslimšana

Iegurņa iekaisuma slimība anamnēzē tika dokumentēta 10 no 17 pacientēm (58%). Divām pacientēm (12%) anamnēzē bija konstatēts, ka veikta vienas puses *salpingectomia* olvada grūtniecības un IIS dēļ. Viena paciente (6%) kontracepcijai izmantoja intrauterīno spirāli (IUS). Tikai 3 pacientes (18%) smēķēja vairāk nekā

10 cigaretes dienā. STS, respektīvi, hlamīdiju un mikoplazmu infekcija, bija dokumentēta tikai vienai pacientei (6%). Partneru skaits sievietēm ar olvada grūtniecību bija vidēji 2,75 (no 1 līdz 10).

3.2. Dzemdes grūtniecības pacienšu raksturojums

Endometrija audi tika iegūti no 10 pacientēm, kuras pēc savas vēlēšanās pārtrauca grūtniecību. Grūtniecības pārtraukšana tika veikta saskaņā ar Latvijas Republikas Seksuālās un reproduktīvās veselības likuma 5. panta otro daļu un Ministru kabineta noteikumiem Nr.590 „Grūtniecības pārtraukšanas organizatoriskā kārtība".

Katras pacientes anamnēzes dati tika iegūti pirms operācijas izdarīšanas (sk. 3.3. tabulu). Pacientēm bija pārtraukta kārtējā grūtniecība − no 2. līdz 10. (vidēji 4,2. grūtniecība).

3.3. tabula

Anamnēzes dati pacientēm ar dzemdes grūtniecību

Nr.p.k.	Vecums (gados)	Grūtniecība (*n*)	Aborti (*n*)	IIS	Olvadu operācijas	STS	Kontracepcija	Partneri (*n*)	Gr.l.
1.	25	4	2	0	nav	0	nav	2	5/6
2.	37	4	3	1	nav	0	nav	4	5/6
3.	31	5	3	1	nav	0	nav	5	5/6
4.	25	3	2	0	nav	0	nav	3	5/6
5.	25	2	1	0	nav	0	nav	2	5/6
6.	42	3	1	1	nav	0	nav	2	6
7.	29	3	2	0	nav	0	nav	1	6
8.	37	5	3	0	nav	0	nav	4	6/7
9.	26	3	2	0	nav	0	nav	1	8
10.	31	10	5	0	nav	0	nav	*n*	12

Saīsinājumi:
n – skaits
Gr.l. - grūtniecības laiks (nedēļas)
IIS – iegurņa iekaisuma slimība (epizožu skaits)
STS – seksuāli transmisīva saslimšana

Vidējais pacienšu vecums bija 30,8 gadi (no 25 līdz 42 gadiem), vidējais abortu skaits − 2,4 (no 1 līdz 5). Partneru skaits dzemdes grūtniecības pacientēm vidēji bija 2,66 (no 1 līdz 10). Grūtniecības laiks pacientēm ar progresējošu fizioloģisku

grūtniecību bija 6,05 gestācijas nedēļas (no 5 līdz 12). Pacientes nelietoja nekādas kontracepcijas metodes.

IIS anamnēzē atzīmēja tikai 3 pacientēm (30%), seksuāli transmisīvo slimību vai olvadu operāciju anamnēzē nebija nevienai pacientei. Šīs grupas pacientes smēķēja daudz un bieži, 70% pacienšu (*n*=7) izsmēķēja vairāk nekā 10 cigaretes dienā.

3.3. Rutīnas krāsošanas metodes

3.3.1. Ektopiskas grūtniecības audu morfoloģiskais raksturojums

Analizējot morfoloģisko ainu pārskata griezumos, tika konstatētas tūskainas, izteikti zarotas olvada bārkstiņas un masīvi asins izplūdumi (sk. 3.1. att. pielikumā). Atsevišķos gadījumos olvada epitēlijā atradām bazālo epiteliocītu proliferāciju (sk. 3.2. att. pielikumā). Olvadu gļotādas saistaudos novērojām dažādas pakāpes limfocītu, leikocītu un makrofāgu infiltrāciju, asins kapilāru pilnasinību (sk. 3.3. att. pielikumā). Olvada *lamina propria* tika novērotas periferā trofoblasta šūnas (sk. 3.4. att. pielikumā). Mūsu pārskata griezumos tika konstatētas arī olvada sienā ieaugušas horija bārkstiņas, fibrinoīds. Horija bārkstiņas sasniedza muskuļu apvalku, kurš vietām bija plāns, atrofisks (sk. 3.5. att. pielikumā).

No embrionālajiem audiem olvada lūmenā tika atrastas sekundārās trofoblasta bārkstiņas, kas bija saistītas ar olvada struktūrām vai ar dīgļa apvalkiem. No embrioblasta atvasināti orgānu audi ārpusdzemdes grūtniecības pētījuma gaitā netika iegūti.

3.3.2. Dzemdes grūtniecības morfoloģiskais raksturojums

Endometrija preparātos tika novērotas tipiskas grūtniecības izmaiņas, t.i., paplašinātas zigzagveidīgi izlocītas dzemdes kriptas, klātas ar gaišām vienkārtaina kubiska epitēlija šūnām (sk. 3.6. att. pielikumā). Endometrija kompaktajā atlobenes slānī lokalizētas periferā trofoblasta šūnas, graudainie leikocīti un makrofāgi (sk. 3.7. att. pielikumā). Spirālveidīgas arteriolas formējas kompaktajā slānī. Morfoloģiskās ainas atšķirības pacientēm netika novērotas.

Horija bārkstiņas, augļa apvalku fragmenti un embrija orgānu fragmenti katrai pacientei liecināja par grūtniecības esamību dzemdē (sk. 3.8. att. pielikumā).

3.3.3. Embrija audu raksturojums

Horija bārkstiņas un augļa apvalku paliekas tika novērotas katrā preparātā. Dažādi embrija orgānu fragmenti tika konstatēti visos dzemdes grūtniecības preparātos. Pētījuma gaitā tika iegūti divi veseli embriji un astoņu embriju ķermeņu fragmenti. Embrionālās attīstības laiks bija no 5./6. līdz 12. embrionālās attīstības nedēļai, bet Karnegi sistēmā – no 18. līdz 23. stadijai. Embrionālo audu raksturojums redzams 3.4. tabulā.

3.4. tabula

Pētījumā iegūto embriju orgānu un audu uzskatījums.

Nr.p.k.	Grūtniecības laiks (nedēļas)	Embriju orgāni
1.	5/6	galvas smadzeņu fragments, muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, roku fragmenti, aknas, plaušas, nieres, sirds un barības vads
2.	5/6	galvas smadzeņu fragments, muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, aknas, plaušas, nieres, sirds un barības vads,
3.	5/6	galvas smadzeņu fragments
4.	5/6	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, aknas, plaušas, nieres, plauksta, mēle, siekalu dziedzeri
5.	5/6	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, aknas, plaušas, nieres, mēle, siekalu dziedzeri
6.	6	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, aknas, plaušas
7.	6	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, aknas, plaušas
8.	6/7	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, aknas, plaušas
9.	8	muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas, aknas, plaušas, nieres
10.	12	galvas smadzeņu fragments, muguras smadzenes, spinālie gangliji, mugurkauls, ribas

Pārskata preparātos konstatējām embrija CNS elementus, proti, muguras smadzenes (sk. 3.9. att. pielikumā), galvas smadzeņu fragmentus un spinālos ganglijus.

Deviņiem embrijiem tika iegūti iekšējo orgānu − sirds, plaušu (sk. 3.10. att. pielikumā), aknu un *mesonephros* vai *metanephros* fragmenti (sk. 3.11. att. pielikumā): Embrionālā skeleta sistēma arī tika iegūtā pētījumā gaitā: rokas, mugurkaula un ribu fragmenti demonstrēja embrija endohondrālās pārkaulošanās norisi.

Praktiski visu embrionālo orgānu − CNS, iekšējo orgānu, ekstremitāšu − struktūra atbilda gestācijas laikam un radīja priekšstatu par normālu embrionālu attīstību.

3.3. Olvada grūtniecības augšanas faktori un to receptori

3.3.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1

TGF beta 1 pozitīvi nokrāsotas šūnas netika konstatētas olvada ārpusdzemdes grūtniecības audos.

3.4.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1

Praktiski visiem olvada audiem bija raksturīgs mazs bFGF pozitīvo struktūru daudzums (sk. 3.5. tabulu). Atsevišķu epiteliocītu, endoteliocītu, mezoteliocītu citolemmas un miocītu sarkolemmas saturēja bFGF. Atsevišķas bFGF pozitīvās šūnas, t.i., makrofāgus un neitrofilos leikocītus (sk. 3.12. att. pielikumā), novērojām perifērajā trofoblastā un olvada saistaudos. Citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un ekstraembrionālajā mezenhīmā bFGF pozitīvās šūnas netika konstatētas.

Konstatējām daudz vai vidēji daudz FGFR1 saturošas struktūras kā olvada audos, tā arī trofoblastā (sk. 3.5. tabulu). Olvada epitēlijā un gludajā muskulatūrā tika novērots daudz FGFR1 pozitīvo šūnu (sk. 3.13. att. pielikumā). Asinsvadu sienā un mezotēlijā bija vidēji daudz FGFR1 pozitīvo šūnu.

Embrija audos, respektīvi, sincītijtrofoblastā un citotrofoblastā, arī tika konstatēts vidēji, bet ekstraembrionālajā mezenhīmā − daudz FGFR1 pozitīvo struktūru (sk. 3.14. att. pielikumā).

3.5.tabula

bFGF un FGFR relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	bFGF (*n*=17)	FGFR1 (*n*=17)
Epitēlijs	+	+++
Miocīti	+	+++
Endotēlijs	+	++
Nervu šķiedras	+	++
Mezotēlijs	+	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	0	+++
Citotrofoblasts	0	++
Sincītijtrofoblasts	0	++
Perifērais trofoblasts	+	+
Makrofāgi	+	+
Neitrofilie leikocīti	+	+

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Olvada gļotādas saistaudos tika novērots maz FGFR1 pozitīvo makrofāgu un neitrofilo leikocītu (sk. 3.15. att. pielikumā). Perifērajā trofoblastā arī redzējām maz FGFR1 pozitīvo šūnu.

3.4.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75

Bāzisko NGF konstatējām praktiski visās struktūrās (sk. 3.6. tabulu). Olvada epitēlijā, gludajā muskulatūrā, endotēlijā un nervu šķiedrās atklājām vidēji daudz NGF pozitīvo struktūru (sk. 3.16. att. pielikumā).

Olvada mezotēlijā, kā arī ekstraembrionālajā mezenhīmā un perifērajā trofoblastā bija maz NGF pozitīvo šūnu. Daudz citotrofoblasta šūnu bija NGF pozitīvās šūnas, bet sincītijtrofoblastā NGF pozitīvās šūnas netika novērotas (sk. 3.17. att. pielikumā).

NGFRp75 saturēja tikai nervu šķiedras olvada *lamina propria* un muskuļapvalkā (sk. 3.18. att. pielikumā).

3.6. tabula

Bāziskais NGF un NGFRp75 relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	NGF (*n*=17)	NGFRp75 (*n*=17)
Epitēlijs	++	0
Miocīti	++	0
Endotēlijs	++	0
Nervu šķiedras	++	++
Mezotēlijs	+	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	+	0
Citotrofoblasts	0	0
Sincītijtrofoblasts	+++	0
Perifērais trofoblasts	+	0
Makrofāgi	0	0
Neitrofilie leikocīti	0	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.4.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors un tā receptors

Daudz IGF-1 pozitīvo struktūru bija atrodamas olvada epitēlijā (sk. 3.7. tabulu un 3.19. att. pielikumā), bet tikai atsevišķu epiteliocītu apikālā virsma saturēja IGF-1R (sk. 3.20. att. pielikumā). IGF-1R netika atrasts citās struktūrās, izņemot mezotēliju, kurā bija vidējs daudzums IGF-1R pozitīvo šūnu.

Olvada saistaudos makrofāgi un neitrofilie leikocīti ekspresēja IGF-1. Citotrofoblasts un sincītijtrofoblasts olvada grūtniecības gadījumā saturēja vidēju daudzumu IGF-1 pozitīvo šūnu (sk. 3.21. att. pielikumā). Atsevišķas ekstraembrionālās mezenhīmas šūnas arī saturēja IGF-1. Perēkļveidā lokalizētas IGF-1 pozitīvās šūnas tika atrastas perifērajā trofoblastā.

3.7. tabula

IGF-1 un IGF-1R relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	IGF-1 (*n*=17)	IGF-1R *n*=17)
Epitēlijs	+++	+
Miocīti	0	0
Endotēlijs	++	0
Nervu šķiedras	0	0
Mezotēlijs	+++	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+	0
Citotrofoblasts	++	0
Sincītijtrofoblasts	++	0
Perifērais trofoblasts	+	0
Makrofāgi	+	0
Neitrofilie leikocīti	+	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ −redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.4.5. Hepatocītu augšanas faktors

Olvada epitēlijs saturēja daudz HGF pozitīvo šūnu (sk. 3.22. Att. pielikumā). Asinsvadu sienā, gludajā muskulatūra novērojām daudz HGF pozitīvo struktūru. Perifērais trofoblasts, kā arī citotrofoblasts un sincītijtrofoblasts saturēja daudz HGF pozitīvo šūnu (sk. 3.23. att. pielikumā).

Ekstraembrionālā mezenhīma noverojām vidēji daudz HGF pozitīvo struktūru (sk. 3.8. tabulu).

HGF pozitīvās šūnas netika konstatētas olvada saistaudos. Nervu šķiedras bija HGF negatīvas. Mezotēlijā netika atrastas HGF pozitīvas šūnas.

3.8. tabula

HGF relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	HGF (*n*=17)
Epitēlijs	+++
Miocīti	+++
Endotēlijs	+++
Nervu šķiedras	0
Mezotēlijs	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Citotrofoblasts	+++
Sincītijtrofoblasts	+++
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	0
Neitrofilie leikocīti	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.5. Olvada grūtniecības inervācija: proteīngēnviela 9.5

Daudz PGP 9.5 saturošo struktūru (sk. 3.9. tabulu) tika konstatēts olvada epitēlijā (sk. 3.24. un 3.25. att. pielikumā) gan šūnu, gan neiroepiteliālo ķermenīšu veidā un nervu šķiedrās (sk. 3.26. att. pielikumā). Perifērā trofoblastā novērojām daudz PGP 9.5 pozitīvo šūnu (sk. 3.27. att. pielikumā). Olvada *lamina propria* atradām vidēji daudz PGP 9.5 saturošus makrofāgus un neitrofilos leikocītus.

3.9. tabula

PGP 9.5 relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	PGP 9.5 (*n*=17)
Epitēlijs	+++
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	+++
Mezotēlijs	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	0

Struktūra/Faktors	tabulas nobeigums PGP 9.5 (*n*=17)
Citotrofoblasts	0
Sincītijtrofoblasts	0
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.6. Olvada grūtniecības audu deģenerācijas enzīmi

Olvada grūtniecības gadījumā novērojām daudz MMP-2 pozitīvo struktūru olvada epitēlijā, endotēlijā, gludajā muskulatūrā, nervu šķiedrās, mezotēlijā (sk. 3.10. tabulu). Olvada gļotādas saistaudos konstatējām daudz MMP-2 saturošus makrofāgus un neitrofilos leikocītus (sk. 3.28. att. pielikumā).

3.10. tabula

MMP 2 relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	MMP 2 (*n*=17)
Epitēlijs	+++
Miocīti	+++
Endotēlijs	+++
Nervu šķiedras	+++
Mezotēlijs	+++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++
Citotrofoblasts	+++
Sincītijtrofoblasts	+++
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	+++
Neitrofilie leikocīti	+++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Daudz MMP-2 pozitīvo šūnu konstatējām arī citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un ekstraembrionālajā mezenhīmā (sk. 3.29. att. pielikumā).

Olvada epitēlija novērojām vidēji daudz MMP 9 pozitīvo šūnu (sk. 3.11. tabulu un 3.30. att. pielikumā). Endotēlijā un olvada gļotādas saistaudos novērojām vidēju daudzumu MMP 9 pozitīvo struktūru.

3.11. tabula

MMP 9 relatīvais daudzums grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	MMP 9 (*n*=17)
Epitēlijs	++
Miocīti	+
Endotēlijs	++
Nervu šķiedras	+
Mezotēlijs	+
Ekstraembrionālā mezenhīma	+
Citotrofoblasts	++
Sincītijtrofoblasts	++
Perifērais trofoblasts	++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Mazs MMP 9 pozitīvo struktūru daudzums bija atrodams gludajā muskulatūrā, mezotēlijā un nervu šķiedrās. Citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un perifērajā trofoblastā tika konstatēts vidējs, bet ekstraembrionālajā mezenhīmā − mazs MMP 9 pozitīvo šūnu daudzums (sk. 3.31. att. pielikumā).

3.7. Olvada grūtniecības programmētā šūnu nāve

Olvada epitēlijā bija daudz apoptotisko šūnu (sk. 3.12. tabulu). Apoptotiskais indekss olvada epitēlijā bija 75% (sk. 3.32. att. pielikumā). Vidējs daudzums apoptotisko šūnu tika konstatēts olvada *lamina propria* saistaudos, asinsvados, muskuļu

apvalkā un mezotēlijā. Citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā, ekstraembrionālajā mezenhīmā un perifērajā trofoblastā arī bija vidējs daudzums apoptotisko struktūru (sk. 3.33. att. pielikumā).

3.12. tabula

Apoptotisko šūnu relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	*TUNEL* (*n*=17)
Epitēlijs	+++
Miocīti	++
Endotēlijs	++
Nervu šķiedras	++
Mezotēlijs	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Citotrofoblasts	++
Sincītijtrofoblasts	++
Perifērais trofoblasts	++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.8. Olvada grūtniecības antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas

Vidēji daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu tika konstatētas olvada epitēlijā (sk. 3.13. tabulu). Cilvēka defensīna beta 2 granulas koncentrējās olvada epiteliocītu citoplazmā un uz apikālās plazmolemmas (sk. 3.34. att. pielikumā). Vidējs daudzums cilvēka defensīna 2 pozitīvo saistaudu šūnu bija koncentrēts ap asinsvadiem (sk. 3.35. att. pielikumā). Mezotēlijā novērojām daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru. Citotrofoblastā un sincītijtrofoblastā bija atsevišķas pozitīvās cilvēka defensīna beta 2 šūnas. Ekstraembrionālajā mezenhīmā bija vidēji daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu. Perifērajā trofoblastā tika novērots daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru.

3.13. tabula

Cilvēka defensīna beta 2 relatīvais daudzums olvada grūtniecības audos

Struktūra/Faktors	Defensīns beta 2 (*n*=17)
Epitēlijs	++
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	0
Mezotēlijs	+++
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Citotrofoblasts	+
Sincītijtrofoblasts	+
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.9. Dzemdes grūtniecības augšanas faktori un to receptori

3.9.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1

Vidēju TGF beta 1 pozitīvo šūnu daudzumu novērojām gravida endometrija epitēlijā un gļotādas saistaudos (sk. 3.14. tabulu). TGF beta 1 pozitīvās šūnas perēkļveidā bija koncentrētas epitēlijā (sk. 3.36. att. pielikumā). Gļotādas saistaudos atklājām vidēji daudz TGF beta 1 pozitīvo struktūru: TGF beta 1 pozitīvie makrofāgi un neitrofilie leikocīti perēkļveidā bija koncentrējušies epitēlija tuvumā (sk. att. 3.37. pielikumā). Perifērajā trofoblastā konstatējām daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu.

3.14. tabula

TGF beta 1 relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	TGF beta 1 (*n*=10)
Epitēlijs	++

tabulas nobeigums

Struktūra/Faktors	TGF beta 1 (*n*=10)
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	0
Citotrofoblasts	0
Sincītijtrofoblasts	0
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.9.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1

Dzemdes grūtniecības gadījumā gan epitēlijā (sk. 3.38. att. pielikumā**)**, gan gludajā muskulatūrā tika konstatēts daudz FGFR1 pozitīvo šūnu (sk. 3.15. tabulu). Asinsvadu sieniņu šūnās un nervu šķiedrās bija vidēji daudz FGFR1 pozitīvo struktūru. Tikai atsevišķi makrofāgi un neitrofilie leikocīti ekspresēja FGFR1.

3.15. tabula

bFGF un FGFR1relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	bFGF (*n*=10)	FGFR1 (*n*=10)
Epitēlijs	++	+++
Miocīti	+	+++
Endotēlijs	+	++
Nervu šķiedras	+	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	0	+++
Citotrofoblasts	0	++
Sincītijtrofoblasts	0	++
Perifērais trofoblasts	++	+++
Makrofāgi	++	+
Neitrofilie leikocīti	++	+

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Endometrija epitēlijā un *lamina propria* bija atrodams vidējs daudzums bFGF pozitīvo struktūru (sk. 3.39. att. pielikumā). Ekstraembrionālā mezenhīma saturēja daudz FGFR1 pozitīvo šūnu, sincītijtrofoblasts un citotrofoblasts – vidēju daudzumu (sk. 3.40. att. pielikumā), bet bFGF minētajās struktūrās netika konstatēts. Perifērajā trofoblastā varēja konstatēt vidēju daudzumu bFGF un daudz FGFR1 pozitīvo struktūru (sk. 3.41. un 3.42. att. pielikumā).

3.9.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75

Dzemdes grūtniecības gadījumā *decidua basalis* tika novērots daudz bāziskā NGF pozitīvo epiteliocītu (sk. 3.16. tabulu un 3.43. att. pielikumā). Konstatējām arī daudz NGF pozitīvo struktūru atlobenes kompaktajā slānī (sk. 3.44. att. pielikumā), arī makrofāgos un leikocītos. Vidēji daudz nervu šķiedru, bet maz asinsvadu šūnu uz savas plazmolemmas ekspresēja NGF. Perifērajā trofoblastā bija daudz, bet sincītijtrofoblastā – vidējs daudzums NGF saturošo struktūru. Maz NGF pozitīvo struktūru tika konstatēts ekstraembrionālajā mezenhīmā. Citotrofoblastā NGF pozitīvās struktūras netika konstatētas.

3.16. tabula

Bāziskā NGF un NGFRp75 relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	NGF (*n*=10)	NGFRp75 (*n*=10)
Epitēlijs	+++	0
Miocīti	+	0
Endotēlijs	+	0
Nervu šķiedras	++	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+	0
Citotrofoblasts	0	0
Sincītijtrofoblasts	++	0
Perifērais trofoblasts	+++	0
Makrofāgi	+++	0
Neitrofilie leikocīti	+++	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

NGFR p75 saturošas nervu šķiedras lokalizējās atlobenes stromā (sk. 3.45. att. pielikumā).

3.9.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors

Dzemdes epitēlijā konstatējām daudz gan IGF-1, gan IGF-1R pozitīvo struktūru (sk. 3.17. tabulu un 3.46., 3.47. att. pielikumā). Gludajā muskulatūrā, kā arī uz endoteliocītu un nervu šķiedru plazmolemmas ne IGF-1, ne IGF-1R netika konstatēts. Vidējs daudzums šūnu perifērajā trofoblastā (sk. 3.48. att. pielikumā), citotrofoblastā un sincītijtrofoblastā uzrādīja IGF-1. Daudz IGF-1R pozitīvo šūnu konstatējām perifērajā trofoblastā, bet citotrofoblastā un sincītijtrofoblastā novērojām vidēju daudzumu IGF-1R pozitīvo struktūru. Ekstraembrionālajā mezenhīmā redzējām maz IGF-1 un IGF-1R pozitīvo struktūru. Gļotādas saistaudos IGF-1 uzrādīja atsevišķas šūnas, bet vidējs daudzums šūnu bija IGF-1R pozitīvās.

3.17. tabula

IGF-1 un IGFR-1 relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	IGF-1 (*n*=10)	IGF-1R (*n*=10)
Epitēlijs	+++	+++
Miocīti	++	++
Endotēlijs	++	++
Nervu šķiedras	0	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	+	+
Citotrofoblasts	++	++
Sincītijtrofoblasts	++	++
Perifērais trofoblasts	++	+++
Makrofāgi	+	++
Neitrofilie leikocīti	+	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.9.5. Hepatocītu augšanas faktors

HGF vidējā daudzumā tika konstatēts endometrija epitēlijā. Negatīvu HGF reakciju novērojām nervu šķiedrās, endoteliocīti un miocīti arī bija HGF negatīvi (sk. 3.18. tabulu). Endometrija *lamina propria* konstatējām daudz HGF pozitīvo struktūru.

Ekstraembrionālā mezenhīma, sincītijtrofoblasts, citotrofoblasts, perifērais trofoblasts arī uzrādīja daudz HGF pozitīvo struktūru (sk. 3.49. att. pielikumā).

3.18. tabula

HGF relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	HGF (*n*=10)
Epitēlijs	++
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++
Citotrofoblasts	+++
Sincītijtrofoblasts	+++
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	+++
Neitrofilie leikocīti	+++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.10. Dzemdes grūtniecības inervācija: proteīngēnviela 9.5

Konstatējām mazu PGP 9.5 pozitīvo šūnu daudzumu endometrija epitēlijā (sk. 3.19. tabulu). Endoteliocītos un miocītos PGP 9.5 netika konstatēts. Citotrofoblasts, sincītijtrofoblasts un ekstraembrionālā mezenhīma arī nesaturēja PGP 9.5. Bazālās atlobenes nervu šķiedras bagātīgi ekspresēja PGP 9.5. Perifērajā trofoblastā un endometrija kompaktajā slānī novērojām vidēju daudzumu PGP 9.5 pozitīvo šūnu (sk. 3.50. att. pielikumā).

3.19. tabula

PGP 9.5 relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	PGP 9.5 (*n*=10)
Epitēlijs	+
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	+++
Ekstraembrionālā mezenhīma	0
Citotrofoblasts	0
Sincītjtrofoblasts	0
Perifērais trofoblasts	++
Makrofāgi	++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ −redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.11. Dzemdes grūtniecības programmētā šūnu nāve

Gravidā endometrijā konstatējām daudz apoptotisko struktūru (sk. 3.20. tabulu).

3.20. tabula

Apoptotisko šūnu relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	*TUNEL* (*n*=10)
Epitēlijs	+++
Miocīti	+++
Endotēlijs	+++
Nervu šķiedras	+++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++
Citotrofoblasts	+++
Sincītijtrofoblasts	+++
Perifērais trofoblasts	+++
Makrofāgi	+++
Neitrofilie leikocīti	+++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Apoptotiskais indekss olvada epitēlijā bija 74%. Atlobenes stromā tika novērots daudz apoptotisko miocītu un endoteliocītu. Daudzas perifērā trofoblasta (sk. 3.51. att. pielikumā) un horija bārkstiņu šūnas uzrādīja apoptozi.

3.12. Dzemdes grūtniecības antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas

Daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru konstatējām endometrija epitēlijā (sk. 3.21. tabulu un 3.52. att. pielikumā). Daudz saistaudu šūnu, t.i., makrofāgu un neitrofilo leikocītu, arī bija cilvēka defensīna beta 2 pozitīvās. Tādas šūnas īpaši bija koncentrētas ap asinsvadiem (sk. 3.53. att. pielikumā). Citotrofoblastā, sincītij-trofoblastā un perifērajā trofoblastā tika konstatēts vidējs daudzums cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru. Ekstraembrionālā mezenhīma arī uzrādīja vidēju daudzumu cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu (sk. 3.54. att. pielikumā).

3.21. tabula

Cilvēka defensīna beta 2 relatīvais daudzums atlobenes audos

Struktūra/Faktors	Cilvēka defensīns beta 2 (*n*=10)
Epitēlijs	+++
Miocīti	0
Endotēlijs	0
Nervu šķiedras	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Citotrofoblasts	++
Sincītijtrofoblasts	++
Perifērais trofoblasts	++
Makrofāgi	+++
Neitrofilie leikocīti	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.13. Augšanas faktori un to receptori embriju audos

3.13.1. Transformējošais augšanas faktors beta 1

Embrija audos konstatējām daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu, īpaši epitēlijos (sk. 3.22. tabulu un 3.55. un 3.56. att. pielikumā), nierēs un plaušās (sk. 3.57. att. pielikumā). TGF beta 1 lokalizējās apikāli epiteliālo šūnu citoplazmā. Daudz TGF beta 1 pozitīvo struktūru bija arī sklerogēnajā mezenhīmā, asinsvados, vidējs to daudzums − muskuļos un uz nervu šķiedru plazmolemmas.

3.22. tabula

TGF beta 1 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	TGF beta 1 *(n*=10*)*
Endotēlijs	+++
Muskuļšķiedras	++
Nervu šķiedras	++
Spinālie gangliji	+
CNS apvalki	++
Horda	++
Perihondrs	+++
Skrimšļa proliferācijas zona	++
Hondrocīti	0
Pārkaulošanās centri	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++
Epitēliji	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

TGF beta 1 pozitīvās šūnas difūzi atradām miokardā (sk. 3.58. att. pielikumā) un perikardā. Skrimšļa pārkaulošanās un proliferācijas zonās tika novērots vidēji daudz, bet perihondrā − daudz TGF beta 1 pozitīvo struktūru (sk. 3.59. att. pielikumā). Ekstraembrionālā mezenhīma uzrādīja daudz TGF beta 1 pozitīvo struktūru. Nervu caurulītē, spinālajos ganglijos un CNS apvalkos lokalizējās atsevišķas TGF beta 1 pozitīvās šūnas (sk. 3.60. att. pielikumā).

3.13.2. Bāziskais fibroblastu augšanas faktors un tā receptors 1

Daudz FGFR1 pozitīvo struktūru tika konstatēts embrija audos − orgānu epitēlijos (sk. 3.23. tabulu un 3.61. att. pielikumā), sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un skrimšļa proliferācijas zonā (sk. 3.62. att. pielikumā), bet vidējs daudzums − hordas paliekās. Tomēr hondrocīti uzrādīja gan FGFR1, gan bFGF negatīvu reakciju.

3.23. tabula

FGFR1 un bFGF relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	FGFR1 *(n*=10*)*	bFGF *(n*=10*)*
Endotēlijs	+++	++
Muskuļšķiedras	++	+
Nervu šķiedras	++	+
Spinālie gangliji	++	+
CNS apvalki	++	+
Horda	++	+
Perihondrs	+++	++
Skrimšļa proliferācijas zona	++	+
Hondrocīti	0	0
Pārkaulošanās centri	+++	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	++	+
Epitēliji	+++	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Pleiras un perikarda mezotēlijs, miokards (sk. 3.63. att. pielikumā), spinālie gangliji (sk. 3.64. att. pielikumā), muskuļšķiedru, nervu šķiedru plazmolemmas un endoteliocīti saturēja vidēju daudzumu FGFR1 pozitīvo struktūru. Epitēlijos, endotēlijā, skrimšļa pārkaulošanās centros un perihondrā arī tika atrastas bFGF pozitīvās struktūras, bet vidējā daudzumā (sk. 3.65. att. pielikumā). Embrija sklerogēnā mezenhīma, muskuļšķiedras, nervu šķiedras, spinālie gangliji, CNS apvalki, kā arī hordas paliekas parādīja mazu bFGF pozitīvo struktūru daudzumu.

3.13.3. Bāziskais nervu augšanas faktors un tā receptors p75

Daudz vai vidēji daudz pozitīvo struktūru tika novērots praktiski visos embrija audos (sk. 3.24. tabulu). Vidējs daudzums NGF pozitīvo šūnu bija sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un CNS apvalkos, kā arī spinālajos ganglijos. Vidēji daudz muskuļškiedru un asinsvadu šūnu plazmatiskās membrānas arī saturēja minēto faktoru. Daudz embrija nervu šķiedru bija NGF pozitīvās. Tomēr NGF pozitīvās struktūras netika konstatētas hordas paliekā skrimšļa proliferācijas zonās, hondrocītos un pārkaulošanās centros.

3.24. tabula

Bāziskais NGF un NGFRp75 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	NGF *(n*=10*)*	NGFRp75 *(n*=10*)*
Endotēlijs	++	+++
Muskuļšķiedras	++	+++
Nervu šķiedras	+++	+++
Spinālie gangliji	++	++
CNS apvalki	++	++
Horda	0	0
Perihondrs	++	0
Skrimšļa proliferācijas zona	0	0
Hondrocīti	0	0
Pārkaulošanās centri	0	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++	++
Epitēliji	++	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Daudz NGFRp75 pozitīvo struktūru novērojām nervu šķiedru (sk. 3.24. tabulu un 3.66. att. pielikumā), muskuļškiedru un endoteliocītu plazmatiskajās membrānās (sk. 3.67. att. pielikumā). Spinālajos ganglijos un ekstraembrionālajā mezenhīmā redzējām vidēju daudzumu NGFRp75 pozitīvo šūnu. Embrija epitēlijos un topošajā skeletā NGFRp75 pozitīvās struktūras netika konstatētas.

3.13.4. Insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1 un tā receptors

Daudz IGF-1 un IGF-1R pozitīvo struktūru bija atrodamas embrija respiratorajā un gremošanas sistēmā (sk. 3.25. tabulu), nierēs un ādas epitēlijā (sk. 3.68., 3.69. un 3.70. att. pielikumā). Gan IGF-1, gan IGF-1R pozitīvo struktūru vidēju daudzumu varēja redzēt endotēlijā un muskuļšķiedrās. Daudz IGF-1 un IGF-1R pozitīvo šūnu pērekļveidā lokalizējās embrija aknās (sk. 3.71. att. pielikumā). Sklerogēnā mezenhīma, perihondrs un pārkaulošanās centri uzrādīja vidēju IGF-1 un IGF-1R pozitīvo šūnu daudzumu (sk. 3.72. att. pielikumā).

3.25. tabula

IGF-1R un IGF-1 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	IGF-1R *(n*=10*)*	IGF-1 *(n*=10*)*
Endotēlijs	++	++
Muskuļšķiedras	++	++
Nervu šķiedras	0	0
Spinālie gangliji	++	++
CNS apvalki	++	++
Horda	+	+
Perihondrs	++	++
Skrimšļa proliferācijas zona	++	++
Hondrocīti	0	0
Pārkaulošanās centri	++	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	0	0
Epitēliji	+++	+++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

CNS apvalkos un spinālajā ganglijā tika konstatēts vidējs daudzums IGF-1 un IGF-1R pozitīvo šūnu (sk. 3.73. att. pielikumā). Nervu šķiedras, hondrocīti un ekstra-embrionālā mezenhīma uzrādīja negatīvu IGF-1 un IGF-1R reakciju.

3.13.5. Hepatocītu augšanas faktors

Embrija audiem − gan epitēlijam un mezenhīmai, gan nervu sistēmas elementiem bija raksturīga bagātīga HGF sadale (sk. 2.26. tabulu). Embriji saturēja daudz HGF pozitīvo endoteliocītu, muskuļškiedru un nervu šķiedru (sk. 3.74. att. pielikumā). Perihondrs un embrija iekšējo orgānu kapsulas arī uzrādīja daudz HGF pozitīvo šūnu.

Embrija ādas, kuņģa un zarnu trakta, respiratorās sistēmas un nieru tubuļu epitēliji saturēja vidēju HGF pozitīvo šūnu daudzumu. Arī aknu parenhīmā lokalizējās vidējs daudzums HGF pozitīvo šūnu (sk. 3.75. att. pielikumā).

3.26. tabula

HGF relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	HGF *(n*=10*)*
Endotēlijs	+++
Muskuļšķiedras	+++
Nervu šķiedras	+++
Spinālie gangliji	++
CNS apvalki	++
Horda	0
Perihondrs	+++
Skrimšļa proliferācijas zona	0
Hondrocīti	0
Pārkaulošanās centri	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Epitēliji	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

Tādā pašā daudzumā HGF bija atrodams spinālajos ganglijos un CNS apvalkos, kā arī ekstraembrionālajā mezenhīmā. HGF vienīgi netika konstatēts topošā skeleta struktūrā, respektīvi, skrimšļa proliferācijas zonās, hondrocītos, pārkaulošanās centros un hordas paliekās.

3.14. Inervācija un CNS attīstība

3.14.1. Sinaptofizīns

Embriju audos konstatējām atšķirīgu GFAP, PGP 9.5, sinaptofizīna un hromogranīnu A un B pozitīvo struktūru relatīvu daudzumu (sk. 3.27. tabulu).

Vidēju daudzumu sinaptofozīnu saturošo šūnu novērojām spinālajos ganglijos un embriju saistaudos ap asinsvadiem (sk. 3.76. att. pielikumā). Nervu šķiedras un muskuļu šķiedras uz savas plazmatiskās membrānas arī ekspresēja sinaptofizīnu. Embriju epitēlijos, saistaudos, muskulatūrā, perihondrā, skrimšļa proliferācijas zonās, pašā skrimslī un pārkaulošanās centros neredzējām sinaptofizīnu saturošas šūnas.

3.27. tabula

GFAP, PGP 9.5, sinaptofizīna un hromogranīnu A un B relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	GFAP (*n*=10)	PGP9.5 (*n*=10)	Sinaptofizīns (*n*=10)	Hromogranīni (*n*=10)
Endotēlijs	++	0	++	0
Muskuļšķiedras	0	0	++	0
Nervu šķiedras	+++	+++	++	0
Spinālie gangliji	++	++	++	++
CNS apvalki	++	++	0	0
Horda	0	0	0	0
Perihondrs	0	0	0	0
Skrimšļa proliferācijas zona	0	0	0	0
Hondrocīti	0	0	0	0
Pārkaulošanās centri	0	0	0	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	0	0	0	0
Epitēliji	0	0	0	0

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.14.2. Hromogranīni A un B

Vidēju hromogranīnu A un B pozitīvo šūnu daudzumu novērojām tikai embrija spinālajos ganglijos. Hromogranīnu A un B granulas tika konstatētas embrija ganglionāro šūnu citoplazmā (sk. 3.77. att. pielikumā).

3.14.3. Glijas fibrillārais skābais proteīns

Daudz GFAP saturošo nervu šķiedru konstatējām embriju audos. GFAP pozitīvās šūnas bija lokalizētas arī spinālajos ganglijos un nervu caurulītes ependimālajā un apmetņa slānī (sk. 3.78. att. pielikumā), tās bija redzamas arī motorajos neironos (sk. 3.79. att. pielikumā). Nervu šķiedras un endoteliocīti arī uzrādīja GFAP imūnreaktivitāti. Asinsvados bija atrodams vidējs daudzums GFAP pozitīvo šūnu. Embriju epitēliji, saistaudi, muskulatūra un skeleta elementi bija GFAP negatīvi.

3.14.4. Proteīngēnviela 9.5

Embrija audos novērojām daudz PGP 9.5 saturošo nervu šķiedru (sk. 3.80. att. pielikumā). CNS apvalkos un spinālajos ganglijos redzējām vidēju daudzumu PGP 9.5 pozitīvo struktūru. Atsevišķas šūnas embrija aknās, nierēs un plaušās arī ekspresēja PGP 9.5 (sk. 3.81. att. pielikumā).

3.15. Citokeratīni 5 un 13 embrija audos

Embriju ādas epitēlijs visos slāņos uzrādīja daudz gan CK 5, gan CK 13 pozitīvo šūnu (sk. 3.28. tabulu un 3.82. att. pielikumā). Maz CK 5 un CK 13 pozitīvo šūnu redzējām asinsvadu sienā. Embrija skrimšļa pārkaulošanās centros bija lokalizētas gan CK 5, gan CK 13 pozitīvās šūnas.

3.28. tabula

CK 5 un CK 13 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	CK 5 *(n*=10*)*	CK 13 *(n*=10*)*
Endotēlijs	+	+
Muskuļšķiedras	0	0
Nervu šķiedras	0	0
Spinālie gangliji	0	0
CNS apvalki	0	0
Horda	0	0
Perihondrs	0	0
Skrimšļa proliferācijas zona	0	0
Hondrocīti	0	0
Pārkaulošanās centri	++	++
Ekstraembrionālā mezenhīma	0	0
Epitēliji	+++	+++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.16. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija embriju audos

Embrija epitēliji, asinsvadu sienu šūnas, muskuļškiedras un nervu šķiedras uzrādīja gan Msx2 (sk. 3.29. tabulu un 3.83. un 3.84. att. pielikumā), gan BARX1 (sk. 3.85. att. pielikumā) gēnu produktu saturošas struktūras.

BARX1 bija atrodams muguras smadzeņu motorajos neironos (sk. 3.86. att. pielikumā) un spinālā ganglija pseidounipolārajos neironos. Serozie apvalki, t.i., pleira un perikards, arī uzrādīja vidēju daudzumu BARX1 pozitīvo struktūru. Daudz BARX1 pozitīvo šūnu tika konstatēts miokardā.

BARX1 gēna produkts bagātīgi bija atrodams sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un skrimšļa proliferācijas zonās (sk. 3.87. att. pielikumā). Daudz Msx2 gēnu produkta ekspresēja hondrocīti un skrimšļa proliferācijas zonas šūnas, bet maz − perihondra šūnas (sk. 3.88. att. pielikumā).

Vidējs Msx2 un mazs BARX1 pozitīvo šūnu daudzums lokalizējās ekstra-embrionālajā mezodermā.

3.29. tabula

Msx2 un BARX1 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	BARX1 *(n*=10*)*	Msx2 *(n*=10*)*
Endotēlijs	+++	++
Muskuļšķiedras	++	++
Nervu šķiedras	++	++
Spinālie gangliji	+++	0
CNS apvalki	++	++
Horda	++	0
Perihondrs	++	+
Skrimšļa proliferācijas zona	++	+
Hondrocīti	0	+++
Pārkaulošanās centri	0	+++
Ekstraembrionālā mezenhīma	+	++
Epitēliji	++	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūra
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.17. Programmētā šūnu nāve jeb apoptoze embriju audos

Apoptoze tika atrasta praktiski visos embrija audos (sk. 3.30. tabulu). Apoptotiskais indekss ādā, nierēs, gremošanas traktā un respiratorajā epitēlijā bija 78%. Vidējs apoptotisko šūnu daudzums tika konstatēts embrija aknās un iekšējo orgānu diferencējošā mezenhīmā (sk. 3.89. att. pielikumā), CNS apvalkos, perihondrā un pārkaulošanās centros. Ekstraembrionālā mezenhīma uzrādīja vidēju apoptotisko šūnu daudzumu.

Embrija epitēlijos bija atrodams vidējs daudzums kaspāzes 6 pozitīvo šūnu: ādā, plaušās, nierēs un gremošanas traktā. Sklerogēnā mezenhīma, kā arī embrionālie iekšējo orgānu saistaudi un perihondrs saturēja lielu vai vidēju daudzumu kaspāzes 6 pozitīvo šūnu (sk. 3.90. att. pielikumā).

Apoptozi neatradām skrimšļa proliferācijas zonā un hialīnā skrimšļa hondrocītos.

3.30. tabula

Apoptotisko šūnu relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	*TUNEL (n*=10*)*	Kaspāze 6 *(n*=10*)*
Endotēlijs	+++	0
Muskuļšķiedras	+++	++
Nervu šķiedras	+++	++
Spinālie gangliji	+	0
CNS apvalki	++	+++
Horda	+++	0
Perihondrs	+++	++
Skrimšļa proliferācijas zona	0	0
Hondrocīti	0	0
Pārkaulošanās centri	+++	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	+++	+++
Epitēliji	++	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.18. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas embriju audos

Vidēju cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu daudzumu atradām embrija ādas epitēlijā. Vidēju cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru daudzumu konstatējām embrija respiratorās sistēmas, gremošanas trakta un nieru epitēlijā (sk. 3.31. tabulu un 3.91. att. pielikumā).

Embrija aknās ap centrālām vēnām novērots vidējs daudzums perēkļveidā lokalizētu cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu (sk. 3.92. att. pielikumā).

Vidējs daudzums pozitīvo šūnu tika atrasts sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un atsevišķas šūnas − orgānu stromā. Ekstraembrionālā mezenhīma arī ekspresēja šo antimikrobās aizsardzības olbaltumvielu.

3.31. tabula

Cilvēka defensīna beta 2 relatīvais daudzums embriju audos

Struktūra/Faktors	Cilvēka defensīns beta 2 (*n*=10)
Endotēlijs	++
Muskuļšķiedras	++
Nervu šķiedras	++
Spinālie gangliji	++
CNS apvalki	++
Horda	0
Perihondrs	++
Skrimšļa proliferācijas zona	0
Hondrocīti	0
Pārkaulošanās centri	0
Ekstraembrionālā mezenhīma	++
Epitēliji	++

Saīsinājumi:
0 − redzeslaukā nav nevienas pozitīvās struktūras
+ − redzeslaukā maz pozitīvo struktūru
++ − redzeslaukā vidēji daudz pozitīvo struktūru
+++ − redzeslaukā daudz pozitīvo struktūru

3.19. Statistiskā datu analīze

Divu neatkarīgu grupu salīdzināšanai, lietojot rangu skalas lielumus, tika izmantots Manna−Vitnija (*Mann−Whitney*) tests (sk. 3.93. att. pielikumā). Rezultāti tika uzskatīti par ticamiem, ja $p<0,05$.

Statistiski ticamu atšķirību konstatējām bFGF un FGFR1, IGF-1 un IGF-1R, NGF un NGFRp75, kā arī TGF beta 1 sadalē implantācijas audos.

FGFR1 dominēja pār bFGF gan fizioloģiskas dzemdes (p=0,011), gan olvada grūtniecības (p=0,008) gadījumā.

Olvada grūtniecības gadījumā salīdzinājumā ar dzemdes grūtniecību IGF-1R praktiski nav atrodams audos (p=0,026). **IGF-1R bija statistiski ticami vairāk konstatējams audos dzemdes grūtniecības gadījumā nekā IGF-1R olvada grūtniecības gadījumā (p=0,017).**

Olvada grūtniecības gadījumā TGF beta 1 nebija konstatējams, bet dzemdes grūtniecības gadījumā tika konstatēta TGF beta 1 atradne endometrijā (p=0,049).

NGF dominēja pār NGFRp75 gan fizioloģiskas dzemdes (p=0,011), gan olvada grūtniecības (p=0,001) gadījumā.

Spīrmana korelācijas koeficients (rho) parādīja, ka pētāmajos audos novērojama vidēji vai vāji pozitīva vai negatīva korelācija starp atsevišķiem faktoriem un receptoriem.

Dzemdes fizioloģiskas grūtniecības gadījumā novēroja **vāju negatīvu korelāciju** starp FGFR1 un NGF epitēlijā (rho= −0,23), FGFR1 epitēlijā un PGP 9.5 endotēlijā (rho= −0,15), kā arī FGFR1 perifērajā trofoblastā un TGF beta 1 perifērajā trofoblastā (rho= −0,23), FGFR1 saistaudu šūnās un bFGF saistaudu šūnās (rho= −0,26).

Atlobenes audos tika konstatēta **vāji pozitīva korelācija** starp FGFR1 un NGF saistaudu šūnās (rho=0,21), kā arī starp FGFR1 un NGF nervu šķiedrās (rho=0,39).

Vidēji negatīvu korelāciju konstatējām endometrija audos starp FGFR1 un bFGF epitēlijā (rho= -0,56), FGFR1 un HGF epitēlijā (rho= -0,37), FGFR1 un HGF saistaudu šūnās (rho= −0,42), kā arī FGFR1 un PGP 9.5 nervu šķiedrās (rho= −0,4)

Olvada grūtniecības gadījumā tika konstatēta **vāji negatīva korelācija** starp FGFR1 un NGF epitēlijā (rho= −0,22), FGFR1 un bFGF saistaudu šūnās (rho= −0,21).

Olvada audos novēroja **vāji pozitīvu korelāciju** starp FGFR1 un bFGF muskuļškiedrās (rho=0,19), FGFR1 un IGF-1 perifērajā trofoblastā (rho=0,16), FGFR1 un PGP 9.5 perifērajā trofoblastā (rho=0,22), FGFR1 un IGF-1 saistaudu šūnās (rho=0,21).

Negatīva vidējā korelācija olvada grūtniecības gadījumā tika konstatēta FGFR1 un HGF epitēlijā (rho= −0,58), FGFR1 un HGF nervu šķiedrās (rho= −0,48), FGFR1 un PGP 9.5 nervu šķiedrās (rho= -0,425).

Pozitīvu vidēju korelāciju olvada audos novēroja starp FGFR1 un NGF perifērajā trofoblastā (rho=0,49).

Kraskela−Vollisa (*Kruskal-Wallis*) tests uzrādīja statistiski ticamu savstarpējo sakarību starp implantācijas vietu (*decidua* vai olvads) un

- bFGF epitēlijā (p< 0,0001)
- IGF-1R epitēlijā (p<0,0001)
- IGF-1R citotrofoblastā (p <0,0001)
- IGF-1R saistaudu šūnās (p<0,0001)
- IGF-1 perifērajā trofoblastā (p<0,0001)

- TGF beta 1 perifērajā trofoblastā ($p<0,0001$)
- HGF ekstraembrionālajā mezenhīmā ($p<0,0001$)
- HGF saistaudu šūnās ($p<0,0001$)
- NGF epitēlijā ($p<0,0001$)
- NGF muskuļškiedrās ($p<0,0001$)
- NGF endotēlijā ($p<0,0001$)
- NGF saistaudu šūnās ($p<0,0001$)
- NGF nervu šķiedrās ($p<0,0001$)
- Cilvēka defensīnu beta 2 citotrofoblastā ($p<0,0001$)
- Cilvēka defensīnu beta 2 sincītijtrofoblastā ($p<0,0001$)
- Cilvēka defensīnu beta 2 perifērajā trofoblastā ($p<0,0001$)
- Cilvēka defensīnu beta 2 saistaudu šūnās ($p<0,0001$)
- PGP 9.5 epitēlijā ($p<0,0001$)
- PGP 9.5 perifērajā trofoblastā ($p<0,0001$)

4. DISKUSIJA

4.1 Pētījuma populācija un olvada grūtniecības riska faktori

Savā aprakstošajā pētījumā esam iekļāvuši divas pacienšu grupas:

1) pacientes ar fizioloģisku dzemdes grūtniecību un

2) pacientes ar olvada grūtniecību.

Pēc *Kamwendo* datiem, ektopiska grūtniecība visbiežāk konstatējama sievietēm 30 gadu vecumā (*Kamwendo et al*., 2000). Pacienšu vecums abās grupās bija praktiski vienāds − 29,7 gadi 2. grupā, bet 30,8 gadi 1. grupā (p=0,62). Grūtniecības laiks dzemdes grūtniecības grupas pacientēm bija 6,05 gestācijas nedēļas, bet olvada grutniecības grupas pacientēm − 6,7 gestācijas nedēļas (p=0,21).

IIS ir pierādīts olvada grūtniecības riska faktors (*Pisarska et al*., 1998; *Tay et al*., 2000; *Bouyer et al*., 2003; *Varma and Gupta*, 2009). Mūsu pētījumā IIS vidējais epizožu skaits pacientēm ar spontānu fizioloģisku grūtniecību bija 0,3 (tikai 3 no 10), bet olvada grūtniecības grupā 0,7 (10 no 17; trim pacientēm bija atkārtoti gadījumi), tomēr statistiski ticamas atšķirības starp grupām nebija (p=0,062). Tas arī ir izskaidrojams ar nelielo atlasi. Olvada grūtniecības grupā netika novērota statistiski ticama starpība starp pacientēm ar IIS un bez IIS anamnēzē.

Saslimstība ar IIS tieši korelē ar STS saslimstību, proti, hlamīdiju un gonorejas infekciju (*Haggerty et al.,* 2010). Tikai vienai pacientei no abām grupām bija dokumentēta STS, proti, hlamīdijas infekcija. *Chlamydia trahomatis* incidence Eiropas Savienībā variē no 1,7 līdz 17% (*Fenton et al.,* 2004).

Tā kā saslimstība ar IIS ir tieši atkarīga no STS izplatības un seksuālās uzvedības, mēs pacientēm fiksējām arī partneru skaitu. IIS risks pieaug, ja sievietei pēdējo 30 dienu laikā ir bijis vairāk nekā viens dzimumpartneris (*Jossens et al.,* 1996) vai vairāk nekā četri dzimumpartneri sievietes dzīvē (*Wolner-Hanssen et al.,* 1990). Dzemdes grūtniecības grupas pacientēm vidēji bija 2,66 partneri, bet olvada grūtniecības grupas pacientēm − 2,75, kas nav statistiski ticama atšķirība (p=0,9).

Abu grupu pacientes neizmantoja nekādas kontracepcijas metodes, izņēmums bija viena olvada grūtniecības grupas paciente, kura lietoja IUS divus gadus, lai bloķētu ovulāciju un izsargātos gan no nevēlamas, gan ektopiskas grūtniecības. Jāatzīmē, ka IUS padara neiespējamu blastocistas implantāciju dzemdē gandrīz par 99% (*Kaneshiro*

et al., 2010), bet neietekmē ovulāciju, apaugļošanos un ektopisku ieligzdošanos. IUS, kā parādīja *Xiong* meta analīze un *Goksedef* pētījums, nav ne olvada grūtniecības, nedz rupturētas olvada grūtniecības riska faktors (*Xiong et al*., 1995; *Goksedef et al*., 2010).

Pārtrauktā grūtniecība bija kārtējā grūtniecība katrai pacientei ar fizioloģisku grūtniecību (vidēji 4,2 grūtniecība), bet divām pacientēm ar olvada grūtniecību tā bija pirmā grūtniecība (vidēji 2,4 grūtniecība). Arī abortu skaits lielāks bija dzemdes grūtniecības grupā − 2,4, bet otrajā grupā − 0,94 (p=0,004). Kopumā dzemdes grūtniecības grupas pacientēm bija mazāk reproduktīvu problēmu (grūtniecības un abortu skaits anamnezē) nekā olvada grūtniecības grupas pacientēm (p=0,047). Tas liecina par olvada grūtniecības grupas pacienšu sākotnēju predispozīciju uz reproduktīvajām problēmām.

Pierādīts, ka ektopiskas grūtniecības riska faktors ir smēķēšana (*Farquar*, 2005), bet saskaņā ar mūsu pētījuma datiem vairāk smēķēja pacientes ar nevēlamu grūtniecību (n=7) nekā pacientes ar olvada grūtniecību (n=3; p=0,013). Kaut gan mūsu dati nesakrīt ar literatūras datiem, šis fakts ir izskaidrojams ar, iespējams, zemāku sociālo un izglītības līmeni pacientēm (*Pedersen et al.,* 2006), kuras izvēlas nevēlamās grūtniecības pārtraukšanu, un nelielo objektu skaitu abās atlasēs.

Mūsu pētījuma mērķis nebija olvada grūtniecības epidemioloģiskā analīze. Mēs varam secināt, ka statistiski ticamu rādītāju atšķirību, izņemot grūtniecības un abortu skaitu, starp abām pacienšu grupām nebija. Šis fakts ir nozīmīgs, jo, analizējot pētījuma gaitā trīs audu grupās iegūtos datus, mēs uzskatījām, ka ir svarīgi konstatēt iespējamās atšķirības un asociētās patoloģijas, kas varēja ietekmēt morfoloģisko ainu dzemdes, ektopiskas grūtniecības un embrija audos.

4.2. Augšanas faktori, to receptori dzemdes un olvada implantācijas gadījumā

Efektīva abpusēja mijiedarbība starp funkcionējošu blastocistu un uztverīgu endometriju ir veiksmīgas implantācijas priekšnosacījums. Ja molekulāra mijiedarbība starp embriju un endometriju nav nodibināta, blastocista neimplantējas vai vēlāk notiek spontānais aborts (*Ma et al*., 1999). Pēdējo gadu pētījumi parādījuši, ka attīrīto augšanas faktoru (HB-EGF un IGF-1) iedarbība uz endometriju spēj izraisīt periimplantācijai raksturīgas izmaiņas implantācijas laukumā. Tos parasti inducē pati blastocista

(*Paria et al.,* 2001). Tomēr augšanas faktoru inducēto molekulāro notikumu secība un hierarhija pašreiz zinātniskajā literatūrā nav pietiekami labi aprakstīta.

TGF beta 1 regulē šūnu augšanu, diferenciāciju un apoptozi (*Heldin et al.,* 1997). TGF beta 1 ir būtiska loma dzimumsistēmas funkcionēšanā (*Godkin et al.,* 1998; *Jones et al.,* 2006), respektīvi, faktors piedalās endometrija remodelēšanā (*Stoikos et al.,* 2008) un trofoblasta invāzijā (*Lyall et al.,* 2001; *Simpson et al.,* 2002). Periimplantācijas fāzē TGF beta 1 atrodams gan uz *conceptus*, gan uz endometrija virsmas (*Gupta et al.,* 1996; 1998a; 1998b), šis faktors regulē endometrija transformāciju un *conceptus* adhēziju pie endometrija virsmas (*Massuto et al.,* 2010) un trofoblasta invāziju endometrijā (*Geisert et al.,* 1982; *Bazer et al.,* 1987).

Pētāmajos dzemdes grūtniecības audos TGF beta 1 bija plaši izplatīts: epiteliocītu apikālajā citoplazmā un atsevišķu šūnu perifērajā trofoblastā, makrofāgos un neitrofilajos leikocītos. Mūsu atradne liecina par šī faktora nozīmi endometrija transformācijā implantācijas vietā.

Zhao cilvēka olvadā konstatēja visas TGF beta izoformas un secināja, ka faktori aktīvi piedalās olvada funkciju nodrošināšanā (*Zhao et al*., 1994). Periimplantācijas fāzē TGF beta 1 modulē olvada mikrovidi un kā autokrīnais vai parakrīnais faktors regulē embrija attīstību (*Arganaraz et al*., 2010). *Sun* ar līdzautoriem pacientēm ar olvada neauglības faktoru novēroja palielinātu TGF beta 1 imūnekspresiju saaugumu vietās un secināja, ka TGF beta 1 ietekmē saaugumu veidošanos olvadā (*Sun et al.,* 2009). Vēlāk šī autoru grupa pierādīja, ka TGF beta 1 ekspresijas intensitāte negatīvi korelē ar grūtniecības iestāšanās iespēju sievietēm ar ķirurģisku olvada saaugumu korekciju neatkarīgi no saaugumu smaguma un sievietes vecuma (*Li et al.,* 2011).

Mūsu pacientēm ar olvada grūtniecību pētījuma gaitā olvada audos TGF beta 1 pozitīvi nokrāsotas šūnas netika konstatētas. Ņemot vērā iepriekš aprakstītos faktus par TGF beta 1 lomu olvada funkcijā, varam apgalvot, ka ektopiska ieligzdošanās mūsu pacientēm nebija saistīta ar saauguma procesu olvadā. TGF beta 1 trūkums audos olvada grūtniecības gadījumā liecina arī par traucētu *conceptus* un mātes audu mijiedarbību, un līdz ar to organisma nespēju attīstīt ektopisku grūtniecību.

bFGF un FGFR ir plaši izplatīti cilvēka organisma audos un piedalās šūnu diferenciācijas, proliferācijas procesos, kā arī audu reģenerācijā un angioģenēzē (*Hughes,* 1997). bFGF ir proangiogēnais faktors, respektīvi, endoteliocītu mitogēns, kas nodrošina asinsvadu veidošanu (*Presta et al.,* 2005). Cilvēka endometrijā neatkarīgi no menstruālā cikla, kā arī postmenopauzē, tiek ekspresēts bFGF (*Rusnati et al.,* 1990).

Grūtniecības laikā dzemdē novēro palielinātu estrogēnu atkarīgo bFGF ekspresiju (*Wordinger et al.,* 1994; *Samathanam et al.,* 1998). Endometrijā ekspresējas abi bFGF receptori – FGFR1 un FGFR2 (*Welter et al.,* 2004). Edvards parādīja, ka bFGF un to receptoru implantācijas laikā atrod endometrija luminālajā, kriptu epitēlijā un stromā. Autors ar līdzstrādniekiem pierādīja, ka VEGF trūkuma gadījumā FGFR1 un FGFR2 ekspresija palielinās, lai bFGF inducētu angioģenēzi, kas nepieciešama veiksmīgai implantācijai un placentācijai (*Edwards et al.,* 2011).

Daudz FGFR1 pozitīvo struktūru mēs konstatējām praktiski visos olvada sienas apvalkos. FGFR1 ekspresija bija atrodama olvada epitēlijā, asinsvadu sienas šūnās, nervu šķiedrās un mezotēlijā. Tikai atsevišķu epiteliocītu, endoteliocītu, mezoteliocītu citolemmas un miocītu sarkolemmas ekspresēja bFGF. Olvada gļotādas saistaudos tika novēroti gan bFGF, gan FGFR1 pozitīvie makrofāgi un neitrofilie leikocīti. Dzemdes grūtniecības gadījumā aina bija līdzīga, daudz FGFR1 pozitīvo šūnu novērojām gan epitēlijā, gan asinsvadu sienā, endoteliocītu, mezoteliocītu citolemmās un miocītu sarkolemmās. Atsevišķas bFGF pozitīvās šūnas atradam dzemdes epitēlijā un *decidua* saistaudos. Embrija audi, respektīvi, sincītijtrofoblasts, citotrofoblasts un ekstra-embrionālā mezenhīma arī parādīja lielu daudzumu FGFR1, bet bFGF šajās struktūrās trūka.

Tātad gan dzemdes, gan ektopiskas grūtniecības gadījumā bFGF un FGFR1 izplatīti vienādi kā implantācijas vietā, tā trofoblasta šūnās. Tas liecina par faktora svarīgo lomu ne tikai angioģenēzē, bet arī audu remodelēšanā. Mūsu pētījumā tika konstatēts, ka gan fizioloģiskas, gan patoloģiskas implantācijas gadījumā FGFR1 relatīvais daudzums dominē pār bFGF. Iespējams, ka FGFR relatīva daudzuma dominēšana pār bFGF ir saistīta ar blastocistas inducētu audu kompensatoru remodelēšanu gan dzemdes, gan olvada audos.

NGF bioloģiskā funkcija ir ne vien PNC un CNS uzturēšana un vielmaiņas funkciju veikšana (*Chesa et al.,* 1988; *Thompson,* 1989; *Bandtlow and Dechant,* 2004), bet arī citu svarīgu funkciju veikšana: NGF piedalās iekaisuma reakcijas inducēšanā un, aktivizējot endoteliocītus, inducē angioģenēzi (*Hempsted,* 2002; *Gentry et al.,* 2004; *Rahbek et al.,* 2005; *Park et al.,* 2007). *Tometten* uzskata, ka NGF ir nepieciešams faktors grūtniecības saglabāšanai, jo tas inhibē tēva MHC II klases molekulas ekspresiju trofoblasta šūnās (*Tometten et al.,* 2005).

NGF ir neirodeģeneratīvo slimību, autoimūnu, alerģisku iekaisumu, arī alerģiskās astmas, patoģenēzes veicinātājs, kas iesaistīts arī audu reģenerācijā un fibrozē

(*Micera et al.,* 2003; *Sonar et al.,* 2007). Ir zināms, ka NGF un receptoru ekspresija mainās arī adenomiozes gadījumā (*Li et al.,* 2011a), kad novēro gan faktora, gan receptora palielinātu ekspresiju.

NGF piedalās vairākos reproduktīvos procesos, respektīvi, regulē tuklo šūnu aktivitāti implantācijas laukā (*Bose at al.,* 2009), olnīcā nosaka folikulocītu jutību pret gonadotropīniem, inducējot folikulu stimulējoša hormona (FSH) receptoru ekspresiju un estrogēnu sintēzi (*Salas et al.,* 2006). NGF ir nepieciešamais faktors grūtniecības progresēšanā, progesterons uztur NGF lokālo koncentrāciju dzemdē (*Shi et al.,* 2006).

Pētījuma gaitā ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā tika novērots vidējs NGF pozitīvo struktūru daudzums olvada epitēlijā, gludajā muskulatūrā, endotēlijā un nervu šķiedrās. Gadījumā, kad blastocista implantējās dzemdē, imūnhistoķīmiskā aina bija līdzīga: *decidua basalis* epitēlijā tika novērots daudz NGF pozitīvu šūnu, perifērajā trofoblastā un atsevišķās kompaktā slāņa šūnās, arī makrofāgos un leikocītos.

Olvada *lamina propria* un muskuļapvalkā NGFRp75 saturēja tikai nervu šķiedras, kuras lokalizējās arī atlobenes stromā blactocistas implantācijas vietā. Statistiski ticamas faktora un receptora relatīva daudzuma atšķirības olvada un endometrija audos netika konstatētas.

Citu nervu un neiroendokrīno šūnu marķieri, t.i., PGP9.5, konstatējām olvada epitēlijā un nervu šķiedrās. Olvada epitēlijā lokalizējās PGP 9.5 pozitīvie neiroepitelālie ķermenīši. Perifērā trofoblasta šūnas, kā arī atsevišķas šūnas olvada *lamina propria* arī ekspresēja PGP 9.5. Bazālās atlobenes epitēlijs, nervu šķiedras, perifērā trofoblasta un saistaudu šūnas uzrādīja PGP 9.5 pozitīvu reakciju. PGP 9.5 sadale un lokalizācija abos gadījumos bija vienāda.

Quinn parādīja, ka adenomiozes gadījumā dzemdē samazinās PGP 9.5 imūnreaktivitāte, līdz ar to adenomiozei ir raksturīgs samazināts nervu šķiedru daudzums (*Quinn,* 2007).

Mūsu pētījumā patoloģiskas implantācijas gadījumā neizdevās konstatēt NGF, NGFRp75 un PGP 9.5 izmaiņas olvada sienā. Varam secināt, ka NGF, NGFRp75 un PGP 9.5 ir svarīgi faktori implantācijas vietā un tie nav saistīti ar nepareizu blactocistas ieligzdošanos.

IGF-1 un IGF-1R nosaka embrija augšanu, stimulējot šūnu proliferāciju un angioģenēzi. IGF-1 pieaugušajiem un it sevišķi augļiem tiek sintezēts praktiski visās orgānu sistēmās (*Bell et al.,* 1985; *Lund et al.,* 1986).

Grūtniecības laikā mātes serumā palielinās IGF-1 koncentrācija, aktivizējot barības vielu transportu caur placentu, un IGF-1 koncentrācija korelē ar augļa svaru (*Iwashita,* 1994). Augļa augšanas aiztures gadījumā novēro kompensatoru IGF-1 ekspresijas palielināšanos (*Holmes et al.,* 1999; *Ozkan et al.,* 2008) placentas audos.

Kapur parādīja, ka endometrija deciduālās šūnas ekspresē IGF-1 implantācijas vietā (*Kapur et al.,* 1992). Tas ir nepieciešams nosacījums embrija turpmākai implantācijai. Šis process ir atkarīgs no estrogēniem (*Murphy et al.,* 1987), progesterona un TGF alfa (*Maekawa et al.,* 2009). Dzemdes epitēlijā mēs konstatējām vidēju daudzumu IGF-1 un lielu daudzumu IGF-1R pozitīvo struktūru. Atsevišķas perifērā trofoblasta šūnas gļotādas saistaudos ekspresēja IGF-1 un IGF-1R. Ekstraembrionālā mezenhīma, citotrofoblasts un sincītijtrofoblasts saturēja IGF-1 un IGF-1R. Statistiski ticamas atšķirības IGF-1 un IGF-1R sadalē *decidua* audos mēs neatradām, līdz ar to var secināt, ka gan pats faktors, gan receptors piedalās endometrija remodelēšanā, embrija implantācijā un trofoblasta invāzijā un nodrošina veiksmīgu grūtniecības attīstību.

Zakaria ar līdzautoriem konstatēja, ka pelēm gan olvadā, gan dzemdē periimplantācijas periodā tiek ekspresēts IGF-1, IGF-2, IGF-1R un IGF-2R. Interesanti, ka dzemdes audos netika novērotas atšķirības faktoru un receptoru sadalē, bet pelēm ar inducētu cukura diabētu salīdzinājumā ar kontroles grupas pelēm olvada audos tika novērota ievērojami samazināta receptoru ekspresija. Šo faktu autors saista ar periimplantācijas embriopātiju pacientēm ar cukura diabētu (*Zakaria et al.,* 2009).

Sievietēm ar diabētu grūtniecības laikā arī novēro samazinātu IGF-1R ekspresiju placentā, bet IGF-1 līmenis asins plazmā ir palielināts. Ņemot vērā, ka IGF-1 nešķērso transplacentāro barjeru, bet realizē savu efektu caur receptoriem, kas ir lokalizēti placentā, samazinātā IGF-1R ekspresija ir kompensatorais mehānisms, kas neitralizē palielinātu IGF-1 un ierobežo tā iedarbību uz mērķa šūnām (*Hayati et al.,* 2007).

Mūsu pētījumā tika konstatēts, ka IGF-1 ir bagātīgi izdalīts olvada epitēlijā, bet IGF-1R − tikai perēkļveidā izplatīts šūnu apikālajā virsmā. Makrofāgi un neitrofilie leikocīti ekspresēja IGF-1. Citotrofoblasts un sincītijtrofoblasts olvada grūtniecības gadījumā saturēja vidēji daudz IGF-1 pozitīvo šūnu. Atsevišķas ekstraembrionālās mezenhīmas šūnas bija IGF-1 pozitīvās. Perifērajā trofoblastā tika atrastas perēkļveidīgi lokalizētas IGF-1 pozitīvās šūnas. IGF-1R netika atrasts citās struktūrās, izņemot mezotēliju.

Mūsu pētījumā konstatētais IGF-1R trūkums olvada grūtniecības gadījumā liecina par šūnu proliferācijas traucējumiem, trofoblasta invāzijas ierobežojumu audos,

kuros notiek patoloģiska implantācija. Līdz ar to tādi embrija attīstības pamatprocesi kā angioģenēze, trofoblasta invāzija un šūnu augšana ir traucēta. Iespējams IGF-1R trūkums ektopiskas implantācijas skartajos audos ir organisma kompensatorās adaptācijas mehānisms, kas norobežo patoloģisko procesu.

HGF piedalās endometrija cikliskajā remodelēšanā pelēm, regulējot šūnu proliferāciju estrogēnu un progesterona ietekmē (*Zhang,* 2010). Cilvēka endometrija audos estrogēni arī regulē fibroblastu HGF sintēzi. Tas varētu būt saistīts ar endometriozes un vēža attīstību (*Coleman et al.,* 2009; *Felix et al.,* 2010). HGF ir plaši atrodams sievietes reproduktīvā trakta šķīdumos, arī olvada (*Srivastava et al.,* 1999) sekrētā. Implantācijas laikā HGF regulē trofoblasta migrāciju (*Rajaraman et al.,* 2010) un invāziju (*Kauma et al*., 1999).

Ektopiskas grūtniecības gadījumā mūsu pacientēm olvada epitēlijs, asinsvadu sieniņu šūnas, perifērā trofoblasta šūnas, kā arī horija bārkstiņu šūnas bagātīgi ekspresēja HGF. Endometrija epitēlijā HGF sadalījās vidēji lielā daudzumā, bet ekstraembrionālajai mezenhīmai, sincītijtrofoblastam, citotrofoblastam, perifērajam trofoblastam un saistaudu šūnām bija raksturīga intensīva faktora ekspresija pareizās implantācijas vietā. HGF vienādi sadalījās gan olvada, gan endometrija audos un nebija saistīts ar patoloģisku blastocistas implantāciju.

MMPs ir proteolītiskie enzīmi, kas šķeļ ekstracelulāras matrices komponentus (*Nagase et al*., 2006) un aktivizē citokīnus un antimikrobu olbaltumvielas (*Parks et al*., 2004).

MMP 2 ir viens no svarīgākajiem trofoblasta invāzijas regulētājiem cilvēka audos grūtniecības agrīnajā laikā. *Seval* uzskata, ka MMP 2 ir primārais mediators, kas nosaka trofoblasta invāziju deciduālajā endometrijā, remodelēšanu un angioģenēzi (*Seval et al*., 2004). Dzīvniekiem MMP 2 ir atrodams endoteliocītos, asinsvadu gludajā muskulatūrā, miometrijā un olvada epitēlijā gan grūtniecības laikā, gan negrūtām kucēm, bet grūtniecības laikā MMP 2 ekspresija endometrijā aktivizējas un paliek nemainīgi palielināta, grūtniecībai progresējot (*Beceriklisoy et al*., 2007). *Ghosh* arī secina, ka MMP 2 atrod gan endometrijā, gan trofoblastā implantācijas laikā. Autors apgalvo, ka MMP 2, atšķirībā no MMP 9, nav saistīta ar agrīnas placentācijas traucējumiem (*Ghosh et al*., 2011). Trofoblasta šūnas ekspresē MMP 9 gan *in vitro*, gan *in vivo* (*Peters et al.,* 1999). MMP 9 aktivizācija ir nepieciešama ārpussūnu matrices olbaltumvielu šķelšanai blastocistas invāzijas procesā (*Martinez-Hernandez et al*., 2011).

Mēs konstatējām daudz MMP 2 un MMP 9 pozitīvo šūnu olvada un horija bārkstiņu audos, līdz ar to secinām, kā olvada grūtniecības gadījumā no MMP 2 un MMP 9 atkarīgā trofoblasta invāzija nebija traucēta un MMP 2, kā arī MMP 9 disfunkcija nebija saistīta ar ektopisku ieligzdošanos.

4.3. Programmētā šūnu nāve implantācijas vietā

Apoptoze jeb programmētā šūna nāve ir ģenētiski determinēts process, kas nosaka audu homeostāzi un eliminē disfunkcionālas šūnas. Sievietes reproduktīvajā sistēmā apoptoze nosaka cikliskas izmaiņas endometrijā. Programmētā šūnu nāve biežāk notiek dzeltenā ķermeņa fāzē, tā ir atkarīga no progesterona un estrogēna (*Otsuki*, 2001; *Sengupta et al*., 2003). Apoptotiskās šūnas sāk parādīties sekretorajā fāzē, to skaits palielinās receptīvajā periodā un sasniedz savu maksimumu deskvamācijas fāzē (*Kokawa et al*., 1996; *Vaskivuo et al*., 2000). *Kokawa* postulēja, ka apoptoze ir mehānisks process, kas ir saistīts ar audu bojājumu menstruālās asiņošanas laikā (*Kokawa et al*., 1996). Vēlāk *Li* ar līdzautoriem pierādīja, ka apoptoze endometrijā parādās *in vivo*, tuvojoties menstruācijai, un nav saistīta ar mehānisku audu sabrukšanu, bet menstruālā cikla laikā piedalās audu remodelēšanas procesā (*Li et al*., 2005).

Olvada apoptotisko šūnu skaits arī ir mainīgs un, kā parāda pētījumi, palielinās pēc ovulācijas virzienā uz olvada savienojumu ar dzemdi, tātad ir saistīts ar olšūnas nobriešanu un apaugļošanu (*Urhausen et al*., 2011). *Assisi* arī uzskata, ka apoptotiskā aktivitāte palielinās pēc ovulācijas un nosaka dinamiskas izmaiņas olvadā, kā arī audu remodelēšanu reproduktīvā cikla laikā (*Assisi et al*., 2011).

Izmantojot vienu no iespējamām metodēm apoptozes noteikšanai − *TUNEL*, mēs konstatējām, ka pacientēm gravidajā endometrijā un horija bārkstiņu audos parādās praktiski visu šūnu (totāla) apoptoze. Apoptotiskais indekss glandulārajā epitēlijā bija 74%. Arī olvada audiem bija raksturīga izteikta apoptoze gan epitēlijā (apoptotiskais indekss olvada epitēlijā bija 75%), gan gļotādas saistaudos. Mēs uzskatām, kā šī atradne ir saistīta ar aktīvu audu pārbūvi, kas ir saistīta ar blastocistas implantāciju. Statistiski ticamas atšķirības apoptozes atradnē olvada un dzemdes grūtniecības gadījumā nekonstatējām.

4.4. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas implantācijas vietā

Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas mēs analizējām, identificējot cilvēka defensīnu beta 2 pētāmajos audos. *Das* pierādīja, ka endometrija stromas neitrofilie leikocīti izdala cilvēka alfa un beta defensīnus, kas neietekmē embrija implantāciju dzemdē (*Das et al*., 2007). *Hu* konstatēja, ka pacientēm ar un bez saaugumiem olvadā cilvēka defensīnu beta 2 apikālajā virsmā satur olvada epiteliocīti (*Hu et al*., 2010).

Mūsu pētījumā cilvēka defensīnu beta 2 bagātīgi izdalīja gan olvada grūtniecības, gan dzemdes grūtniecības audi. Tika novērots, ka cilvēka defensīns beta 2 bija plaši izplatīts endometrija epitēlijā, pārsvarā šūnu citoplazmā un uz apikālās plazmolemmas. Saistaudu šūnas, t.i., makrofāgi un neitrofilie leikocīti, endometrijā, īpaši ap asinsvadiem, izdalīja cilvēka defensīnu beta 2. Arī olvada audos novēroja daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu. Cilvēka defensīna beta 2 granulas koncentrējās olvada epiteliocītu citoplazmā un uz apikālās plazmolemmas. Saistaudu šūnas, īpaši ap asinsvadiem, izdalīja cilvēka defensīnu beta 2. Cilvēka defensīna beta 2 sadale endometrija un olvada audos nebija statistiski ticami atšķirīga.

Analizējot cilvēka defensīna beta 2 relatīvu daudzumu, ieguvām rezultātus, kas liecina par šīs antimikrobās olbaltumvielas piedalīšanos gan patoloģiskas, gan fizioloģiskas implantācijas procesā.

4.5. Augšanas faktori un to receptori embrija audos

Augšanas faktori nosaka vairākus procesus pieaugušo audos: šūnu augšanu, diferenciāciju, proliferāciju, audu remodelēšanu, dzīšanu u.c., darbojas kā starpnieki audu funkcionēšanā un realizē audu un šūnu adaptāciju fizioloģiskiem un patoloģiskiem procesiem. Embrionālās attīstības gaitā augšanas faktoru nozīme šūnu diferenciācijā, migrācijā, t.i., embrija attīstībā, pašreiz tiek aktīvi pētīta (*Hill et al*., 1998).

Dažādas cilvēka organisma šūnas sintezē multifunkcionālu olbaltumvielu TGF beta 1, kura regulē iekaisuma reakciju, audu reģenerāciju un neoplastisku transformāciju − kontrolē šūnas cikla pāreju no G1/G0 uz S fāzi (*Roberts and Spon*, 1993; *Kingsley et al*., 1994; *Massague et al*., 1996), inducē audu fibrozi (*Bonniaud et al*., 2005). Embrioģenēzē TGF beta 1 kontrolē šūnu proliferāciju, diferenciāciju, migrāciju un apoptozi (*Yang et al*., 2003), nosaka epitēlija un mezenhīmas mijiedarbību

gan prenatāli, gan postnatāli (*Zavadil and Boettinger*, 2005), kā arī topošā skeleta formas (*Hall and Miyake*, 2001). TGF beta 1 inducē mezenhimocītu migrāciju un diferenciāciju osteocītos vai hondrocītos (*Atchley un Hall*, 1991), ir visplašāk izplatīta TGF saimes izoforma cilvēka kaulos (*Hering et al*., 2001). TGF beta 1 ir plaši atrodama embrija audos 4.−6. gestācijas nedēļā (*Kukanova and Pilmane*, 2007).

Embrija audos mēs novērojām plaši izteiktu TGF beta 1 imūnreaktivitāti. Daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu tika konstatētas epitēlijos, arī ādas un barības vada epitēlijā, nieres kanāliņos un plaušu epitēlijā. TGF beta 1 bija atrodams iekšējo orgānu kapsulu šūnās un iekšējo orgānu stromā. Miokardā un ekstraembrionālajā mezenhīmā TGF beta 1 pozitīvās šūnas bija sadalījušās perēkļveida grupās. Ir pierādīts, ka TGF beta 1 ietekmē epiteliālas šūnas ekspresē tradicionālus mezenhimālus marķierus un otrādi (*Chai et al*., 2010), embrioģenēzē atspoguļojot šūnu diferenciācijas procesu. Iespējams, tāda faktora izplatība epiteliālajos un mezenhimālajos embrija audos liecina, ka TGF beta 1 aktīvi piedalās pirmā trimestra organoģenēzē.

Langdahl ar līdzautoriem demonstrēja TGF beta 1 spēju inhibēt osteoklastus un inducēt preosteoblastu proliferāciju un turpmāku diferenciāciju (*Langdahl et al*., 2003). Mēs konstatējām daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu perihondrā, skrimšļa proliferācijas zonās un pārkaulošanās centros, kas pamato TGF beta 1 piedalīšanos skeletoģenēzē 6.–12. embrionālās attīstības nedēļā.

Arī bFGF1, kuru uzskata par mezenhimālas izcelsmes šūnu marķieri pieauguša cilvēka audos (*Chai et al*., 2010), bija plaši izplatīts embrija audos. Fibroblastu augšanas faktoru saimes aktivitāte agrīnajā embrioģenēzē nosaka mezenhīmas diferenciāciju, migrāciju un pozitīvi vai negatīvi regulē svarīgo blastocistas gēnu ekspresiju (*Hardy et al*., 2011). Embrija audos tika konstatēts daudz FGFR1 un vidēji daudz bFGF pozitīvo struktūru − orgānu epitēlijos, sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un skrimšļa proliferācijas zonā, kā arī hordas paliekās. Pleiras un perikarda mezotēlijs, miokards, spinālie gangliji, muskuļšķiedru, nervu šķiedru pazmolemmas un endoteliocīti saturēja bFGF un FGFR1. Mēs uzskatām, ka bFGF un FGFR1 regulē endodermālās, ektodermālās un mezodermālās izcelsmes šūnu diferenciāciju embrioģenēzē un ir divi no plašāk atrodamiem augšanas faktoriem cilvēka embrioģenēzē.

1957. gada *Viktor Hamburger* un *Rita Levi-Montalcini* identificēja NGF. Par savu atklājumu viņi 1986. gada saņēma Nobela prēmiju (*Cowan*, 2001). Viņi novēroja, ka cāļa embrijam amputētā ekstremitātes aizmetņa nervu šūnas aiziet bojā, bet, ja šo

ekstremitātes aizmetni transplantē citam embrijam, tajā ieaug jaunas nervu šķiedras. Tas pierādīja NGF nozīmi nervu sistēmas pastāvēšanā. Pēc tam veikti daudzi pētījumi un publicēts liels skaits rakstu, kuros aprakstītas vairākas jaunas NGF funkcijas: tas piedalās epitēlija remodelēšanā un augšanā (*Botchkarev et al*., 2004), stimulē endoteliocītu invāziju un pastiprina MMP 2 iedarbību (*Parks et al*., 2007). *Toti* nodemonstrēja, ka NGF imūnreaktivitāte ir atrodama praktiski visā grūtniecības laikā gan embrija audos, gan *decidua* no 6. embrionālas attīstības nedēļas līdz augļa iznēsāšanai (*Toti et al.,* 2006).

Mēs NGF pozitīvās struktūras lielā vai vidējā daudzumā novērojām praktiski visos embrija audos, izņemot skrimšļa proliferācijas zonas, hondrocītus un pārkaulošanās centrus. NGFRp75 bagātīgi iekrāsoja nervu šķiedru, muskuļškiedru un endoteliocītu plazmatiskās membrānas. NGF nodrošina cilvēka embrija šūnu izdzīvošanu, un tā klātbūtne ir nepieciešams faktors blastocistas implantācijai, turpmākai attīstībai un grūtniecības progresēšanai līdz bērna piedzimšanai (*Tometten et al*., 2005; *Toti et al.,* 2006).

Reproduktīvajā fizioloģijā pašreiz īpaša vieta ir veltīta IGF-1 un tā receptora pētījumiem. Mātes IGF-1 stimulē augļa augšanu, aktivizējot barības vielu transplacentāro transportēšanu (*Iwashita*, 1994). Augļa intrauterīnās augšanas aiztures gadījumā novēro kompensatoru IGF-1 koncentrācijas pieaugumu (*Holmes et al*., 1999; *Ozkan et al*., 2008a). *Yigiter* piedāvā IGF-1 izmantot kopā ar beta hCG, PAPP-A un doplerogrāfisku izmeklēšanu 11.−14. gestācijas nedēļā, lai identificētu augļus ar potenciālo intrauterīnās augšanas aizturi (*Yigiter et al.,* 2011). *Kamei* eksperimentu sērijā ar zivju embrijiem noskaidroja, ka IGF-1 mijiedarbība ar receptoru, pastāvot hipoksijai, notiek divējādi: mazinās IGF-1R ekspresija, un aktīvāka kļūst insulīnam līdzīgā faktora saistošā proteīna sintēze. Šis IGF-1 un IGF-1R mijiedarbības mehānisms, kurš ievērojami uzlabojas pēc reoksigenācijas un kura rezultātā vērojama akcelerācija, turpmākajā dzīvē varētu būt aptaukošanās, sirds-asinsvadu slimības, mentālas retardācijas un cukura diabēta patoģenēzes pamats, kas ar lielāku varbūtību attīstās retardētiem augļiem postnatālajā dzīvē (*Kamei et al*., 2011).

Gēnu pētījumi parāda, ka IGF-1 līdzdalība nepieciešama embrija attīstībā. Peļu embrijiem ar IGF-1, IGF-2, un IGF-1R nulles gēniem (*Liu et al*., 1993) un cilvēka embrijiem ar dabīgām IGF-1, IGF-2 un IGF-1R mutācijām izdzīvošana nav iespējama smago attīstības anomāliju dēļ (*Klammt et al*., 2008).

IGF-1 klātbūtne barotnē uzlaboja atsaldēto lopu embriju kvalitāti (palielināja šūnu daudzumu, mazināja apoptotisko indeksu) salīdzinājumā ar atsaldētiem embrijiem, kurus kultivēja barotnē bez IGF-1 piedevas (*Makarevich et al*., 2011).

Liu ar līdzautoriem injicēja pīļu embrijiem IGF-1 *in ovo* un konstatēja palielinātu ķermeņa masu, muskuļšķiedru diametru un aktivizētu satelītu šūnu daudzumu neonatālajā periodā. Autors secinājis, ka IGF-1 stimulē embrija augšanu, īpaši muskuļšķiedru augšanu, aktivizējot satelītu šūnu proliferāciju un saplūšanu (*Liu et al*., 2011).

Mēs konstatējām IGF-1 un IGF-1R pozitīvās šūnas praktiski visos embrija orgānos, kurus ieguvām pēc spontānas fizioloģiskas grūtniecības pārtraukšanas. IGF-1 un IGF-1R bija atrodama embrija respiratorajā un gremošanas sistēmā, nierēs un ādas epitēlijā, endotēlijā un nervu šķiedrās. IGF-1 un IGF-1R pozitīvās šūnas pērekļveidīgi lokalizējās embrija aknās, sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un pārkaulošanās centros, spinālajos ganglijos.

Brogiolo uzskata, ka IGF-1 iedarbība uz mērķa šūnām ir izšķiroša embrija augšanai un attīstībai (*Brogiolo et al*., 2001). Šī mijiedarbība starp faktoru un receptoru ir evolucionāra regulatora sistēma, kas sāk darboties ļoti agrīni un nosaka embrija izdzīvošanu. Mūsu dati par IGF-1 un IGF-1R atradni 5−12 gestācijas nedēļu veciem embrijiem arī liecina par faktora un receptora nozīmi organoģenēzē. Tas sakrīt ar citu autoru datiem (*Schlueter et al*., 2007; *Le Rotin*, 2008).

Matsumoto pierādīja HGF nozīmi praktiski visu orgānu sistēmu reģenerācijā pieaugušo organismā (*Matsumoto et al*., 1992). Embrioģenēzes procesā mezenhimocīti producē HGF, kas kā morfogēnais faktors piedalās organoģenēzē (*Barros et al*., 1995; *Ohmichi et al*., 1998). HGF ekspresija mezodermā regulē šūnu migrāciju dermatomiosklerotomā un nosaka ķermeņa formu (*Kawashima-Ohya et al*., 2011). *Lerner* atklāja HGF nozīmi *n. oculomotorius* un *n. trochlearis* aksonu augšanā, HGF ekspresējas blakusesošajā mezenhīmā un veicina nervu šķiedru augšanu pareizajā virzienā (*Lerner et al*., 2010).

Savā pētījumā embrija audos gan epitēlijā, gan mezenhīmā, gan nervu sistēmas elementos novērojām daudz HGF pozitīvo struktūru. HGF netika konstatēts tikai topošā skeleta elementos, respektīvi, skrimšļa proliferācijas zonās, hondrocītos, pārkaulošanās centros un hordas paliekās. Mūsu atradne lieciena par HGF svarīgu nozīmi turpmākajā embrionālajā attīstībā, sākot no 5./6. embrionālās attīstības nedēļas.

4.6. Inervācija un centrālās nervu sistēmas attīstība

Sinaptofizīns ir viens no pašreiz visvairāk pētītiem sinaptiskiem proteīniem, kurš regulē sinaptiskā aparāta funkcionēšanu. Neiropeptīds ir sinapšu marķieris, kurš lokalizējas sinaptiskajos pūslīšos un presinaptiskajās zonās. Sinaptiskie pūslīši tiek sintezēti neirosomā un izplatīti cauri aksonam, līdz ar to imūnhistoķīmiski nokrāsojas gandrīz visa šūna.

Sinaptofizīns piedalās kalcija transportā, neirotransmisijā, neironu un to izaugumu augšanā. Neiropeptīds ir noteicošais faktors neirālo saikņu dibināšanā starp CNS un PNS agrīnajā embrioģenēzē (*Wiedenmann and Franke,* 1985; *Buffa et al*., 1986; *Gould et al*., 1986). Sinaptofizīna trūkums ir saistīts ar neiromuskulārā aparāta anomālijām, piemēram, anorektālas malformācijas attīstību (*Wang et al*., 2011).

Kā parādīja mūsu iepriekšējā neiropeptīdu sadales analīze (*Kukanova and Pilmane,* 2006), visagrāk embrija audos CNS un PNS parādās sinaptofozīns, kas ir saistīts ar kontaktu veidošanu starp diferencējošām nervu šūnām. Dotajā darbā mēs arī identificējām daudz sinaptofizīna pozitīvo šūnu embrija nervu sistēmā, kā arī daudz spinālajos ganglijos un atsevišķās šūnās embrija saistaudos ap asinsvadiem. Tas apstiprināja mūsu datus par sinaptoģenēzi 6.−12. embrionālās attīstības nedēļā.

Hromogranīnu nozīme prenatālajā un postnatālajā posmā joprojām ir diskutabla (*Taupenot et al*., 2003). Hromogranīni kontrolē sekretoru granulu bioģenēzi un ir atrodami visās neiroendokrīnajās šūnās (*Larsson et al*., 1992; *Tischler*, 2002; *Hendy et al*., 2006). Pieauguša cilvēka audos hromogranīni ir plaši izplatīti, bet tiem piemīt specifiska funkcija. Hromogranīnu pozitīvo šūnu izplatība praktiski sakrīt ar enkefalīnu, dinorfīnu, acetilholīna, gammaaminosviestskābes, glutamāta, aspartāta, oksitocīna un antidiurētisku hormonu saturošo šūnu izplatību pieaugušo audos (*Somogyi*, 1984). Pēdējo gadu pētījumi parādījuši, ka hromogranīni piedalās daudzu fizioloģisko un patoloģisko procesu, kā arī augsta blīvuma sekretoro granulu bioģenēzē, antimikrobā aizsardzībā, tos novēro neirodeģeneratīvo un sirds un asinsvadu slimību gadījumos. Hromogranīni tiek lietoti klīniskajā praksē feohromocitomas, insulinomas, gastrinomas un paragangliomas diagnostikā (*Kim and Loh*, 2005).

Piedāvāti dzīvnieku (cālis, govs, žurka) modeļi, kuras raksturo hromogranīnu izplatību embrija audos. Šos prohormonus sastop virsnieres serdē, gremošanas sistēmā un aizkuņģa dziedzerī – audos, kuros ir bagātīgi izplatītas neiroendokrīnās šūnas (*Kent and Coupland*, 1989; *Mahata et al.,* 1993; *Totzauer et. al*., 1995; *Kameda et al*., 1998).

Mūsu pētījumā 5−12 nedēļu veciem cilvēka embrijiem hromogranīnu A un B saturošas granulas tika novērotas embrija ganglionāro šūnu citoplazmā, pārsvarā spinālajos ganglijos. Mēs uzskatām, ka šī atradne liecina par citu neiropeptīdu (sinaptofizīns) sintēzi gangliocītos.

GFAP ir 8−9nm garš starpdiedziņu filaments, kuru atrod pieaugušo astrocītos visā CNS. Tā kā GFAP ir citoskeletu veidojoša olbaltumviela, pastāv uzskats, ka tas regulē astrocītu kustības un formu, kā arī nodrošina to izaugumu stabilitāti. Embrioģenēzē GFAP regulē neiroglijas diferenciāciju un migrāciju, bet postnatālajā periodā ir astrocītu marķieris. Šo GFAP īpašību izmanto audzēju diagnostikā (*Royds,* 1986; *McLendon,* 1994; *Gomes et al*., 1999). GFAP ekspresējošas šūnas var būt astrocīti un radiālā glija, kuru agrāk uzskatīja par neiroglijas priekšteci (*Levitt and Rakic,* 1980; *Choi*, 1981), bet tagad ir noskaidrots, ka radiālā glija nav nekas cits kā mazdiferencētie neironi (*Malatesta et al*., 2000; *Hartfuss et al*., 2001; *Miyata et al*., 2001; *Noctor et al*., 2002). *Yin* pierādīja, ka cūkas embrija *prosencephalon* šūnas, kas ir nervaudu šūnu priekšteči, ekspresē gan nestīnu un neironu specifisku enolāzi, gan GFAP. Šīs embrionālās šūnas *in vitro* EGF un bFGF bagātinātā barotnē spēj diferencēties nobriedušos neironos un GFAP pozitīvos astrocītos (*Yin et al*., 2011). Neironi, neiroglija un ependimas glija attīstās no kopīgas priekšteču šūnas, kurai raksturīga GFAP ekspresija (*Morest and Silver*, 2003; *McDermott et al*., 2005).

Mēs konstatējām, ka GFAP pozitīvās šūnas lokalizējas spinālajos ganglijos un nervu caurulītes ependimālajā un apmetņa slānī. Topošo muguras smadzeņu atsevišķie motorie neironi bija GFAP pozitīvi. Nervu šķiedras un endoteliocīti arī demonstrēja GFAP imūnreaktivitāti. Visdrīzāk šīs GFAP pozitīvās šūnas, kuras lokalizējas nervu caurulītes ependimālajā un apmetņa slānī, uzrāda GFAP iesaistīšanu nervu šūnu diferenciācijā, migrācijā un reģionalizācijā.

4.7. Citokeratīni 5 un 13 embrija audos

Citokeratīni ir epiteliālo šūnu starpdiedziņu filamenti − pieaugušo organismam audu specifiski, bet to izplatība cilvēka embrija audos ir maz pētīta.

CK 5 un skābais CK 14 kopā atrodami daudzkārtaino plakano epitēliju bazālajā slānī (*Lersch and Fuchs,* 1988; *Casatorres et al*., 1994). Šīs šūnas ir virsējo slāņu

priekšteču šūnas, respektīvi, mazdiferencētie keratinocīti (*Byrne et al*., 1994; *Fuchs*, 2007).

Hosoja piedāvā lietot dažādus citokeratīnus epitēliju diferenciācijas pakapes noteikšanai, kā arī ektodermas un endodermas saplūšanas vietu identificēšanai. Autors novērojis, ka 9,5 dienu veciem peles embrijiem CK 5 ir atrodams visa orofaringeālā rajona epitēlijā. Vēlāk 12,5 dienu veciem peles embrijiem CK 5 centrālajā daļā pazūd, bet saglabājas priekšējā un mugurējā reģionā. Entodermālie marķieri *Sox*17 un AFP sadalījās mutes dobuma centrālajā un mugurējā, nevis priekšējas daļas gļotādā. Anorektālajā rajonā aina bija līdzīga (*Hosoja et al*., 2010). Interesanti, ka *Liang* parādīja CK 5 ekspresiju īpašos inducējamos apstākļos dažādu epiteliālo orgānu bazālajās šūnās (cilmes, priekšteču un šūnas diferenciācijas starpposmā): timā, trahejā, prostatā un piena dziedzerī (*Liang et al*., 2009).

CK 13 uzskata par nepārragota epitēlija marķieri (*Gao and Mackenzie*, 1992), bet ir zināms, ka tā nav vienīgā CK 13 funkcija. *Olson* konstatēja, ka cilvēka endometrija epitelija luminālās šūnas sekretorajā fāzē un truša endometrija epitelija luminālās šūnas periimplantācijas fāzē ekspresē CK 13 (*Olson et al*., 2002).

Mūsu analizētajos preparātos embrija daudzkārtainie epitēliji ekspresēja CK 5 un CK 13. Visos ādas epitēlija slāņos tika konstatēts liels daudzums CK 5 un CK 13 pozitīvu šūnu. Tas varētu nozīmēt, ka CK 5 un CK 13 var būt nenobriedušo keratinocītu un daudzkārtaino epiteliocītu marķieri vai, iespējams, CK 5 un CK 13 ekspresija ir raksturīga visiem mazdiferencētiem epiteliocītiem. Līdz ar to tradicionālos uzskatus par CK audu specifiskumu nevar pilnībā apstiprināt.

4.8. Mezenhīmu ietekmējošo gēnu ekspresija embrija audos

BARX saimes gēni kodē transkripcijas faktorus, kas inducē mezenhimocītu kondensāciju, modulējot šūnu adhēzijas molekulu un II tipa kolagēna sintēzi (*Edelman et al*., 2000; *Meech et al*., 2005). BARX1 gēns regulē kraniofaciālās ektomezenhīmas, kuņģa un kaula attīstību (*Tissier-Seta et al*., 1995; *Tucker et al*., 1998). BARX1 mutācijas cilvēkam ir saistītas ar kraniofaciālām un locītavu anomālijām (*Redon et al*., 2006). BARX1 ekspresija ir atrodama lūpas un aukslējas šķeltnes audos (*Krivicka-Uzkurele et al.*, 2008).

BARX1gēna produkts bagātīgi sadalījās sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un skrimšļa proliferācijas zonās. Embrija epitēliji, asinsvadu sienas šūnas, muskuļškiedras un nervu šķiedras bija BARX1 pozitīvās. Neliels skaits BARX pozitīvo šūnu lokalizējās ekstraembrionālajā mezodermā. Serozie apvalki, t.i., pleira un perikards, arī saturēja BARX1 pozitīvās šūnas. Daudz BARX pozitīvo šūnu tika konstatēts miokardā. BARX1 atrodams muguras smadzeņu motorajos neironos un pseidounipolārajos spinālā ganglija neironos. Tas liecina par gēna nozīmi splanhniskas mezodermas un arī CNS attīstībā cilvēka embrioģenēzē (*Jones et al*., 1997; *Guy et al*., 2004).

Msx2 gēns kodē DNS saistošo proteīnu, kas modulē transkripcijas aktivitāti (*Takahashi et al*., 1996) un veicina šūnu augšanu (*Davidson*, 1995). Mēs novērojām Msx2 gēna produktu dažādos mezodermālas izcelsmes orgānos: plaušās, sirdī, sklerogēnajā mezenhīmā, muskuļškiedrās, asinsvadu sienā, serozajos apvalkos. Vidēji daudz Msx2 pozitīvu šūnu lokalizējas ekstraembrionālajā mezodermā. Msx2 atrasts hialīna skrimšļa hondrocītu kodolos un proliferācijas zonas šūnās, perihondrā un pārkaulošanās centros. Ir zināms, ka kaulu hialīna skrimšļa modelis pārcieš masīvu apoptozi, kas sasniedz maksimumu Karnegi 22/23 stadijā (*Bloom and Fawcett,* 1986; *Vilovic et al*., 2001; *Cheung et al*., 2003; *Gibson et al*., 2005). Mēs konstatējām Msx2 hipertrofiskajos hondrocītos pārkaulošanās centros. Tas var būt saistīts ar Msx2 līdzdalību ne tikai šūnu mitoģenēzē un augšanā, bet arī balstaudu šūnu programmētās nāves regulācijā.

Embrija mutes dobuma, mēles un siekalu dziedzeru epitēliji, kuri ir ektodermālās izcelsmes epitēliji, arī uzrādīja Msx2 pozitīvās šūnas. Tas ir izskaidrojams ar faktu, ka ektodermas derivātu attīstībai ir nepieciešama zemāk esošas mezenhīmas indukcija, bet Msx2 nodrošina šo indukciju. Arī citi autori uzskata Msx2 par epiteliālas–mezenhimālas inducējošas mijiedarbības regulētāju, atrod to gan transkripcijas, gan gēna produktu siekalu dziedzeros (*Jaskoll et al*., 1998).

BARX1 un Msx2 gēnu produkti ir transkripcijas faktori, kuriem ir integratīva nozīme embrija audos. Tie nodrošina ne tikai mezenhimālo orgānu attīstību, bet arī regulē ektodermālas izcelsmes šūnu diferenciāciju, jo padara iespējamu molekulāru mijiedarbību starp dīgļlapām (*Kukanova and Pilmane,* 2007).

4.9. Programmētā šūnu nāve embrija audos

1967. gadā *Potts* un *Wilson* konstatēja mirušas šūnas zīdītāju blastocistā (*Potts and Wilson*, 1967), bet vēlāk tika noskaidrots, ka šīs šūnas skārusi apoptoze – programmētā šūnu nāve (*Kerr et al*., 1972). Embrioģenēzē apoptoze nodrošina šūnu populācijas un diferenciācijas līniju regulāciju. Apoptotisko šūnu noteikšanai cilvēka blastocistas un embrija audos zinātnieki piedāvā izmantot *TUNEL* metodi (*Gavreli et al*., 1992; *Byrne et al*., 1999). *Byrne* identificēja apoptotiskās šūnas no 9 līdz 12 šūnu peles embrijiem. Tomēr dati par apoptozi embrioģenēzē ir pretrunīgi, jo citi autori apgalvo, ka apoptotiskas šūnas neatrod 8 šūnu peles embrijiem un arī morulai (*Handyside and Hunter*, 1986; *Brison and Schultz*, 1997). Juriscova pierādīja, ka nekvalitatīvie cilvēka embriji ar blastomeru fragmentāciju aiziet bojā apoptozes ceļā (*Jurisicova et al*., 1996). Blastocistas stadijā apoptotisko šūnu daudzums īpaši palielinās sāk iekšējā šūnu masā un turpmākajā embrija attīstībā (*Byrne et al*., 1999; *Hardy*, 1997).

Mūsu darba rezultāti parāda, ka apoptotiskās šūnas plaši atrodamas 5−12 nedēļu veciem cilvēka embrijiem. Ar *TUNEL* metodi tika identificētas DNS daļiņas praktiski visos embrija audos. Apoptotiskais indekss ādā, nierēs, gremošanas traktā un respiratorajā epitēlijā bija 78%. Vidējs apoptotisko šūnu daudzums tika konstatēts embrija aknās un iekšējo orgānu mezenhīmā, CNS apvalkos, perihondrā un pārkaulošanās centros. *TUNEL* reakcija netika novērota skrimšļa proliferācijas zonā un hialīnā skrimšļa hondrocītos. Ekstraembrionālā mezenhīmā un amnija epitēlijā tika konstatēts vidējs daudzums apoptotisko šūnu.

Mēs nevaram apgalvot, ka šāda plaša šūnu apoptoze ir atrodama *in vivo* un nav saistīta ar pašu grūtniecības pārtraukšanas manipulācijas ietekmi uz embrija šūnām. Iespējams, ka plašā apoptoze ir saistīta ar embrija genoma aktivāciju un aktīvu audu attīstību, augšanu un diferenciāciju. *Hardy* uzskata, kā apoptoze agrīnajā embrioģenēzē ir fizioloģiski histoģenētisks process (*Hardy*, 1997). Aktīvajā organoģenēzes posmā, t.i., grūtniecības pirmā trimestra laikā, embrija šūnas diferencējas un zaudē savu potenci. Iespējams, kā apoptoze embrioģenēzē ir fizioloģisks process, kas risinās paralēli šūnu diferenciācijai un norobežo mazdiferencēto šūnu izplatību un skaitu audos līdz ģenētiski determinētajam.

Programmētās šūnu nāves izpildītājas − proteāzes kaspāzes 6 relatīvais daudzums sakrita ar *TUNEL* metodē noteikto apoptotisko šūnu relatīvo daudzumu

embriju audos. Embrija epitēlijos tika konstatēta kaspāzes 6 imūnreaktivitāte ādā, plaušās, nierēs un gremošanas traktā. Sklerogēnajā mezenhīmā, kā arī embrionālo iekšējo orgānu saistaudos un perihondrā tika atrasts vidējs vai liels daudzums kaspāzes 6 pozitīvo šūnu.

Blastocista ekspresē kaspāzes saimes gēnus (*Juriscova et al*., 1998), bet žurkas blastocista − kaspāzi 6, kuras ekspresija palielinās hiperglikēmijas apstākļos (*Hinck et al*., 2003). Mūsu dati liecina par programmētās šūnu nāves piedalīšanos embrionālajā attīstībā – implantācijā un organoģenezē. Tā tiek realizēta, aktivizējot kaspāzi 6.

4.10. Antimikrobās aizsardzības olbaltumvielas embrija audos

Antimikrobā aizsardzības olbaltumvielas pasargā ne tikai māti, bet arī augli. To realizē cilvēka defensīni − antimikrobo olbaltumvielu grupa. *Vento* konstatēja, ka defensīni atrodami neiznēsāto jaundzimušo bronhiālajā šķidrumā, un secināja, ka iedzimta antimikrobās aizsardzības sistēma darbojas, pirms auglis ir nobriedis postnatālajai dzīvei (*Vento et al*., 2010). Cilvēka defensīna beta 2 nozīmi apliecina arī fakts, ka olbaltumvielas koncentrācijas pieaugums augļa ūdeņos ir saistīts ar priekšlaicīgu augļa apvalku plīsumu (*Iavazzo et al*., 2010).

Mūsu pētījumā tika konstatēta plaši izplatīta un bagātīga cilvēka defensīna beta 2 klātbūtne embrija audos. Antimikrobā olbaltumviela intensīvi nokrāsoja embrija ādas, respiratorās sistēmas gremošanas trakta un nieru epitēlija šūnas. Embrija aknās ap centrālajām vēnām novērots vidējs daudzums perēkļveidīgi lokalizētu cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu. Vidējs daudzums pozitīvo šūnu tika atrasts arī sklerogēna mezenhīmā, perihondrā un atsevišķu šūnas orgānu stromā. Ekstraembrionālā mezenhīma arī ekspresēja šo antimikrobo olbaltumvielu. Mēs uzskatām, ka iedzimtas antimikrobās aizsardzības mehānisms sāk darboties agrīni un jau 5./6. gestācijas nedēļā nodrošina embrija antibakteriālo aizsardzību.

Diskusijas sadaļas nobeigumā jāpieņem, ka, analizējot no 5./6. līdz 12. gestācijas nedēļai vecus cilvēka embrijus, kam vardarbīgi pārtrauca turpmāko attīstību, nevar kopumā izdarīt secinājumus par fizioloģiskiem procesiem, kas notiek *in vivo*. Par cik šajā embrionālās attīstības periodā notiek visu orgānu aizmetņu aktīva attīstība, mūsu atradnes var iekļaut cilvēka organoģenēzes raksturošanā. Lai rastu pilnu priekšstatu par augšanas faktoru un gēnu piedalīšanos prenatālajā cilvēka attīstības stadijā,

nepieciešams paplašināt embriju un gestācijas laiku atlasi, salīdzināt rezultātus ar izmaiņām fetālajā periodā. Ētisku un morālu apsvērumu dēļ tāds pētījums fizioloģiskajos apstākļos veseliem cilvēka embrijiem gan *in vivo*, gan *in vitro* nav iespējams.

Reproduktīvas fizioloģijas un morfopatoģenezes procesi veido vienu no aktuālākajiem pētnieciskajiem virziniem mūsdienu medicīnas zinātnē. Viens no svarīgākiem sasniegumiem reproduktoloģija bija *IVF* procedūras ieviešana. *Robert G. Edwards* 20.gs. 50. gadu sakumā izvirzīja ideju, ka *IVF* procedūra var palīdzēt atrisināt neauglības problēmu. Pagāja vairāk nekā 25 gadi, līdz 1978. gada 25. jūlijā pirmais „mēģenes" bērns paskatījas uz mūsu pasauli. Par šo sasniegumu 2010. gadā *Robert G. Edwards* saņēma Nobela prēmiju fizioloģijā un medicīnā. Joprojām tikai 25−30% no apaugļotām olšūnām attīstās līdz dzīvi dzimušajam jaundzimušam (*Macklon et al.,* 2002). Ir vajadzīgi turpmāki pētījumi, lai noteiktu augšanas faktoru un gēnu līdzdalību cilvēka blastocistas implantācijas procesā un embrioģenēzes morfopatoloģijā.

SECINĀJUMI

1. Olvada grūtniecības gadījumā blastocistas implantācijas vietā statistiski ticami trūkst IGF-1R (bet ne IGF-1), tas liecina par sievietes organismā noritošu kompensatorās adaptācijas mehānismu, kas, norobežo patoloģisku procesu.
2. Gan spontānas fizioloģiskas, gan olvada grūtniecības gadījumā audos FGFR1 statistiski ticami dominē pār bFGF, iespējams, tas ir saistīts ar blastocistas inducētu audu remodelēšanu implantācijas vietā.
3. TGF beta 1 nav atrodams, bet FGFR1, bFGF, NGF, NGFRp75 PGP 9.5, HGF, cilvēka defensīns beta 2, MMP 9 un MMP 2 ir plaši izplatīti olvada audos ektopiskas grūtniecības gadījumā un piedalās ektopiskas grūtniecības morfopatoģenezē.
4. TGF beta 1, IGF-1, IGF-1R, bFGF, FGFR1, NGF, NGFRp75, HGF, PGP 9.5 ir plaši izplatīti endometrija audos grūtniecības gadījumā un piedalās embrija implantācijas procesā.
5. TGF beta 1, IGF-1, IGF-1R, bFGF, FGFR1, NGF, NGFRp75, HGF, PGP 9.5 ir plaši izplatīti embrija audos no 5./6. līdz 12. embrionālās attīstības nedēļai un piedalās organoģenēzē.
6. Apoptoze ir plaši izplatīta gan ektopiskās un fizioloģiskās implantācijas vietā, gan embrija audos 5./6.−12. embrionālās attīstības nedēļā un ir saistīta ar aktīvu audu remodelēšanu.
7. Cilvēka defensīna beta 2 antimikrobās aizsardzība realizējas jau embrija organoģenēzes stadijā 5./6. −12. embrionālās attīstības nedēļā.
8. BARX1 un Msx2 gēnu produkti ir plaši izplatīti embrija audos no 5./6. līdz 12. embrionālās attīstības nedēļai. Iespējams, tie nodrošina ne tikai mezenhimālo orgānu attīstību, bet arī regulē ektodermālas izcelsmes šūnu diferenciāciju.
9. GFAP ir mazdiferencēto nervu šūnu, gan glijas, gan neironu marķieris, sinaptofizīns nodrošina CNS kontaktu veidošanu, bet hromogranīns A un B ir saistīts ar citu neiropeptīdu (sinaptofizīns u.c.) veidošanās sākumu cilvēka dīglim 5./6.−12. embrionālās attīstības nedēļā.
10. Embrija daudzkārtainie epitēliji ekspresē CK 5 un CK 13 jau no 5./6. embrionālās attīstības nedēļas, liecinot par agrīnu epitēlijaudu fenotipēšanu.

DARBA NOVITĀTE

1. Pirmo reizi ir veikta 5./6.–12. gestācijas nedēļu spontānas fizioloģiskas grūtniecības endometrija un embrija audu ekspresēto augšanas faktoru, to receptoru un mezemhīmu ietekmējošo gēnu imūnhistoķīmiskā, kā arī apoptozes analīze.
2. Pirmo reizi ir veikta olvada audu ekspresēto augšanas faktoru un to receptoru imūnhistoķīmiskā, kā arī apoptozes analīze ektopiskas grūtniecības gadījumā.
3. Ir pierādīta IGF-1, IGF-1R, FGFR1, bFGF, NGF, NGFRp75, PGP 9.5, HGF, cilvēka defensīna beta 2, MMP 9 un MMP 2 nozīmē olvada grūtniecības gadījumā.
4. Pirmo reizi parādīta cilvēka defensīna beta 2 un HGF sadale cilvēka embrija audos 5./6.−12. embrionālās attīstības nedēļā.

PUBLIKĀCIJAS UN PREZENTĀCIJAS PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Publikācijas - raksti

1. *Kukanova A., Pilmane M.* Distribution of Neuropeptides in Human Embryonic Central Nervous System. RSU zinātniskie raksti, 2006; 302 – 304
2. *Kukanova A., Pilmane M.* Distribution of Some Growth Factors and Appearance of Some Genes in Different Tissues of Human Embryo. RSU Collection of Scientific Papers, 2007; 21 – 24
3. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Occurrence of growth factors and their receptors in tubal pregnancy – affected tissue. Proceedings of the Latvian Academy of Sciences, 2010; 64 (4): 20 – 30
4. *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Augšanas faktoru un antimikrobās olbaltumvielu sadalījums dzemdes un olvada grūtniecības gadījumā. RSU zinātnisko rakstu krājums, 2010; 183−190
5. *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Immunohistochemical distribution of IGF-1, bFGF and their receptors in decidual, embryonic and tubal human pregnancy tissue. In: Papers on Anthropology 2011, (20); 272−288

Publikācijas – tēzes Latvijā

1. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D* Distribution of some Growth Factors and Genes in Different Tissue if Hyman Embryo. Rīgas Stradiņa Universitātes 6. zinātniskās konferences tēzes, 29.-30. marts, 2007: 71
2. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Distribution of some Growth Factors and Genes in Different Tissue if Hyman Embryo. The abstract book of Baltic Morphology V, 19-20 November, Riga, Latvia, 2007: 43
3. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Augšanas faktori un apoptoze olvada grūtniecības gadījumā". Rīgas Stradiņa Universitātes 7. zinātniskās konferences tēzes, 13.-14. marts, 2008: 60

4. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D*. Augšanas faktori olvada grūtniecības gadījumā. The abstract book of Baltic International Conference in Obstetrics and Gynecology and 5th Congress of Latvian Obstetricians and Gynecologists, 10-11 October, Riga, Latvia, 2008: 17. The best poster presentation award.
5. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D*. Cilvēka defensīna beta 2 sadalījums olvadu audos ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā. Rīgas Stradiņa Universitātes 8. zinātniskās konferences tēzes, 2.-3. aprilis, 2009: 71
6. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D*. Insulin like growth factor 1 and its receptor appearance in pregnancy associated tissue. 6. Latvijas Ārstu kongresa tēzes, 19.-21. jūnijs, 2009: 46
7. *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D*. IGF-1, bFGF, TGF beta 1 and their receptors in different cases of embryo implantation. Rīgas Stradiņa Universitātes 9. zinātniskās konferences tēzes, 18.-19. marts, 2010: 77
8. *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D*. FGFR1 un bFGF sadalījums cilvēka embrija un grūtniecības audos. Rīgas Stradiņa Universitātes 10. zinātniskās konferences tēzes, 14.-15. aprilis, 2011: 74
9. *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D*. NGF and NGFRp75 appearance in embryo tubal and uterine implantation. The abstract book of 6th Congress of Latvian Obstetricians and Gynecologists and the 4th RCOG Eurovision Conference, 13.-15. October, Riga, Latvia, 2011: 85

Publikācijas – tēzes ārzemes

1 *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Факторы роста TGF beta 1, NGF, bFGF, IGF-1 и их рецепторы в случае трубной беременности. Проблемы репродукции, 2009; 241 – 242

2 *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Human defensine beta 2 distribution in pregnancy associated tissue. The abstract book of Baltic Morphology V, 27-28 August, Kaunas Lithuania, 2009: 10

3 *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D*. Distribution of growth factors and their receptors in tubal pregnancy affected tissue. Journal of Perinatal Medicine, 2009; 37: 806-807

4 *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* NGF, NGFRp75 and PGP9.5 immunoreactivity in tubal pregnancy tissue. Early Pregnancy Winter Course. Early pregnancy standarts, protocols and guidelines, 10-11 december, Rotterdam, Netherland, 2010; 239-240

5 *Kukanova A., Pilmane M., Rezeberga D.* IGF-1 appearance in embryo tubal and uterine implantation. The abstract book of 6th International Conference on the Female Reproductive Tract, 20-23 May, Frauenchiemsee, Germany 2011: 13

6 *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D*. FGFR1 and bFGF appearance in human embryo and pregnancy tissue. Human Reproduction, 2011; 26 (1): i214

7 *Miskova A., Pilmane M., Rezeberga D.* Immunohistochemical distribution of IGF-1, bFGF and their receptors in decidual, embryonic and tubal human pregnancy tissue. The abstract book of Baltic Morphology VI, 22-23 September Tartu, Estonia, 2011: 73

Prezentācijas par pētījuma tēmu Latvijā

1. 2007. gads 30. marts – stendareferāts RSU 6. zinātniskā konference „*Distribution of some Growth Factors and Genes in Different Tissue if Hyman Embryo*"
2. 2007. gada 13. jūnijs – diploms par II. vietu RSU XX Rezidentu zinātniski praktiskajā konferencē „Aktualitātes medicīnā" ar darbu „*Distribution of Neuropeptides in Human Embryonic Central Nervous System*".
3. 2007. gada 19.–20. novembris – stenda referāts *Baltic Morphology 4th Scientific conference* „*Distribution of some Growth Factors and Genes in Different Tissue if Hyman Embryo*". Rīga, Latvija.
4. 2008. gada 13. marts – stenda referāts Rīgas Stradiņa Universitātes 7. zinātniskajā konferencē „Augšanas faktori un apoptoze olvada grūtniecības gadījumā".
5. 2008. gada 11. oktobris – 1. vieta *Baltic International Conference in Obstetrics and Gynecology and 5th Congress of Latvian Obstetricians and Gynecologists* par stenda referātu „Augšanas faktori olvada grūtniecības gadījumā". Rīga, Latvija.
6. 2009. gada 2.–3. aprīlis – mutiskā uzstāšanās Rīgas Stradiņa Universitātes 8. zinātniskajā konferencē „Cilvēka defensīna beta 2 sadalījums olvadu audos ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā".

7. 2009. gada 19.–21. jūnijs – stenda referāts 6. Latvijas Ārstu kongresā „*Insulin like growth factor 1 and its receptor appearance in pregnancy associated tissue*”.
8. 2010. gada 18.–19. marts – mutiskā uzstāšanas ar darbu „*IGF-1, bfgf, TGF beta 1 and their receptors in different cases of embryo implantation”* Rīgas Stradiņa Universitātes 9. zinātniskajā konferencē .
9. 2010. gada 9. jūnijā – II godalgota vieta rezidentu XIII zinātniski – praktiskajā konferencē un konkursā ar darbu „Augšanas faktoru un antimikrobu olbaltumvielu sadalījums dzemdes un olvada grūtniecības gadījumā**”.**
10. 2011. gada 14.–15. aprīlis – mutiskā uzstāšanās Rīgas Stradiņa Universitātes 10. zinātniskajā konferencē ar darbu „FGFR1 un bFGF sadalījums cilvēka embrija un grūtniecības audos”.
11. 2011. gada 14.–15. oktobris – stenda referāts „*NGF and NGFRp75 appearance in embryo tubal and uterine implantation*” uz *6th Congress of Latvian Obstetricians and Gynecologists and the 4th RCOG Eurovision Conference*. Rīga, Latvija.

Prezentācijas par pētījuma tēmu ārzemēs

1. 2009. gada 19. –22. janvāris – mutiskā uzstāšanās ar darbu „*TGF beta 1, NGF, bFGF, IGF-1 and their receptors in patients with tubal pregnancy*” uz *Third International Congress on Reproductive Medicine* Maskavā, Krievijā.
2. 2009. gada 27.–28. augusts – mutiskā uzstāšanās ar darbu „*Human defensine beta 2 distribution in pregnancy associated tissue*” uz *The 5th biannual Scientific Conference* „Baltic Morphology 2009”. Kauņā, Lietuvā.
3. 2009. gada 24.–28. oktobris – stenda referāts “*Distribution of growth factors and their receptors in tubal pregnancy affected tissue*” uz *9th World Congress of Perinatal Medicine* Berlīnē, Vācijā.
4. 2009. gada 10.–11. decembris – mutiskā uzstāšanās ar darbu ”*NGF, NGFR75 and PGP 9.5 immunoreactivity in tubal pregnancy tissue*” uz *ESHRE Campus Symposium Early Pregnancy Winter Course* Roterdamā, Nīderlandē.
5. 2011. gada 20.–23. maijs – stenda referāts „*IGF-1 appearance in embryo tubal and uterine implantation*” uz *6th International Conference on the Female Reproductive Tract* Frauenčiemzē,Vācijā.

6. 2011. gada 3.–6. jūlijs – stenda referāts *„FGFR1 and bfgf appearance in human embryo and pregnancy tissue*" uz *The 27th Annual Meeting of EHSRE* Stokholmā, Zviedrijā.
7. 2011. gada 20.–24. septembris – stenda referāts „*Immunohistochemical distribution of IGF-1, bFGF and their receptors in decidual, embryonic and tubal human pregnancy tissue*" uz *Conferences Baltic Morphology VI* Tartu, Igaunījā.

PATEICĪBAS

- Izsaku sirsnīgo pateicību mana darba vadītājai *Dr. med., Dr. habil. med.,* profesorei Mārai Pilmanei par darba vadīšanu, pacietību, ieteikumiem un atbalstu jebkurā laikā.
- Izsaku pateicību mana darba vadītājai *Dr. med*. asociētai profesorei Dacei Rezebergai par palīdzību un atbalstu darbā.
- Pateicos darba recenzentiem *Dr. med.,* asociētai profesorei Ilzei Štrumfai, RSU; *Dr. vet. med.,* asociētai profesorei Ilzei Matīsei-Van Houtanai, LLU VMF; *Dr. med.,* Kristiina Rull, Tartu universitāte (Igaunīja)
- Paldies AAI Morfoloģijas laboratorijas laborantei Natālijai Morozai par praktisko palīdzību reakciju veikšanā.
- Liels paldies maniem kolēģiem par atbalstu un ieteikumiem.
- Sirsnīgs paldies manai jaukai ģimenei par pacietību, atbalstu un doto man iespēju mierīgi strādāt ar promocijas darbu.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Al-Alzemi M., Refaat B., Alpin J., Ledger W. The expression of MUC 1 in human fallopian tube during menstrual cycle and in ectopic pregnancy. Hum Reprod, 2009; 24: 2582 - 2587
2. Altman D.G.Statistics with confidence. London, BMJ, 2000
3. Alut K.A., Statland B.D., King M.M., Dozier D.I., Joachims M.L., Gunter J. Antibodies to the chlamydial 60 kilodalton heat shock protein in women with tubal factor infertility. Infect Dis Obstet Gynecol, 1998; 6: 163 - 67
4. Anton E.S., Weskamp G., Reichardt L.F., Matthew W.D. Nerve growth factor and its low affinity receptor promote Schwann cell migration. Proc Natl Acad Sci, 1994; 91 (7): 2795 - 2799
5. Arbab F., Goldsby J., Matijevic-Aleksic N., Huang G., Ruan K.H., Huang J.C. Prostacyclin is an autocrine regulator in the contraction of oviductal smooth muscle. Hum Reprod, 2002; 17 (12): 3053 - 9
6. Arganaraz M.E., Apichela S.A., Miceli D.C. LEFTY2 expression and localization in rat oviduct during early pregnancy. Zygote, 2010; 21: 1-8
7. Assisi L, Raucci F, Di Fiore MM. Seasonal study of apoptotic markers in lizard oviduct. J Exp Zool A Ecol Genet Physiol. 2011; 315 (5): 291 – 301
8. Atchley W.R., Hall B.K. A model for development and evolution of complex morphological structures. Biol Rev Camb Philos Soc, 1991; 66 (2): 101 – 57
9. Attar E. Endocrinology of ectopic pregnancy. Obstet Gynecol Cli North Am, 2004; 31 (4): 779 – 794
10. Bagot C.N., Troy P.J., Taylor H.S. Alteration of maternal Hoxa10 expression by in vivo gene transfection affects implantation. Gene Ther, 2000; 7 (16): 1378 - 84
11. Baker J., Hardy M.P., Zhou J. Effects of an Igf1 gene null mutation on mouse reproduction. Mol Endocrinol, 1996; 10 (7): 903 - 18
12. Bakken I.J. Chlamydia trachomatis and ectopic pregnancy: recent epidemiological findings. Curr Opin Infect Dis, 2008; 21 (1): 77 - 82
13. Bandtlow C., Dechant G. From cell death to neuronal regeneration, effects of the p75 neurotrophin receptor depend on interactions with partner subunits. Sci STKE, 2004; 2004 (235): 24 - 25
14. Barros E.J., Santos O.F., Matsumoto K., Nakamura T., Nigam S.K. Differential tubulogenic and branching morphogenetic activities of growth factors: implications for epithelial tissue development. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995; 92 (10): 4412 - 6

15. Baxter R.C., Martin J.L., Tyler M.I., Howden M.E. Growth hormone-dependent insulin-like growth factor (IGF) binding protein from human plasma differs from 0ther human IGF binding proteins. Biochem Biophys Res Commun, 1986; 139 (3): 1256 - 61
16. Bazer F.W., Geisert R.D., Zavy M.T. Fertilization, cleavage, and implantation. In: Reproduction in farm animals. Hafez ESE5 th ed., Philadelphia, Lea and Febiger, 1987, 210 – 228
17. Beceriklisoy H.B., Schäfer-Somi S., Kücükaslan I., Agaoglu R., Gültiken N., Ay S.S. Cytokines, growth factors and prostaglandin synthesis in the uterus of pregnant and non-pregnant bitches: the features of placental sites. Reprod Domest Anim, 2009; 44 2: 115 - 9
18. Beceriklisoy H.B., Walter I., Schäfer-Somi S., Miller I., Kanca H., Izgür H., Aslan S. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 activity in the canine uterus before and during placentation. Reprod Domest Anim, 2007; 42 (6): 654-9
19. Bell G.I., Gerhard D.S., Fong N.M., Sanchez-Pescador R., Rall L.B.. Isolation of the human insulin-like growth factor genes: insulin-like growth factor II and insulin genes are contiguous. Proc Natl Acad Sci U S A, 1985; 82 (19): 6450 - 4
20. Bensoussan-Trigano V., Lallemand Y., Saint Cloment C., Robert B. Msx1 and Msx2 in limb mesenchyme modulate digit number and identity. Dev Dyn. 2011; 240 (5): 1190 - 202
21. Betts D.H., King W.A Genetic regulation of embryo death and senescence. Theriogenology. 2001; 55: 171 – 191
22. Bishof P., Campana A. Molecular mediators of implantation. Bailere`s Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2000; 14 (5): 801 - 814
23. Bjartling C., Osser S., Persson K. Deoxyribonucleic acid of Chlamydia trachomatis in fresh tissue from the Fallopian tubes of patients with ectopic pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2007; 134 (1): 95 - 100
24. Bloom W., Fawecett D.W. A Textbook of Histology. 11th ed., W.B. Sawnders company, 1986; 212 - 221
25. Bonniaud P., Margetts P.J., Kolb M., Schroeder J.A., Kapoun A.M., Damm D., Murphy A., Chakravarty S., Dugar S., Higgins L., Protter A.A., Gauldie J. Progressive transforming growth factor beta1-induced lung fibrosis is blocked by an orally active ALK5 kinase inhibitor. Am J Respir Crit Care Med, 2005;171 (8): 889 – 98
26. Bose C.K. Neurotrophin in obstetrics and gynaecology. J Stem Cells, 2009; 4 (4): 217 – 27
27. Botchkarev V.A., Botchkareva N.V., Peters E.M., Paus R. Epithelial growth control by neurotrophins: leads and lessons from the hair follicle. Prog Brain Res, 2004; 146: 493 – 513
28. Bouche G., Gas N., Prats H., Baldin V., Tauber J.P., Teissie J., Amalric F: Basic fibroblast growth factor enters the nucleolus and stimulates the transcription of ribosomal genes in ABAE cells undergoing G0-G1 transition. Proc Natl Acad Sci, 1987; 84 (19): 6770 - 6774

29. Bouyer J., Coste J., Shojaei T., Pouly J.L., Fernandez H., Gerbaud L., Job-Spira N. Risk factors for ectopic pregnancy: a comprehensive analysis based on a large case–control, population-based study in France. Am J Epidemiol, 2003; 157: 185 – 194
30. Brison D.R., Schultz R.M. Apoptosis during mouse blastocyst formation: evidence for a role for survival factors including TGF- alpha. Biol Reprod, 1997; 56: 1088 – 1096
31. Brodie C., Gelfand E.W. Functional nerve growth factor receptors on human B lymphocytes. Interaction with IL-2. J Immunol, 1992; 148 (11): 3492 – 3497
32. Brogiolo W., Stocker H., Ikeya T., Rintelen F., Fernandez R., Hafen E. An evolutionarily conserved function of the Drosophila insulin receptor and insulin-like peptides in growth control. Curr Biol, 2001; 11 (4): 213 – 21
33. Bronfman F.C., Fainzilber M. Multi-tasking by the p75 neurotrophin receptor: sortilin things out? EMBO Rep, 2004; 5 (9): 867 - 71
34. Buffa R., Rindi G., Sessa F., Gini A., Capella C., Jahn R. Synaptophiysin immunoreactivity and smallclear vesicles in neuroendokrine cells and related tumors. Molecular and Cellular Probes, 1988; 2: 376 - 81
35. Burghardt R.C., Johnson G.A., Jaeger L.A., Ka H., Garlow J.E., Spencer T.E., Bazer F.W. Integrins and extracellular matrix proteins at the maternal-fetal interface in domestic animals. Cells Tissues Organs, 2002; 172 (3): 202 - 17
36. Butler A.A., Yakar S., LeRoith D. Insulin-like growth factor-I: compartmentalization within the somatotropic axis? News. Physiol. Sci, 2002; 17: 82 - 85
37. Byrne A.T., Southgate J., Brison D.R., Leese H.J. Analysis of apoptosis in the preimplantation bovine embryo using TUNEL. J Reprod Fertil, 1999; 117 (1): 97 – 105
38. Byrne C., Tainsky M., Fuchs E. Programming gene expression in developing epidermis. Development, 1994; 120(9): 2369 – 83
39. Calhoun M.E., Jucker M., Martin L.J., Thinakaran G., Price D.L., Mouton P.R. Comparative evaluation of synaptophysin-based methods for quantification of synapses. J Neurocytolm, 1996; 12: 821 – 8
40. Cameo P., Srisupara S., Starkova Z. Chorionic gonadotropin and uterine dialogue in the promate. Reprod biol Endocrinol, 2004; 2: 50
41. Campbell LK, Thomas JR, Lamps LW, Smoller BR, Folpe AL. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) is not a specific marker of neural and nerve sheath tumors: an immunohistochemical study of 95 mesenchymal neoplasms. Mod Pathol, 2003; 16 (10): 963 – 9
42. Carter B.D., Kaltschmidt C., Kaltschmidt B., Offenhauser N., Bohm-Matthaei R., Baeuerle P.A., Barde Y.A: Selective activation of NF kappa B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. Science, 1996; 272 (5261): 542 - 545

43. Casaccia B.P., Carter B.D., Dobrowsky R.T., Chao M.V. Death of oligodendrocytes mediated by the interaction of nerve growth factor with its receptor p75. Nature, 1996; 383 (6602): 716 - 719
44. Casatorres J., Navarro J.M., Blessing M., Jorcano J.L. Analysis of the control of expression and tissue specificity of the keratin 5 gene, characteristic of basal keratinocytes. Fundamental role of an AP-1 element. J Biol Chem, 1994; 269 (32): 20489 – 96
45. Chada S.R., Hollenbeck P.J. Mitochondrial movement and positioning in axons: the role of growth factor signaling. J Exp Biol, 2003; 206 (12): 1985 - 92
46. Chai J.Y., Modak C., Mouazzen W., Narvaez R., Pham J. Epithelial or mesenchymal: Where to draw the line? Biosci Trends, 2010; 4 (3): 130 – 42
47. Chakraborty S., Combs M.D., Yutzey K.E. Transcriptional regulation of heart valve progenitor cells. Pediatr Cardiol, 2010; 31 (3): 414 - 21
48. Chandley A.C. Infertility and chromosome abnormality. Oxford Rev Reprod Biol, 1984; 6: 1 – 46
49. Chao M. V. Neurotrophin receptors: a window into neuronal differentiation. Neuron, 1992; 9: 583 – 593
50. Chard T. Frequency of implantation and early pregnancy loss in natural cycles. Baillieres Clin Obstet Gynaecol, 1991; 5 (1): 179 - 89
51. Chelyshev I.A., Saitkulov K.I. The development, phenotypic characteristics and communications of Schwanncells. Usp Fiziol Nauk, 2000; 31 (3): 54 - 69
52. Chen Y.H., Ishii M., Sucov H.M., Maxson R.E. Msx1 and Msx2 are required for endothelial-mesenchymal transformation of the atrioventricular cushions and patterning of the atrioventricular myocardium. BMC Dev Biol, 2008; 8: 75
53. Chesa P.G. Immunohistochemical analysis of nerve growth factor receptor expression in normal and malignant human tissue. J Histochem, 1988; 36 (4): 383
54. Cheung J.O., Grant M.E., Jones C.J., Hoyland J.A., Freemont A.J., Hillart M.C. Apoptosis of terminal hypertrophic chondrocites in an in vivo model of endochondral ossification. J Pathol, 2003; 201 (3): 496 - 503
55. Chikazu D., Hakeda Y., Ogata N., Nemoto K., Itabashi A., Takato T., Kumegawa M., Nakamura K., Kawaguchi H. Fibroblast growth factor (FGF) - 2 directly stimulates mature osteoclast function through activation of FGF receptor 1 and p42/p44 MAP kinase. J Biol Chem, 2000; 275 (40): 31444 – 31450
56. Chin D., Boyle G.M., Parsons P.G., Coman W.B. What is transforming growth factor-beta (TGF-β)? Br J Plast Surg, 2004; 57: 215 – 221
57. Choi B.H. Radial glia of developing human fetal spinal cord: Golgi, immunohistochemical and electron microscopic study. Brain Res, 1981; 227: 249 - 267

58. Christensen R. Analysis of variance. Design and Regression. Applied statistical methods. London, Chapman & Hall, 1996
59. Chrysostomou M., Karafyllidi P., Papadimitriou V., Bassiotou V., Mayakos G. Serum antibodies to Chlamydia trachomatis in women with ectopic pregnancy, normal pregnancy or salpingitis. Eur J Obstet Gynecol Reprod Bio, 1992; 44 (2): 101 - 5
60. Chu P.G., Weiss L.M. Keratin expression in human tissues and neoplasms. Histopathology, 2002 May; 40 (5): 403 - 39
61. Church Y., Yamaguchi K., Tsang P., Akita K., Logan C., Francis-West P. Expression and function of Barx1 during chick limb development. Anat Embryol, 2005; 209: 461 – 469
62. Coleman K.D., Wright J.A., Ghosh M., Wira C.R., Fahey J.V. Estradiol modulation of hepatocyte growth factor by stromal fibroblasts in the female reproductive tract. Fertil Steril, 2009; 92 (3): 1107-9
63. Coleman M.L., Sahai E.A., Yeo M., Bosch M., Dewar A., Olson M.F. Membrane blebbing during apoptosis results from caspase-mediated activation of ROCK I. Nat Cell Biol, 2001;3 (4): 339 - 45
64. Conrad A.H. Embryonic corneal Schwann cells express some Schwann cell marker mRNAs, but no mature Schwann cell marker proteins. Invest Ophthalmol Vis Sci,2009; **50**: 4173 - 84
65. Coste J., Fernandez H., Joye N. Role of chromosome abnormalities in ectopic pregnancy. Fertil Steril, 2000; 74 (6): 1259 - 1260
66. Cowan W.M. Viktor Hamburger and Rita Levi-Montalcini: the path to the discovery of nerve growth factor. Annu Rev Neurosci, 2001; 24: 551 – 600
67. Curtis R., Adryan K.M., Stark J.L., Park J.S., Compton D.L., Weskamp G., Huber L.J., Chao M.V., Jaenisch R., Lee K.F. Differential role of the low affinity neurotrophin receptor (p75) in retrograde axonal transport of the neurotrophins. Neuron, 1995; 14 (6): 1201 - 1211
68. D`Ercole A.J. Somatomedins/Insuline like growth factor and fetal growth. J Dev Physiol, 1987; 9: 481
69. Dai C., Li Y., Yang J., Liu Y. Hepatocyte growth factor preserves beta cell mass and mitigates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. J Biol Chem, 2003; 278 (29): 27080 - 7
70. Danial N.N., Korsmeyer S.J. Cell death: critical control points. Cell, 2004; 116 (2): 205 - 19
71. Daniel Y., Geva E., Lerner-Geva L. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in patients with ectopic pregnancy: is this a novel marker? Fertil Steril, 1999; 72 (6): 1013 - 1017
72. Daponte A., Pournaras S., Zintzaras E., Kallitsaris A., Lialios G., Maniatis A.N., Messinis I.E: The value of a single combined measurement of VEGF, glycodelin, progesterone,

PAPP-A, HPL and LIF for differentiating between ectopic and abnormal intrauterine pregnancy. Hum Reprod, 2005; 20 (11): 3163 - 3166

73. Das S., Vince G. S., Lewis-Jones I. The expression of human alpha and beta defensin in the endometrium and their effect on implantation. J Assist Reprod Genet, 2007; 24 (11): 533 - 539
74. Davidson D. The function and evolution of Msx genes: pointers and paradoxes. Trends Genet, 1995; 11: 405 - 411
75. de Pablo F., Serrano J., Girbau M., Alemany J., Scavo L., Lesniak M.A. Insulin and insulin-like growth factor I action in the chick embryo: from biology to molecular endocrinology. J Exp Zool Suppl, 1990; 4: 187 - 91
76. Dechant G. Molecular interactions between neurotrophin receptors. Cell Tissue Res, 2001; 305 (2): 229 - 38
77. Derkinderen P., Toutant M., Burgaa F., Le B.M., Siciliani J.C., Gelman M., Girault J.A. Regulation of a neuronal form of focal adhesion kinase by anandamide. Science, 1996; 273: 1791 - 1722
78. Diomedi-Camassei F., Rava L., Lerut E.,Callea F., Van Damme B. Protein gene product 9.5 and ubiquitin are expressed in metabolically active epithelial cells of nermal and pathologic human kidney. Nephrol Dial Transplant, 2005; 20: 2714 – 2719
79. Dixon R.E., Hwang S.J., Hennig G.W., Ramsey K.H., Schripsema J.H., Sanders K.M., Ward S.M. Chlamydia infection causes loss of pacemaker cells and inhibits oocyte transport in the mouse oviduct. Biol Reprod, 2009; 80 (4): 665 - 73
80. Dobrowsky R.T., Carter B.D. p75 neurotrophin receptor signaling: mechanisms for neurotrophic modulation of cell stress? J Neurosci Res, 2000; 61 (3): 237 - 43
81. Domínguez F., Remohí J., Pellicer A., Simón C. Paracrine interactions during human implantation. Rev Endocr Metab Disord, 2002; 3 (2): 97 - 105
82. Dou Y.C., Hagströmer L., Emtestam L., Johansson O. Increased nerve growth factor and its receptors in atopic dermatitis: an immunohistochemical study. Arch Dermatol Res, 2006; 298 (1): 31 – 7
83. Du Cros D. L., Isaacs K., Moore G. P. M. Distribution of acidic and basic fibroblast growth factors in ovine skin during follicle morphogenesis. J Cell Sci, 1993; 105: 667 – 674
84. Edelman D.B., Meech R., Jones F.S. The homeodomain protein Barx2 contains activator and repressor domains and interacts with members of the CREB family. J Biol Chem, 2000; 275 (28): 21737 – 45
85. Edwards A.K., van den Heuvel M.J., Wessels J.M., Lamarre J., Croy B.A., Tayade C. Expression of angiogenic basic fibroblast growth factor, platelet derived growth factor, thrombospondin-1 and their receptors at the porcine maternal-fetal interface. Reprod Biol Endocrinol, 2011; 9: 5

86. Eiden L.E. Is chromogranin a prohormone? *Nature*, 1987; 325: 301
87. Ekerhovd E., Norström A. Involvement of a nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in control of fallopian tube contractility. Gynecol Endocrinol, 2004; 19 (5): 239 - 46
88. Eng L.F., Ghirnikar R.S., Lee Y.L. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). Neurochem Res, 2000; 25 (9-10): 1439 - 51
89. Eswarakumar V.P., Lax I., Schlessinger J. Cellular signalling by fibroblast growth factor receptors. Cytokine Growth Factor Rev, 2005; 16 (2): 139 – 149
90. Fabian D., Koppel J., Maddox-Hyttel P. Apoptotic processes during mammalian preimplantation development. Theriogenology, 2005; 64: 221 – 231
91. Fang Y., Svoboda K.K. Nicotine inhibits myofibroblast differentiation in human gingival fibroblasts. J Cell Biochem, 2005; 95 (6): 1108 - 19
92. Fant M., Munro H., Moses A.C. An autocrine/paracrine role for insulin-like growth factors in the regulation of human placental growth. J Clin Endocrinol Metab, 1986; 63 (2): 499 - 505
93. Farquhar C.M. Ectopic pregnancy. Lancet, 2005; 366: 583 – 591
94. Fasouliotis S.J., Spandorfer S.D., Witkin S.S., Liu H.C., Roberts J.E., Rosenwaks Z. Maternal serum vascular endothelial growth factor levels in early ectopic and intrauterine pregnancies after in vitro fertilization treatment. Fertil Steril, 2004; 82 (2): 309 - 313
95. Felix A.S., Weissfeld J., Edwards R., Linkov F. Future directions in the field of endometrial cancer research: the need to investigate the tumor microenvironment. Eur J Gynaecol Oncol, 2010; 31 (2): 139-44
96. Fenton K.A., Lowndes C.M. Recent trends in the epidemiology of sexuallytransmitted infections in the European Union. Sex Transm Infect, 2004; 80 (4): 255-63
97. Fischer-Colbrie R., Lassmann H., Hagn C., Winkler H. Immunological studies on the distribution of chromogranin A and B in endocrine and nervous tissues. *Neuroscience*, 1985; 16: 547 – 55
98. Flanders K.C., Burmester J.K. Medical applications of transforming growth factor-β. Clin Med Res, 2003; 1 (1): 13 – 20
99. Frade J.M., Rodriguez Tebar A., Barde Y.A. Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. Nature, 1996; 383 (6596): 166 - 168
100. Franke W.W., Schmid E., Osborn M., Weber K. Intermediate-sized filaments of human endothelial cells. J Cell Biol, 1979; 81 (3): 570 - 580
101. Fuchs E. Scratching the surface of skin development. Nature, 2007; 445 (7130): 834 – 42
102. Fuchs E., Weber K. Intermediate filaments: structure, dynamics, function, and disease. Annu Rev Biochem, 1994; 63: 345 – 82

103. Funakoshi H., Nakamura T. Hepatocyte growth factor: from diagnosis to clinical applications. Clin Chim Acta, 2003; 327 (1-2): 1 - 23
104. Ganz T. Defensins and other antimicrobial peptides: a historical perspective and an update. Comb Chem High Throughput Screen, 2005; 8 (3): 209 - 17
105. Gao Z., Mackenzie I.C. Patterns of phenotypic expression of human junctional, gingival and reduced enamel epithelia in vivo and in vitro. Epithelial Cell Biol, 1992; 1 (4): 156 – 67
106. García J.R., Jaumann F., Schulz S., Krause A., Rodríguez-Jiménez J., Forssmann U., Adermann K., Klüver E., Vogelmeier C., Becker D., Hedrich R., Forssmann W.G., Bals R. Identification of a novel, multifunctional beta-defensin (human beta-defensin 3) with specific antimicrobial activity. Its interaction with plasma membranes ofXenopus oocytes and the induction of macrophage chemoattraction. Cell Tissue Res, 2001; 306 (2) :257 - 64
107. Garcia-Lopez G., Flores-Espinosa P., Zaga-Clavellina V. Tissue-specific human beta-defensins (HBD)1, HBD2, and HBD3 secretion from human extra-placental membranes stimulated with Escherichia coli. Reprod Biol Endocrinol, 2010; 8: 146
108. Gavrieli Y., Sherman Y., Ben-Sasson S.A. Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of DNA fragmentation J Cell Biol, 1992; 119: 493 – 501
109. Geisert R.D., Brookbank J.W., Roberts R.M., Bazer F.W: Establishment of pregnancy in the pig. II. Cellular remodeling of the porcine blastocyst during elongation on day 12 of pregnancy. Biol Reprod, 1982; 27: 941 – 955
110. Gentry J.J., Barker P.A., Carter B.D. The p75 neurotrophin receptor: multiple interactors and numerous functions. Prog Brain Res, 2004; 146: 25 - 39
111. Ghosh D., Najwa A.R., Khan M.A., Sengupta J. IGF2, IGF binding protein 1, and matrix metalloproteinases 2 and 9 in implantation-stage endometrium following immunoneutralization of vascular endothelial growth factor in the rhesus monkey. Reproduction, 2011; 141 (4): 501 – 9
112. Gibson J.G., Kohler J.W., Schaffler B.M. Chondrocyte apoptosis in endochondral ossification of chick sterna. Developmental Dynamic, 2005; 203 (4): 468 - 476
113. Goddijn M., van der Veen F., Schuring-Blom G.H., Ankum W.M., Leschot N.J. Cytogenetic characteristics of ectopic pregnancy. Hum Reprod, 1996; 11 (12): 2769 - 2771
114. Godkin J.D., Doré J.J.E: Transforming growth factors and the endometrium. Rev Reprod, 1998; 3: 1 – 6
115. Goksedef B.P., Kef S., Akca A,. Bayik R.N., Cetin A. Risk factors for rupture in tubal ectopic pregnancy: definition of the clinical findings. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2010; 154 (1): 96-9

116. Gomes F.C., Paulin D., Moura Neto V. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and itsimplication in astrocyte differentiation. Braz J Med Biol Res, 1999; 32 (5): 619 - 31
117. Goss J.R., Finch C.E., Morgan D.G. Age-related changes in glial fibrillary acidic protein mRNA in the mouse brain. Neurobiol Aging, 1991; **12** (2): 165 – 70
118. Gould V.E. Lee I., Windermann B., Moll R., Chejfec G., Franke W.W. Synaptophysin: a novel marker for neurons, certain neuroendocrine cells, and their neoplasms. Hum Pahtol, 1986; 17: 979 - 83
119. Güney M., Erdemoglu E., Oral B., Karahan N., Mungan T. Leukemia inhibitory factor (LIF) is immunohistochemically localized in tubal ectopic pregnancy. Acta Histochem, 2008; 110 (4): 319 - 23
120. Gupta A., Bazer F.W., Jaeger L.A. Differential expression of TGFßs (TGFß1, TGFß2, TGFß3) and their receptors (type I and type II) in peri-implantation porcine conceptuses. Biol Reprod, 1996; 55: 796 – 802
121. Gupta A., Dekaney C.M., Bazer F.W. Madrigal M.M., Jaeger L.A. ß Transforming growth factors (TGFßs) at the porcine conceptus-maternal interface. Part II: uterine TGFß bioactivity and expression of immunoreactive TGFßs (TGFß1, TGFß2, and TGFß 3) and their receptors (type I and type II). Biol Reprod, 1998; 59: 911 – 917
122. Gupta A., Ing N.H., Bazer F.W., Bustamante L.S., Jaeger L.A. ß Transforming growth factors (TGFßs) at the porcine conceptus-maternal interface. Part I: expression of TGFß1, TGFß2, and TGFß3 messenger ribonucleic acids. Biol Reprod, 1998; 59: 905 – 910
123. Guy R., Sander C., Barry Powell C. Expression of the Homeobox Gene BarX1 in the Gut. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2004; 52 (4): 541 - 544
124. Haggerty C.L., Gottlieb S.L., Taylor B.D., Low N., Xu F., Ness R.B. Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women. J Infect Dis. 2010; 201 (2): 134 – 155
125. Halbert S.A., Becker D.R., Szal S.E. Ovum transport in the rat oviductal ampulla in the absence of muscle contractility. Biol Reprod, 1989; 40 (6): 1131 - 6
126. Hall B.K., Miyake T. All for one and one for all: condensation and the initiation of skeletal development. Bioassays, 2000; 22 (2): 138 - 147
127. Handyside A.H, Hunter S. Cell division in the mouse blastocyst before implantation. Roux's Arch of Devel Biol, 1986; 195: 519 - 526
128. Hanneken A. Identification of soluble forms of the fibroblast growth factor receptor in blood. Proc Natl Acad Sci, 1994; 91: 9170 - 9174
129. Hardy K. Cell death in the mammalian blastocyst. Mol Hum Reprod, 1997; 3: 919 - 925
130. Hardy K.M., Yatskievycht T.A., Konieczka J.H., Bobbs A.S., Parker B.A. BMC FGF signalling through RAS/MAPK and PI3K pathways regulates cell movement and gene

expression in the chicken primitive streak without affecting E-cadherin expression Dev Biol, 2011; 11: 20

131. Hartfuss E., Galli R., Heins N., Gцtz, M. Characterization of CNS precursor subtypes and radial glia. Dev. Biol, 2001; 229: 15 – 30
132. Hassold T., Chen J., Funkhouser J., Jooss T., Manuel B., Matsuura J., Matsuyama A., Wilson C., Yamane J.A., Jacobs P. A cytogenetic study of 1000 spontaneous abortions. Ann Hum Genet, 1980; 44; 151 – 178
133. Hayati A.R., Cheah F.C., Tan A.E., Tan G.C. Insulin-like growth factor-1 receptor expression in the placentae of diabetic and normal pregnancies. Early Hum Dev, 2007; 83 (1): 41-6
134. Heldin C.H., Miyazono K., Dijke P. TGF-b signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. Nature, 1997; 390: 465 – 471
135. Helman L.J., Ahn T.G., Levine M.A., Allison A., Cohen P.S., Cooper M.J., Cohn D.V., Israel M.A. Molecular cloning and primary structure of human chromogranin A (secretory protein I) cDNA. J Biol Chem, 1988; 263 (23): 11559 – 63
136. Hempstead B.L. The many faces of p75NTR. Curr Opin Neurobiol, 2002; 12 (3): 260 - 7
137. Hendy G.N., Li T., Girard M., Feldstein R.C., Mulay S., Desjardins R., Day R., Karaplis A.C., Tremblay M.L., Canaff L. Targeted ablation of the chromogranin A (Chga) gene: normal neuroendocrine dense core secretory granules and increased expression of other granins. Mol Endocrinol, 2006; 20 (8): 1937 - 47
138. Hering S., Isken E., Knabbe C., et al. TGFβ1 and TGFβ2 mRNA and protein expressions in human bone samples. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2001; 109: 217 - 26
139. Hicks W., Sigurdson L., Gabalski E., Hard R., Hall L., Gardella J., Powers C., Kumar N., Lwebuga - Mukasa J. Does cartilage down - regulate growth factor expression in traheal epithelium? Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 1999; 125: 1239 – 1243
140. Hill D.J., Petrik J., Arany E. Growth factors and the regulation of fetal growth. Diabetes Care, 1998; 21: 60 - 69
141. Hill J.A. Maternal-embryonic cross-talk. Ann N Y Acad Sci, 2001; 943: 17 - 25
142. Hinck L, Thissen JP, De Hertogh R. Identification of caspase-6 in rat blastocysts and its implication in the induction of apoptosis by high glucose. Biol Reprod, 2003; 68 (5): 1808 – 12
143. Holmes R., Porter H., Newcomb P., Holly J.M., Soothill P. An immunohistochemical study of type I insulin-like growth factor receptors in the placentae of pregnancies with appropriately grown or growth restricted fetuses. Placenta, 1999; 4: 325 - 330
144. Horne A.W., King A.E., Shaw E., McDonald S.E., Williams A.R., Saunders P.T., Critchley H.O. Attenuated sex steroid receptor expression in fallopian tube of women with ectopic pregnancy. J Clin Endocrinol Metab, 2009; 94 (12): 5146 – 54

145. Horne A.W., Phillips J.A. 3rd, Kane N., Lourenco P.C., McDonald S.E., Williams A.R., Simon C., Dey S.K., Critchley H.O. CB1 expression is attenuated in Fallopian tube and decidua of women with ectopic pregnancy. PLoS One, 2008; 3 (12): e3969
146. Horwitz D.A. Transforming growth factor - β: taking control of T cells life and death. Immunity, 2006; 25: 399 – 402
147. Hosoya A., Kwak S., Kim E.J., Lunny D.P., Lane E.B., Cho S.W., Jung H.S. Immunohistochemical localization of cytokeratins in the junctional region of ectoderm and endoderm. Anat Rec, 2010; 293 (11): 1864 – 72
148. Hotchkiss R.S., Strasser A., McDunn J.E., Swanson P.E. Cell death. N Engl J Med, 2009; 361 (16): 1570 - 83
149. Howarth P.H., Springall D.R., Redington A.E., Djukanovic R., Holgate S.T., Polak J.M. Neuropeptide - containing nerves in endobronchial biopsies from asthmatic and nonasthmatic subjects. Am J Respir Cell Mol Biol, 1995; 13 (3): 288 – 296
150. Howe P.H. Transforming growth factor β. The Cytokine Handbook. London, Angus W. Thomson & Michael T. Lotze, 2003; 234-5
151. Hsu S.M., Raine L., Fanger H: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. The Histochemical Society, 1981; 29 (4): 577 - 580
152. Hu S.W., Mao C., Zhang D., Lan Z., Wang C.F., Luo S. The relationship between HalphaD-5 and HbetaD-2 in infertile women's fimbriae tubes with adhesions and atresias. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2010; 41 (3): 480-2
153. Huang H. Y., Chan S. H., Wu C. H., et al. Interleukin-1 system messenger ribonucleic acid and protein expression in human fallopian tube may be associated with ectopic pregnancy**.** *Fertility and Sterility*, 2005; 84 (5): 1484 - 1492
154. Hughes S.E. Differential Expression of the Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) Multigene Family in Normal Human Adult Tissues. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1997; 45: 1005 - 1020
155. Hughes S.E: Differential Expression of the Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR) Multigene Family in Normal Human Adult Tissues. Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1997; 45: 1005 - 1020
156. Humbel R.E. Insulin-like growth factors I and II. Eur J Biochem, 1990; 190 (3): 445 - 62
157. Iavazzo C., Tassis K., Gourgiotis D., Boutsikou M., Baka S., Hassiakos D., Hadjithomas A., Botsis D., Malamitsi-Puchner A. The role of human beta defensins 2 and 3 in the second trimester amniotic fluid in predicting preterm labor and premature rupture of membranes. Arch Gynecol Obstet, 2010; 281 (5): 793 - 9

158. Ioanne F., De Bari C., Dell'Acio F., Covelli M., Patella V., Lo Bianco G., Lapadula G. Increases expression of nerve growth factor (NGF) and high affinity NGF receptor (p140 TrkA) in human osteoarthritic chondrocytes. Rheumatology, 2002; 41: 1413 – 1418
159. Itoh K., Suzuki K., Bise K., Itoh H., Mehraein P., Weis S. Apoptosis in the basal ganglia of the developing human nervous system. Acta Neuropathol. 2001; 101 (2): 92 – 100
160. Iwashita M. Physiological significance of IGF-I and its binding proteins on fetal growth and maturation. Nippon Sanka Fujinaka Gakkai Zasshi, 1994; 46 (8): 660 - 672
161. Jacobs P.A. The chromosome complement of human gametes. Oxford Rev Reprod Biol, 1992; 14: 47 – 72
162. Jaeger L.A., Johnson G.A., Ka H., Garlow J.G., Burghardt R.C., Spencer T.E., Bazer F.W. Functional analysis of autocrine and paracrine signalling at the uterine-conceptus interface in pigs. Reprod Suppl, 2001; 58: 191 – 207
163. Jansen R.P. Endocrine response in the fallopian tube. Endocr Rev, 1984; 5 (4): 525 – 51
164. Jaskoll T., Luo W., Snead M.L. Msx-2 expression and glucocorticoid-induced overexpression in embryonic mouse submandibular glands. J Craniofac Genet Dev Biol, 1998; 18 (2): 79 – 87
165. Johnston A.L., Lun X., Rahn J.J., Liacini A., Wang L., Hamilton M.G., Parney I.F., Hempstead B.L., Robbins S.M., Forsyth P.A., SengerD.L. The p75 neurotrophin receptor is a central regulator of glioma invasion. PloS Biology, 2007; 5 (8): 212
166. Jones F.S., Kioussi C., Copertino D.W., Kallunki P., Holst B.D., Edelman G.M. Barx2, a new homeobox gene of the Bar class, is expressed in neural and craniofacial structures during development. Proc Natl Acad Sci USA, 1997; 94: 2632 – 2637
167. Jones R.L., Stoikos C., Findlay J.K., Salamonsen L.A. TGF-beta superfamily expression and actions in the endometrium and placenta. *Reproduction*, 2006; 132: 217 – 232
168. Jossens M.O., Eskenazi B., Schachter J., Sweet R.L. Risk factors for pelvic inflammatory disease. A case control study. Sex Transm Dis, 1996; 23 (3): 239-237
169. Juriscova A., Latham K., Casper R., Varmuza S. Expression and regulation of genes associated with cell death during murine preimplantation embryo development. Mol Reprod Dev, 1998; 51: 243 - 253
170. Juriscova A., Varmuza S., Casper R.F. Programmed cell death and human embryo fragmentation. Mol Hum Reprod, 1996; 2: 93 - 98
171. Kabir-Salmani M., Shiokawa S., Akimoto Y., Sakai K., Iwashita M. The role of alpha(5)beta(1)-integrin in the IGF-I-induced migration of extravillous trophoblast cells during the process of implantation. Mol Hum Reprod, 2004; 10 (2): 91 - 7
172. Kalb R. The protean actions of neurotrophins and their receptors on the life and deathof neurons.Trends Neurosci, 2005; 28 (1): 5 - 11

173. Kameda Y., Miura M., Ohno S. Localization and development of chromogranin A and luteinizing hormone immunoreactivities in the secretory-specific cells of the hypophyseal pars tuberalis of the chicken. Hist and Cell Biology, 1998; 109: 211 – 222
174. Kamei H., Ding Y., Kajimura S., Wells M., Chiang P., Duan C. Role of IGF signaling in catch-up growth and accelerated temporal development in zebrafish embryos in response to oxygen availability. Development, 2011; 138 (4): 777 – 86
175. Kamwendo F., Forslin L., Bodin L., Danielsson D. Epidemiology of ectopic pregnancy during a 28 year period and the role of pelvic inflammatory disease. Sex Transm Infect. 2000; 76 (1): 28-32
176. Kaneshiro B., Aeby T. Long-term safety, efficacy, and patient acceptability of the intrauterine Copper T-380A contraceptive device. Int J Womens Health, 2010; 9 (2): 211-20
177. Kapur S., Tamada H., Dey S.K., Andrews G.K. Expression of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and its receptor in the peri-implantation mouse uterus, and cell-specific regulation of IGF-I geneexpression by estradiol and progesterone. Biol Reprod, 1992; 46 (2): 208 - 219
178. Kauma S.W., Bae-Jump V., Walsh S.W. Hepatocyte growth factor stimulates trophoblast invasion: a potential mechanism for abnormal placentation in preeclampsia. J Clin Endocrinol Metab, 1999; 84 (11): 4092 - 6
179. Kawaida K., Matsumoto K., Shimazu H., Nakamura T. Hepatocyte growth factor prevents acute renal failure and accelerates renal regeneration in mice. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994; 91 (10): 4357 - 61
180. Kawashima-Ohya Y., Narita Y., Nagashima H., Usuda R., Kuratani S. Hepatocyte growth factor is crucial for development of the carapace in turtles. Evol Dev, 2011; 13 (3): 260 – 8
181. Kent C., Coupland R.E. Localisation of chromogranin A and B, met-enkephalin-arg6-gly7-leu8 and PGP9.5-like immunoreactivity in the developing and adult rat adrenal medulla and extra-adrenal chromaffin tissue. J Anat, 1989; 166: 213 – 225
182. Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br J Cancer, 1972; 26 (4): 239 – 57
183. Kim B.M., Buchner G., Miletich I., Sharpe P.T., Shivdasani R.A. The stomach mesenchymal transcription factor Barx1 specifies gastric epithelial identity through inhibition of transient Wnt signaling. Developmental Cell, 2005; 8: 611 – 622
184. Kim B.M., Miletich I., Mao J., McMahon A.P., Sharpe P.A., Shivdasani A. Independent functions and mechanisms for homeobox gene Barx1 in patterning mouse stomach and spleen. Development, 2007; 134: 3603 – 3613

185. Kim T., Loh Y.P. Chromogranin A: a surprising link between granule biogenesis and hypertension. J Clin Invest, 2005;115: 1711 – 1713
186. Kingsley D.M: The TGF-beta super family: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. Genes Dev, 1994; 8 (2): 133 - 146
187. Klammt J., Pfaffle R., Werner H., Kiess W. IGF signaling defects as causes of growth failure and IUGR. Trends Endocrinol. Metab. 2008; 19: 197 - 205
188. Knoll M., Shaoulian R., Magers T., Talbot P. Ciliary beat frequency of hamster oviducts is decreased in vitro by exposure to solutions of mainstream and sidestream cigarette smoke. Biol Reprod, 1995; 53 (1): 29 - 37
189. Kokawa K., Shikone T., Nakano R. Apoptosis in the human uterine endometrium during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab, 1996; 81: 4144 – 4147
190. Kosone T., Takagi H., Horiguchi N., Toyoda M., Sohara N., Kakizaki S., Sato K., Nishiyama U., Kuwaki T., Mori M. Hepatocyte growth factor accelerates thrombopoiesis in transgenic mice. Lab Invest, 2007; 87 (3): 284 - 91
191. Krastiņš O. Statistika un ekonometrija. Mācību līdzeklis augstskolām. Rīga, LR centrālā statistikas pārvalde, 1990
192. Krivicka-Uzkurele B., Pilmane M., Akota I. Barx1, growth factors and apoptosis in facial tissue of children with clefts. Stomatologija, 2008; 10 (2): 62 – 6
193. Kucera-Sliutz E., Schiebel I., König F., Leodolter S., Sliutz G., Koelbl H. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and discrimination between abnormal intrauterine and ectopic pregnancy. Hum Reprod. 2002; 17 (12): 3231 - 4
194. Kukanova A., Pilmane M. Distribution of Neuropeptides in Human Embryonic Central Nervous System. RSU Collection of Scientific Papers, 2006; 302 - 304
195. Kukanova A., Pilmane M. Distribution of Some Growth Factors and Appearance of Some Genes in Different Tissues of Human Embryo. RSU Collection of Scientific Papers, 2007: 21 - 24
196. Kutteh W.H., Blackwell R.E., Gore H., Kutteh C.C., Carr B.R., Mestecky J. Secretory immune system of the female reproductive tract. II. Local immune system in normaland infected fallopian tube. Fertil Steril, 1990; 54 (1): 51 - 5
197. Lam P.M., Briton-Jones C., Cheung C.K., Leung S.W., Cheung L.P., Haines C. Increased messenger RNA expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in the implantation site of the human oviduct with ectopic gestation. Fertil Steril, 2004; 82 (3): 686 - 690
198. Langdahl B.L., Stenkjaer L., Carstens M. A GAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene is associated with reduced bone mass and increased risk of osteoporotic fractures. Calcif Tissue Int, 2003; 73 (3): 237 - 43

199. Larsson, L. Atiserum directed against chromogranin A un B (CAB) is a useful marker for peptide hormone-producing endocrine cells and tumors. Endocrine Pathology, 1992; 3 (1): 14-22
200. Lauweryns J.M., Van Ranst L. Protein gene product 9.5 expression in the lungs of humans and others mammals. Immunocytochemical detection in neuroepithelial bodies, neuroendocrine cells and nerves. Neurosci Lett, 1988; 85 (3): 311 – 316
201. Le Foll B., Forget B., Aubin H.J., Goldberg S.R. Blocking cannabinoid CB1 receptors for the treatment of nicotine dependence: insights from pre-clinical and clinical studies. Addict Biol, 2008; 13 (2): 239 – 52
202. Le Rotin D. Clinical relevance of systemic and local IGF-I: lessons from animal models. Pediatr. Endocrinol. Rev, 2008; 5 (2): 739 – 743
203. Lehrer R.I., Ganz T. Endogenous vertebrate antibiotics. Defensins, protegrins, and other cysteine-rich antimicrobial peptides. Ann N Y Acad Sci, 1996; 797: 228 - 39
204. Leke R.J., Goyaux N., Matsuda T., Thonneau P.F. Ectopic pregnancy in Africa: a population-based study. Obstet Gynecol, 2004; 103: 692 – 697
205. Lerner O., Davenport D., Patel P., Psatha M., Lieberam I., Guthrie S. Stromal cell-derived factor-1 and hepatocyte growth factor guide axon projections to the extraocular muscles. Dev Neurobiol, 2010;70 (8): 549 - 64
206. Lersch R., Fuchs E. Sequence and expression of a type II keratin, K5, in human epidermal cells. Mol Cell Biol, 1988;8 (1): 486 – 93
207. Levi-Montalcini R. Nerve growth factor 35 years later. Science, 1987; 237: 1154 – 1161
208. Levitt P., Rakic P. Immunoperoxidase localization of glial fibrillary acidic protein in radial glial cells and astrocytes of the developing rhesus monkey brain. J. Comp. Neurol, 1980; 193: 815 - 840
209. Li A., Felix J.C., Hao J., Minoo P., Jain J.K. Menstrual-like breakdown and apoptosis in human endometrial explants. Hum Reprod, 2005; 20 (6): 1709 – 19
210. Li Y., Zhang S.F., Zou S.E., Xia X., Bao L. Accumulation of nerve growth factor and its receptors in the uterus and dorsal root ganglia in a mouse model of adenomyosis. Reprod Biol Endocrinol, 2011; 9: 30
211. Li Z., Sun Y., Min W., Zhang D. Correlation between overexpression of transforming growth factor-beta 1 in occluded fallopian tubes and postsurgical pregnancy among infertile women. Int J Gynaecol Obstet, 2011; 112 (1): 11-4
212. Liang C.C., You L.R., Chang J.L., Tsai T.F., Chen C.M. Transgenic mice exhibiting inducible and spontaneous Cre activities driven by a bovine keratin 5 promoter that can be used for the conditional analysis of basal epithelial cells in multiple organs. J Biomed Sci, 2009; 16: 2

213. Lillie R.D., Pizzolato P., Donaldson P.T. (1976) Nuclear stains with soluble metachrome mordant lake dyes. The effect of chemical endgroup blocking reactions and the artificial introduction of acid groups into tissues. Histochemistry, 1976; 49: 23 - 35
214. Lindblom B., Hamberger L., Wiqvist N. Differentiated contractile effects of prostaglandins E and F on the isolated circular and longitudinal smooth muscle of the human oviduct. Fertil Steril, 1978; 30 (5): 553 - 9
215. Lindner G., Menrad A., Gherardi E., Merlino G., Welker P., Handjiski B., Roloff B., Paus R. Involvement of hepatocyte growth factor/scatter factor and met receptor ignaling in hair follicle morphogenesis and cycling. FASEB J, 2000; 14 (2): 319 - 32
216. Liu H., Wang J., Zhang R., Chen X., Yu H., Jin H., Li L., Han C., Xu F., Kang B., He H., Xu H. In ovo feeding of IGF-1 to ducks influences neonatal skeletal muscle hypertrophy and muscle mass growth upon satellite cell activation. J Cell Physiol, 2011: 10.1002/jcp.22862
217. Liu J., P., Baker J., Perkins A. S., Robertson E. J., Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). Cell. 1993; 75: 59 -72
218. Liu Y.X., Gao F., Wei P., Chen X.L., Gao H.J., Zou R.J., Siao L.J., Xu F.H., Feng Q., Liu K., Hu Z.Y. Involvement of molecules related to angiogenesis, proteolysis and apoptosis in implantation in rhesus monkey and mouse. Contraception, 2005; 71 (4): 249 - 262
219. Liy Y.H., Kundu R., Wu L., Luo W., Ignelzi M.A., Snead M.L., Maxson R.E. Premature suture closure and ectopic cranial bone in mice expressing Msx2 transgenes in the developing skull. Proc Nat Acad Sci, 1995; 92: 6137 - 6141
220. Lonergan P. State-of-the-art embryo technologies in cattle. Soc Reprod Fertil Suppl, 2007; 64315 – 325
221. Lopata A., Bentil-Ley U., Enders A. „Pinopodes" and implanation. Reviews in Endocrine and Metaboloc disorders, 2002; 3: 77 - 86
222. Lopes M., Goupille O., Cloment C.S., Lallemand Y., Cumano A., Robert B. Msx genes define a population of mural cell precursors required for head blood vessel maturation. Development, 2011; 138 (14): 3055 - 66
223. Lund P.K., Moats-Staats B.M., Hynes M.A., Simmons J.G., Jansen M., D'Ercole A.J., Van Wyk J.J. Somatomedin-C/insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-II mRNAs in rat fetal and adult tissues. J Biol Chem, 1986; 261 (31): 14539 – 44
224. Lundberg L.M., Alm P., Wharton J., Polak J.M. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5). A new neuronal marker visualizing the whole uterine innervation and pregnancy-induced and developmental changes in the guinea pig. Histochemistry, 1988; 90 (1): 9 - 17

225. Lyall F., Simpson H., Bulmer J.N., Barber A., Robson S.C. Transforming growth factor-beta expression in human placenta and placental bed in third trimester normal pregnancy, preeclampsia, and fetal growth restriction. Am J Pathol, 2001; 159 (5): 1827 - 1838
226. Lyons R.A., Saridogan E., Djahanbakhch O. The effect of ovarian follicular fluid and peritoneal fluid on Fallopian tube ciliary beat frequency. Hum Reprod, 2006; 21 (1): 52 - 6
227. Ma L., Yao M., Maas R.L. Genetic control of uterine receptivity during implantation. Semin Reprod Endocrinol, 1999; 17 (3): 205 – 16
228. Machado A.C., Guimarães E.M., Sakurai E., Fioravante F.C., Amaral W.N., Alves M.F. High titers of Chlamydia trachomatis antibodies in Brazilian women with tubal occlusion or previous ectopic pregnancy. Infect Dis Obstet Gynecol, 2007; 24: 816
229. Macklon N.S., Geraedts J.P., Fauser B.C. Conception to ongoing pregnancy: the'black box' of early pregnancy loss. Hum Reprod Update, 2002; 8 (4): 333 – 43
230. Maekawa T., Takeuchi S., Kanayama M., Takahashi S. Estradiol, progesterone, and transforming growth factor alpha regulate insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP3) expression in mouse endometrial cells. Zoolog Sci, 2009; 26 (2): 131-8
231. Mahadeo D., Kaplan L., Chao M.V., Hempstead B.L. High affinity nerve growth factor binding displays a faster rate of association than p140trk binding. Implications for multi subunit polypeptide receptors. J Biol Chem, 1994; 269 (9): 6884 - 6891
232. Mahata M., Mahata S.K., Fischer-Colbrie R., Winkler H. Ontogenic development and distribution of mRNAs of chromogranin A and B, secretogranin II, p65 and synaptin/synaptophysin in rat brain. Devel Brain Res,1993; 76: 43 – 58
233. Makarevich A.V., Kubovičová E., Hegedušová Z., Pivko J., Louda F. Post-thaw culture in presence of insulin-like growth factor I improves the quality of cattle cryopreserved embryos. Zygote, 2011; 8: 1 – 6
234. Malatesta, P., Hartfuss E., Gotz M. et. Isolation of radial glial cells by fluorescent-activated cell sorting reveals a neuronal lineage. Development, 2000; 127: 5253 – 63
235. Martinez-Hernandez M.G., Baiza-Gutman L.A., Castillo-Trápala A., Armant D.R. Regulation of proteinases during mouse peri-implantation development: urokinase-type plasminogen activator expression and cross talk with matrix metalloproteinase 9. Reproduction. 2011; 141 (2): 227 – 239
236. Massague J. TGF beta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins. Cell, 1996; 85 (7): 947 - 950
237. Massuto D.A., Kneese E.C., Johnson G.A., Burghardt R.C., Hooper R.N., Ing N.H., Jaeger L.A. Transforming growth factor beta (TGFB) signaling is activated during porcine implantation: proposed role for latency-associated peptide interactions with integrins at the conceptus-maternal interface. Reproduction, 2010; 139 (2): 465 - 78

238. Matsumoto K., Nakamura T. Hepatocyte growth factor: molecular structure, roles in liver regeneration, and other biological functions. Crit Rev Oncog, 1992; 3 (1-2): 27 - 54
239. McDermott K.W., Barry D.S., McMahon S.S. Role of radial glia in cytogenesis, patterning and boundary formation in thedeveloping spinal cord. J Anat, 2005; 207 (3): 241 - 50
240. McIntosh I., Bellus G.A., Jab E.W. The pleiotropic effects of fibroblast growth factor receptors in mammalian development. Cell Struct Funct, 2000; 25 (2): 85 – 96
241. McLendon R.E., Bigner D.D. Immunohistochemistry of the glial fibrillary acidic protein: basic and applied considerations. Brain Pathol, 1994; 4 (3): 221 - 8
242. Meech R., Edelman D.B., Jones F.S., Makarenkova H.P. The homeobox transcription factor Barx2 regulates chondrogenesis during limb development. Development, 2005; 132 (9): 2135 – 46
243. Meseguer M., Aplin J.D., Caballero-Campo P., O'Connor J.E., Martín J.C., Remohí J., Pellicer A., Simón C. Human endometrial mucin MUC1 is up-regulated by progesterone and down-regulated in vitro by the human blastocyst. Biol Reprod, 2001; 64 (2): 590 - 601
244. Micera A., Puxeddu I., Aloe L., Levi-Schaffer F. New insights on the involvement of nerve growth factor in allergic inflammation and fibrosis. Cytokine Growth Factor Rew, 2003; 14: 369 – 374
245. Miletich I., Buchner G., Sharpe P.T. Barx1 and evolutionary changes in feeding. J Anat, 2005; 207: 619 – 622
246. Miller F.D., Kaplan D.R. Neurotrophin signaling pathways regulating neuronal apoptosis. Cell Mol Life Sci, 2001; 58 (8): 1045 - 1053
247. Mitsiadis T.A., Mucchielli M.L., Raffo S., Proust J.P., Koopman P., Goridis C. Expression of the transcription factors Otlx2, Barx1 and Sox9 during mouse odontogenesis. Eur J Oral Sci, 1998; 106 (1): 112 – 116
248. Miyata T., Kawaguchi A., Okano H., Ogawa M. Asymmetric inheritance of radial glial fibers by cortical neurons. Neuron, 2001; 31: 727 – 741
249. Monroe D.G., Berger R.R., Sanders M.M. Tissue-protective effects of estrogen involve regulation of caspase gene expression. Mol Endocrinol. 2002; 16 (6): 1322 – 31
250. Morest D.K., Silver J. Precursors of neurons, neuroglia, and ependymal cells in the CNS: what are they? Where are they from? How do they get where they are going? Glia, 2003; 43 (1): 6 - 18
251. Moser B., Loetscher P.. Lymphocyte traffic control by chemokines. Nat Immunol, 2001; 2: 123 - 8
252. Murphy L.J., Murphy L.C., Friesen H.G. Estrogen induces insulin-like growth factor-I expression in the rat uterus. Mol Endocrinol, 1987; 1 (7): 445 - 50

253. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Cardiovasc Res 2006; 69 (3): 562 – 73
254. Nakahira R., Mizuno S., Yoshimine T., Nakamura T. The loss of local HGF, an endogenous gastrotrophic factor, leads to mucosal injuries in the stomach of mice. Biochem Biophys Res Commun, 2006; 341 (4): 897 - 903
255. Nakamura T., Nawa K., Ichihara A. Partial purification and characterization of hepatocyte growth factor from serum of hepatectomized rats. Biochem Biophys Res Commun, 1984; 122 (3): 1450 - 9
256. Nakamura T., Tomita Y., Ichihara A. Density-dependent growth control of adult rat hepatocytes in primary culture. J Biochem, 1983; 94 (4): 1029 - 35
257. Nakamura T: Structure and function of hepatocyte growth factor. Prog Growth Factor Res, 1992; 3 (1): 67 – 85
258. Nakayama J., Aoki D., Suga T., Akama T.O., Ishizone S., Yamaguchi H., Imakawa K., Nadano D., Fazleabas A.T., Katsuyama T., Nozawa S., Fukuda M.N. Implantation-dependent expression of trophinin by maternal fallopian tube epithelia during tubal pregnancies: possible role of human chorionic gonadotrophin on ectopic pregnancy. Am J Pathol, 2003; 163 (6): 2211 - 9
259. Negoescu A., Guillermet C., Lorimier P., Brambilla E., Labat-Moleur F. Importance of DNA fragmentation in apoptosis with regard to TUNEL specificity. Biomed Pharmacother, 1998; 52 (6): 252 – 8
260. Noctor S.C., Flint A.C., Weissman T.A., Wong W.S., Clinton B.K., Kriegstein A.R. Dividing precursor cells of the embryonic cortical ventricular zone have morphological and molecular characteristics of radial glia. J Neurosci, 2002; 22 (8): 3161 - 73
261. Norwitz E.R., Schust D.J., Fisher S.J. Implantation and the survival of early pregnancy. N Engl J med, 2001; 345 ; 1400 - 1408
262. Notterpek L. Neurotrophins in myelination: a new role for a puzzling receptor. Trends Neurosci. 2003; 26 (5): 232 - 4
263. Nykjaer A., Willnow T.E., Petersen C.M. p75NTR--live or let die. Curr Opin Neurobiol, 2005; 15 (1): 49 - 57
264. Ohmichi H., Koshimizu U., Matsumoto K., Nakamura T. Hepatocyte growth factor (HGF) acts as a mesenchyme-derived morphogenic factor during fetal lung development. Development, 1998; 125 (7): 1315 - 24
265. Ohmichi H., Matsumoto K., Nakamura T. In vivo mitogenic action of HGF on lung epithelial cells: pulmotrophic role in lung regeneration. Am J Physiol, 1996; 270 (6): 1031 - 9
266. Olson G.E., Winfrey V.P., Blaeuer G.L., Palisano J.R., NagDas S.K. Stage-specific expression of the intermediate filament protein cytokeratin 13 in luminal epithelial cells

of secretory phase human endometrium and peri-implantation stage rabbit endometrium. Biol Reprod, 2002; 66 (4): 1006 – 15

267. Otsuki Y. Apoptosis in human endometrium: apoptotic detection methods and signaling. Med Electron Microsc, 2001; 34 (3): 166 - 73
268. Ozkan S., Vural B., Dalçik C., Taş A., Dalçik H. Placental expression of insulin-like growth factor-I, fibroblast growth factor-basic and neural cell adhesion molecule in pregnancies with small for gestational age fetuses. J Perinatol, 2008; 28 (7): 468 - 474
269. Ozkan S**.**, Vural B**.**, Filiz S. Placental expression of insulin-like growth factor-I, fibroblast growth factor-basic, and neural cell adhesion molecule in preeclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med, 2008; 21 (11): 831 - 838
270. Palmero S., Prati M., Barreca A., Minuto F., Giordano G., Fugassa E. Thyroid hormone stimulates the production of insulin-like growth factor I (IGF-I) by immature rat Sertoli cells. Mol Cell Endocrinol, 1990; 68 (1): 61 - 5
271. Paltieli Y., Eibschitz I., Ziskind G., Ohel G., Silbermann M., Weichselbaum A. High progesterone levels and ciliary dysfunction--a possible cause of ectopic pregnancy. J Assist Reprod Genet, 2000; 17 (2): 103 - 6
272. Papathanasiou A., Djahanbakhch O., Saridogan E., Lyons R.A. The effect of interleukin-6 on ciliary beat frequency in the human fallopian tube. Fertil Steril, 2008;90 (2): 391 - 4
273. Paria B.C., Ma W., Tan J., Raja S., Das S.K., Dey S.K., Hogan B.L. Cellular and molecular responses of the uterus to embryo implantation can be elicited by locally applied growth factors. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001; 98 (3): 1047 – 52
274. Paria B.C., Reese J., Das S.K. Deciphering the cross-talk of implantation: advances and challenges. Science, 2002; 296: 2185 - 8
275. Park M.J., Kwak H.J., Lee H.C., Yoo D.H., Park I.C., Kim M.S., Lee S.H., Rhee C.H., Hong S.I. Nerve growth factor induces endothelial cell invasion and cord formation by promoting matrix metalloproteinase-2 expression through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway and AP-2 transcription factor. J Biol Chem, 2007; 282 (42): 30485 – 96
276. Parks W.C., Wilson C.L., López-Boado Y.S. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. Nat Rev Immunol. 2004; 4 (8): 617 – 29
277. Pedersen W., Samuelsen S.O., Eskild A. Abortion among young women—the importance of family environment factors and social class. Tidsskr Nor Laegeforen. 2006; 126 (13): 1734 – 7
278. Pekny M., Pekna M. Astrocyte intermediate filaments in CNS pathologies and regeneration. J Pathol, 2004; 204 (4): 428 - 37

279. Pennuto M., Bonanomi D., Benfenati F., Valtorta F. Synaptophysin I controls the targeting of VAMP2/synaptobrevin II to synaptic vesicles. Mol Biol Cell, 2003; 14 (12): 4909 - 19
280. Perez M.S., Viggiano M., Franchi A.M., Herrero M.B., Ortiz M.E., Gimeno M.F., Villalon M. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on ovum transport and oviductal smooth muscle activity in the rat oviduct. J Reprod Fertil, 2000; 188: 111 - 117
281. Peters T.J., Albieri A., Bevilacqua E., Chapman B.M., Crane L.H., Hamlin G.P., Seiki M., Soares M.J. Differentiation-dependent expression of gelatinase B/matrix metalloproteinase-9 in trophoblast cells. Cell Tissue Res. 1999; 295 (2): 287 - 296
282. Phillips L.S., Vassilopoulou-Sellin R. Somatomedins (first of two parts). N Engl J Med, 1980; 302 (7): 371 - 80
283. Piek E., Heldin C.H., Dijke P.T. Specificity, diversity, and regulation in TGF-β superfamily signalling. FASEB J, 1999; 13: 2105 – 2124
284. Pilmane M., Engelis A., Mozgis Dz. Neuropeptides in colon of children with Hirschprung disease. International Journal of Surgery in Childhood, 1999; 7 (4): 223 - 227
285. Pilmane M., Shine J., Iismaa T.P. Distribution of galanin immunoreactivity in the bronchi of humans with tuberculosis. Ann N Y Acad Sci, 1998; 863: 445 - 9
286. Pisarska M.D., Carson S.A., Buster J.E. Ectopic pregnancy. Lancet, 1998; 351: 1115 – 1120
287. Popescu L.M., Ciontea S.M., Cretoiu D. Interstitial Cajal-like cells in human uterus and fallopian tube. Ann N Y Acad Sci, 2007; 1101: 139 - 65
288. Potts D.M., Wilson I.B. The preimplantation conceptus of the mouse at 90 hours post-coitum. J Anat, 1967; 1021 -11
289. Presta M., Dell'Era P., Mitola S., Moroni E., Ronca R., Rusnati M. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis. Cytokine Growth Factor Rev, 2005; 16 (2): 159-78
290. Prime S.S., Pring M., Davies M., Paterson I.C. TGF-β signal transduction in oro - facial health and non - malignant disease (part I). Crit Rev Oral Biol Med, 2004; 15 (6): 324 – 336
291. Psychoyos A. Uterine receptivity for egg-implantation and scanning electron microscopy. Acta Eur Fertil, 1993; 24 (1): 41 - 2
292. Pustisek N., Situm M. UV-radiation, apoptosis and skin. Coll Antropol, 2011; 35 (2): 339 – 41
293. Qadir A.S., Lee H.L., Baek K.H., Park H.J., Woo K.M., Ryoo H.M., Baek J.H. Msx2 is required for TNF-α-induced canonical Wnt signaling in 3T3-L1 preadipocytes. Biochem Biophys Res Commun, 2011; 408 (3): 399 - 404

294. Qu Z., Kayton R.J., Ahmadi P., Liebler J.M., Powers M.R., Planck S.R., Rosenbaum J.T. Ultrastructural immunolocalization of basic fibroblast growth factor in mast cell secretory granules: morphological evidence for bFGF release through degranulation. J Histochem Cytochem, 1998; 46: 1119 – 1128
295. Quinn M. Uterine innervation in adenomyosis. J Obstet Gynaecol, 2007; 27 (3): 287 - 91
296. Quintar A.A., Mukdsi J.H., del Valle Bonaterra M., Aoki A., Maldonado C.A., Pérez Alzaa J. Increased expression of uteroglobin associated with tubal inflammation and ectopic pregnancy. Fertil Steril, 2008; 89 (6): 1613 – 7
297. Rabizadeh S., Bredesen D.E. Ten years on: mediation of cell death by the common neurotrophin receptor p75(NTR). Cytokine Growth Factor Rev, 2003; 14 (3-4): 225 - 39
298. Rabizadeh S., Oh J., Zhong L.T., Yang J., Bitler C.M., Butcher L.L., Bredesen D.E. Induction of apoptosis by the low affinity NGF receptor. Science, 1993; 261(5119): 345 - 348
299. Rahbek U.L., Dissing S., Thomassen C., Hansen A.J., Tritsaris K. Nerve growth factor activates aorta endothelial cells causing PI3K/Akt- and ERK-dependent migration. Pflugers Arch, 2005; 450 (5): 355 - 361
300. Rajaraman G., Murthi P., Brennecke S.P., Kalionis B. Homeobox gene HLX is a regulator of HGF/c-met-mediated migration of human trophoblast-derived cell lines. Biol Reprod, 2010; 83 (4): 676 – 83
301. Redon R, Baujat G, Sanlaville D, Le Merrer M, Vekemans M, Munnich A, Carter NP, Cormier-Daire V, Colleaux L. Interstitial 9q22.3 microdeletion: clinical and molecular characterisation of a newly recognised overgrowth syndrome. Eur J Hum Genet, 2006; 14 (6): 759 – 67
302. Refaat B., Amer S., Ola B., Chapman N., Ledger W. The expression of activin-betaA-and -betaB-subunits, follistatin, and activin type II receptors in fallopian tubes bearing an ectopic pregnancy. J Clin Endocrinol Metab, 2008; 93 (1): 293 - 9
303. Remotti F., Fetsch J.F., Miettinen M. Keratin 1 expression in endothelia and mesenchymal tumors: an immunohistochemical analysis of normal and neoplastic tissues. Hum Pathol, 2000; 32 (8): 873 - 9
304. Revel A., Ophir I., Koler M., Achache H., Prus D. Changing etiology of tubal pregnancy following IVF. Hum Reprod, 2008; 23 (6): 1372 – 6
305. Rincon M., Muzumdar R., Atzmon G., Barzilai N. The paradox of the insulin/IGF-1 signaling pathway in longevity. Mech. Ageing Dev, 2005; 125 (6): 397 – 403
306. Riveles K., Roza R., Arey J., Talbot P. Pyrazine derivatives in cigarette smoke inhibit hamster oviductal functioning. Reprod Biol Endocrinol, 2004; 2: 23
307. Roberts A.B., Spon M.B. Physiological actions and clinical application of transforming factor beta (TGF-beta). Growth Factors, 1993; 8 (1): 1 - 9

308. Royds J.A., Ironside J.W., Taylor C.B., Graham D.I., Timparley W.R. An immuno-histochemical study of glial and neuronal markers in primary neoplasma of the central nervous system. Acta Neuropathol, 1986; 70 : 320 - 6
309. Rusnati M., Casarotti G., Pecorelli S., Ragnotti G., Bresta M. Basic fibroblast growth factor in ovulatory cycle and postmenopausal human endometrium. *Growth Factors*, 1990; **3**: 299–307
310. Sakkas D., Lu C., Zulfikaroglu E., Neuber E., Taylor H.S. A soluble molecule secreted by human blastocysts modulates regulation of HOXA10 expression in an epithelial endometrial cell line. Fertil Steril, 2000; 80 (5): 1169 - 74
311. Salamonsen L.A., Nie G. Proteases at the endometrial-trophoblast interface: their role in implantation. Rev Endocr Metab Disord, 2002; 3 (2): 133 - 43
312. Salamonsen L.A., Shuster S., Stern R. Distribution of hyaluronan in human endometrium across the menstrual cycle. Implications for implantation and menstruation. Cell Tissue Res, 2001; 306 (2): 335 - 40
313. Salas C., Julio-Pieper M., Valladares M., Pommer R., Vega M., Mastronardi C., Kerr B., Ojeda S.R., Lara H.E., Romero C. Nerve growth factor-dependent activation of trkA receptors in the human ovary results in synthesis of follicle-stimulating hormone receptors and estrogen secretion. J Clin Endocrinol Metab, 2006; 91 (6): 2396 – 403
314. Samathanam C.A., Adesanya O.O., Zhou J., Wang J., Bondy C.A. Fibroblast growth factors 1 and 2 in the primate uterus. Biol Reprod, 1998; 59 (3): 491-6
315. Samuelson U.E., Sjöstrand N.O. Myogenic and neurogenic control of electrical and mechanical activity in human oviductal smooth muscle. Acta Physiol Scand, 1986; 126 (3): 355 - 63
316. Sarnat H.B. Histochemistry and immunocytochemistry of the developing ependyma and choroids plexus. Microsc Res Tech, 1998; 41 (1): 14 - 28
317. Sato J., Segami N., Yoshitake Y., Nishikawa K. Correlations of the expression of fibroblast growth factor – 2, vascular endothelial growth factor, and their receptors with angiogenesis in synovial tissues from patients with internal derangement of the temporomandibular joint. J Dent Res, 2003; 82 (4): 272 – 277
318. Savaris R.F., da Silva L.C., Moraes G.S., Edelweiss M.I. Expression of MUC 1 in tubal pregnancy. Fertil Steril, 2008; 89: 115 - 1017
319. Schäfer M.K.-H., Nohr D., Romeo H., Eiden L.E., Weihe E. Pan-neuronal expression of chromogranin A in rat nervous system. *Peptides*, 1994; 15: 263 – 79
320. Schlueter P.J., Peng G., Westerfield M., Duan C. Insulin-like growth factor signaling regulates zebrafish embryonic growth and development by promoting cell survival and cell cycle progression. Cell Death Differ, 2007; 14: 1095 – 1105

321. Schneider J.J., Unholzer A., Schaller M. Human defensins. J Mol Med, 2005; 83 (8): 587 - 95
322. Schröder J.M., Wang J.M., Howard O.M., Oppenheim J.J. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. Science, 1999; 286 (5439): 525 - 8
323. Schweizer J., Bowden P.E., Coulombe P.A., Langbein L., Lane E.B., Magin T.M., Maltais L., Omary M.B., Parry D.A., Rogers M.A., Wright M.W. New consensus nomenclature for mammalian keratins. J Cell Biol, 2006; 174 (2): 169 - 174
324. Sengupta J., Dhawan L., Lalitkumar P.G., Ghosh D. A multiparametric study of the action of mifepristone used in emergency contraception using the Rhesus monkey as a primate model. Contraception, 2003; 68: 453 – 469
325. Seval Y., Akkoyunlu G., Demir R., Asar M. Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy. Acta Histochem, 2004; 106 (5): 353 – 62
326. Shafik A., Shafik A.A., El Sibai O., Shafik I.A. Specialized pacemaking cells in the human Fallopian tube. Mol Hum Reprod, 2005; 11 (7): 503 - 5
327. Shao R., Weijdegard B., Ljungstrom K., Friberg A., Zhu C., Wang X., Zhu Y., Fernandez-Rodriguez J., Egecioglu E., Rung E., Billig H. Nuclear progesterone receptor A and B isoforms in mouse fallopian tube and uterus: implications for expression, regulation, and cellular function. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2006; 291 (1): E59 – 72
328. Shaw J.L., Denison F.C., Evans J., Durno K., Williams A.R., Entrican G., Critchley H.O., Jabbour H.N., Horne A.W. Evidence of prokineticin dysregulation in fallopian tube from women with ectopic pregnancy. Fertil Steril, 2010; 94 (5): 1601 - 8
329. Shi Z., Arai K.Y., Jin W., Weng Q., Watanabe G., Suzuki A.K., Taya K. Expression of nerve growth factor and its receptors NTRK1 and TNFRSF1B is regulated by estrogen and progesterone in the uteri of golden hamsters. Biol Reprod, 2006; 74 (5): 850 – 6
330. Shiotani M., Noda Y., Mori T. Embryo dependent induction of uterine receptivity assesed by an in vitro model of implantãtion in mice. Biol Reprod, 1993; 49: 794 – 801
331. Simpson H., Robson S.C., Bulmer J.N., Barber A., Lyall F. Transforming growth factor beta expression in human placenta and placental bed during early pregnancy. Placenta, 2002; 23 (1): 44 - 58
332. Sisson T.H., Nguyen M.H., Yu B., Novak M.L., Simon R.H., Koh T.J. Urokinase-type plasminogen activator increases hepatocyte growth factor activity required for skeletal muscle regeneration. Blood, 2009; 114 (24): 5052 - 61

333. Slee E.A., Adrain C., Martin S.J. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. J Biol Chem, 2001; 276 (10): 7320 - 6
334. Snider W. D. Functions of the neurotrophins during nervous system development: what the knockouts are teaching us. Cell, 1994; 77: 627 – 638
335. Solomon A., Luigi A., Pe'er J., Frucht-Pery, Bonini S., Bonini S., Levi-Schaffer F. Nerve growth factor is preformed in and activates human peripheral blood eosinophils. J Allergy Clin Immunol, 1998; 102: 454 – 460
336. Somogyi P., Hodgson A.J., DePotter R.W., Fischer-Colbrie R., Schober M., Winkler H., Chubb I.W. Chromogranin immunoreactivity in the central nervous system. Immunochemical characterisation, distribution and relationship to catecholamine and enkephalin pathways. Brain Res Rev, 1984; 8: 193 – 230
337. Sonar S., Schwinge D., Kilic A., Yildirim A., Achenbach S., Fehrenbach H., Nockher A., Renz H. NGF (nerve growth factor): a key player in events ensuing lung epithelium injury and repair. J Allergy Clin Immunol, 2007; S300
338. Srivastava M.D., Lippes J., Srivastava B.I. Hepatocyte growth factor in human milk and reproductive tract fluids. Am J Reprod Immunol, 1999; 42 (6): 347-54
339. Stoikos C.J., Harrison C.A., Salamonsen L.A., Dimitriadis E. A distinct cohort of the TGF beta superfamily members expressed in human endometrium regulate decidualization. Hum Reprod, 2008; 23 (6): 1447 - 1456
340. Strandell A., Thorburn J., Hamberger L. Risk factors for ectopic pregnancy in assisted reproduction. Fertil Steril, 1999; 71 (2): 282 - 6
341. Sudhof T.C., Lottspeich F., Greengard P., Mehl E., Jahn R. The cDNA and derived amino acid sequences for rat and human synaptophysin. Nucleic Acids Res, 1987; **15** (22): 9607
342. Sun Y., Zhang D., Wang C.F., Hu S.W., Lan Z. The expression and significance of TGF-beta 1 and its receptors in infertile women's fimbriae tubes with adhesions and atresias. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban, 2009; 40 (3): 435-8
343. Tabibzadeh S., Babaknia A. The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. Hum Reprod, 1995; 10 (6): 1579 - 602
344. Takahashi C., Akiyama N., Matsuzaki T., Takai S., Kitayama H., Noda M. Characterization of a human MSX-2 cDNA and its fragment isolated as a transformation suppressor gene against v-Ki-ras oncogene. Oncogene. 1996; 12 (10): 2137 – 46
345. Takai K., Hara J., Matsumoto K., Hosoi G., Osugi Y., Tawa A., Okada S., Nakamura T. Hepatocyte growth factor is constitutively produced by human bone marrow stromal cells and indirectly promotes hematopoiesis. Blood, 1997; 89 (5): 1560 - 5

346. Talbot P., Riveles K. Smoking and reproduction: the oviduct as a target of cigarette smoke. Reprod Biol Endocrinol, 2005; 3: 52
347. Tardy M., Fages C., Le Prince G., Rolland B., Nunez J. Regulation of the glial fibrillary acidic protein (GFAP) and of its encoding mRNA in the developing brain and in cultured astrocytes. Adv Exp Med Biol 1990; 265: 41 – 52
348. Taupenot L., Harper K.L., O'Connor D.T. The chromogranin–secretogranin family. N Eng J Med, 2003; 348: 1134 – 1149
349. Tay J.I., Moore J., Walker J.J. Ectopic pregnancy. Br Med J, 2000; 20: 916 – 919
350. Taylor A.H., Ang C., Bell S.C., Konje J.C. The role of the endocannabinoid system in gametogenesis, implantation and early pregnancy. Hum Reprod Update, 2007; 13 (5): 501 – 13
351. Teibe U. un Berķis U. Varbūtības teorijas un matemātiskās statistikas elementi medicīnas studentiem. Rīga, AML/RSU, 2001
352. Thompson R.J., Doran J.F., Jackson P., Dhillon A.P., Rode J. PGP 9.5 – a new marker for vertebrate neurons and neuroendocrine cells. Brain Res, 1983; 278 (1 - 2): 224 – 228
353. Thompson S.J. A monoclonal antibody against nerve growth factor receptor: Immunohistochemical analysis of normal and neoplastic human tissue. Amer J Clin Pathol, 1989; 92 (4): 415
354. Tischler A.S. Chromaffin cells as models of endocrine cells and neurons. Ann N Y Acad Sci, 2002; 971: 366 - 70
355. Tissier-Seta J.P., Mucchielli M.L., Mark M., Mattei M.G., Goridis C., Brunet J.F. Barx1, a new mouse homeodoinant transcription factor expressed in cranio-facial ectomesenchyme and the stomach. Mech Dev, 1995; 51: 3 - 15
356. Tobin G., Luts A., Sundler F., Ekström J. Peptidergic innervation of the major salivary glands of the ferret. Peptides, 1990; 11: 863 - 867
357. Tometten M., Blois S., Arck P. Nerve Growth Factor in Reproductive Biology: Link between the Immune, Endocrine and Nervous System? Chem Immunol Allergy, 2005; 89: 135 - 148
358. Tonello A., Poli G. Tubal ectopic pregnancy: macrophages under the microscope. Hum Reprod, 2007; 22 (10): 2577 - 84
359. Toti P., Ciarmela P., Florio P., Volpi N., Occhini R., Petraglia F. Human placenta and fetal membranes express nerve growth factor mRNA and protein. J Endocrinol Invest, 2006; 29 (4): 337 - 41
360. Totzauer I., Amselgruber W., Sinowatz F., Gratzl M. Early expression of chromogranin A and tyrosine hydroxylase during prenatal development of the bovine adrenal gland. Anatomy and Embryology, 1995; 191: 139 – 143

361. Tucker A.S., Matthews K.L., Sharpe P.T. Transformation of tooth type induced by inhibition of BMP signaling. Science, 1998; 282: 1136 - 1138
362. Ulziibat S., Ejima K., Shibata Y., Hishikawa Y., Kitajima M., Fujishita A., Ishimaru T., Koji T. Identification of estrogen receptor beta-positive intraepithelial lymphocytes and their possible roles in normal and tubal pregnancy oviducts. Hum Reprod, 2006; 21 (9): 2281 - 9
363. Urhausen C., Beineke A., Piechotta M., Karre I., Beyerbach M., Günzel-Apel A.R. Apoptosis in the uterotubal junction and oviductal isthmus during the estrous cycle of the bitch. Anat Rec (Hoboken), 2011; 294 (2): 342 – 8
364. Uvnäs B., Aborg C.-H. The ability of ATP-free granule material from bovine adrenal medulla to bind inorganic cations and biogenic amines. *Acta Physiol Scand,* 1977; 99: 476 – 83
365. Van Winterswijk P.J., Nout E. Tissue engineering and Wound healing: an overview of the past, present, and future. Wounds, 2007; 19 (10): 277 – 284
366. Varma R., Gupta J. Tubal ectopic pregnancy. Clin Evid, 2009; Pii: 1406
367. Vaskivuo T.E., Stenback F., Karhumaa P., Risteli J., Dunkel L., Tapanainen J.S. Apoptosis and apoptosis-related proteins in human endometrium. Mol Cell Endocrinol, 2000; 165: 75 – 83
368. Vasquez G., Winston R.M., Brosens I.A. Tubal mucosa and ectopic pregnancy. Br J Obstet Gynaecol, 1983; 90 (5): 468 - 74
369. Vassiliadou N., Bulmer J.N. Characterization of tubal and decidual leukocyte populations in ectopic pregnancy: evidence that endometrial granulated lymphocytes are absent from the tubal implantation site. Fertil Steril, 1998; 69 (4): 760 - 7
370. Vento G., Tirone C., Aurilia C., Tana M., Piras A., Lio A., Tesfagabir G., Castagnola M., Fanali C., Romagnoli C. Proteomics and neonatal infection. Minerva Pediatr, 2010; 62 (3): 47 – 9
371. Vesa J., Kruttgen A., Cosgaya J.M., Shooter E.M: Palmitoylation of the p75 neurotrophin receptor has no effect on its interaction with TrkA or on TrkA mediated down regulation of cell adhesion molecules. J. Neurosci. Res, 2000; 62: 225 - 233
372. Villa P., Kaufmann S.H., Earnshaw W.C. Caspases and caspase inhibitors. TIBS, 1997; 22: 388 – 393
373. Vilovic K., Sapunar D., Ilijic E., Mimica M.D., England M.A., Sagara-Babic M. Morphological characteristics of dying cells in axial structures of developing human embryos. Cells Tissues Organs, 2001; 169 (4): 347 - 54
374. Vincent T., Saklatvala J. Basic fibroblast growth factor: an extracellular mechanotransducer in articular cartilage? Biochem Soc Trans, 2006; 34 (13): 456 – 457

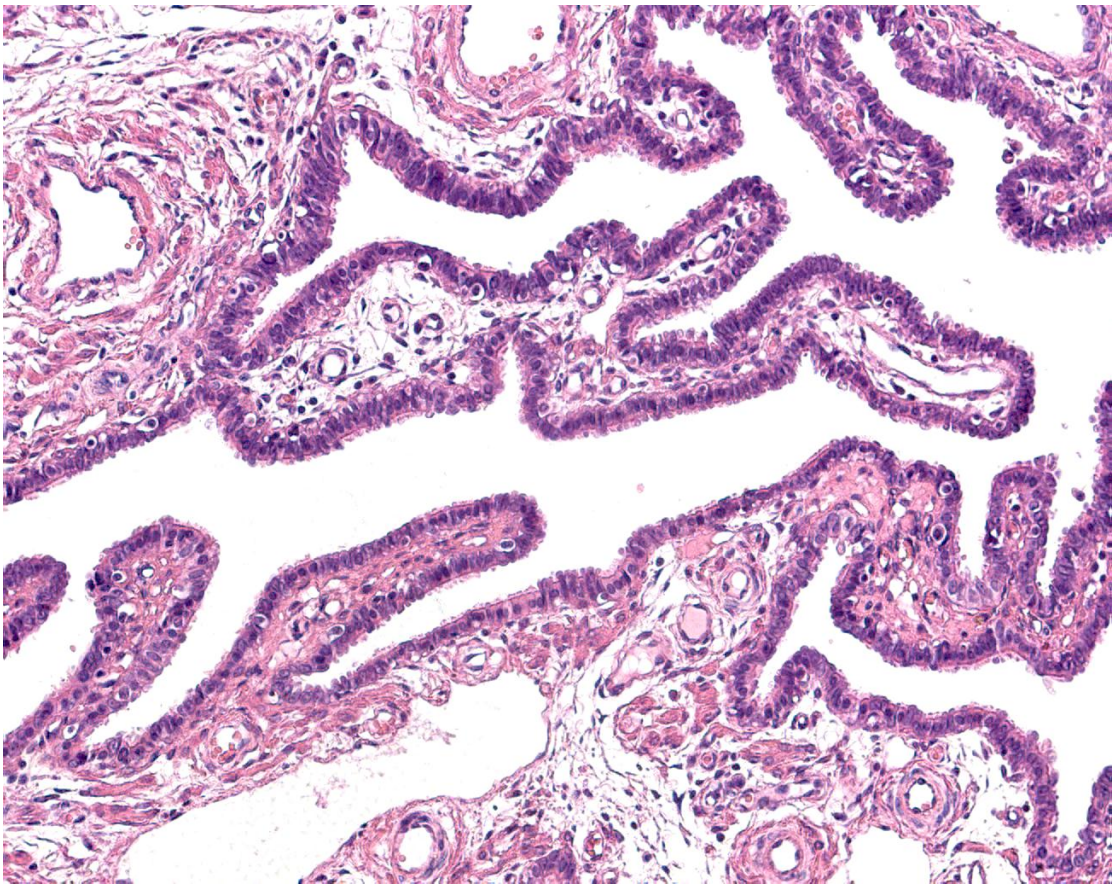
375. von Rango U., Alfer J., Kertschanska S., Kemp B. Interleukin-11 expression: its significance in eutopicand ectopic human implantation. Mol Hum Reprod, 2004; 10 (11): 783 - 92
376. von Rango U., Classen-Linke I., Kertschanska S., Kemp B., Beier H.M. Effects of trophoblast invasion on the distribution of leukocytes in uterine and tubal implantation sites. Fertil Steril, 2001; 76 (1): 116 - 24
377. Wakitani S., Imoto K., Kimura T., Ochi T., Matsumoto K., Nakamura T. Hepatocyte growth factor facilitates cartilage repair. Full thickness articular cartilage defect studied in rabbit knees. Acta Orthop Scand, 1997; 68 (5): 474 - 80
378. Walker J.J. Ectopic pregnancy. Clin Obstet Gynecol, 2007; 50: 89 – 99
379. Walsh J.G., Cullen S.P., Sheridan C., Lüthi A.U., Gerner C., Martin S.J. Executioner caspase-3 and caspase-7 are functionally distinct proteases. Proc Natl Acad Sci USA, 2008; 105 (35): 12815 - 9
380. Walters M.D., Eddy C.A., Gibbs R.S., Schachter J., Holden A.E., Pauerstein C.J. Antibodies to Chlamydia trachomatis and risk for tubal pregnancy. Am J Obstet Gynecol, 1988; 159 (4): 942 - 6
381. Wang J.K. Fibroblast growth factor receptor has different signaling and mitogenic potentials. Mol Cell Biol, 1994; 14: 181 - 188
382. Wang W., Jia H., Zhang H., Chen Q., Zhang T., Bai Y., Yuan Z. Abnormal innervations patterns in the anorectum of ETU-induced fetal rats with anorectal malformations. Neurosci Lett, 2011; 495 (2): 88 – 92
383. Wånggren K., Stavreus-Evers A., Olsson C., Andersson E., Gemzell-Danielsson K. Regulation of muscular contractions in the human Fallopian tube through prostaglandins and progestagens. Hum Reprod 2008; 23 (10): 2359 - 68
384. Waylen A.L., Metwally M., Jones G.L., Wilkinson A.J., Ledger W.L. Effects of cigarette smoking upon clinical outcomes of assisted reproduction: a meta-analysis. Hum Reprod Update, 2009; 15 (1): 31 -44
385. Weigert M., Gruber D., Pernicka E., Bauer P., Feichtinger W. Previous tubal ectopic pregnancy raises the incidence of repeated ectopic pregnancies in in vitro fertilization-embryo transfer patients. J Assist Reprod Genet, 2009; 26 (1): 13 - 7
386. Weiler R., Marksteiner J., Bellman R., Wohlfarter T., Schober M., Fischer-Colbrie R., Sperk G., Winkler H. Chromogranins in rat brain: characterization, topographical distribution and regulation of synthesis. *Brain Res,* 1990; 532: 87 – 94
387. Welker P., Grabbe J., Grützkau A., Henz B.M. Effects of nerve growth factor (NGF) and other fibroblast-derived growth factors on immature human mast cells (HMC-1). Immunology. 1998; 94: 310 – 317

388. Welter H., Wollenhaupt K., Einspanier R.. Developmental and hormonal regulated gene expression of fibroblast growth factor 2 (FGF-2) and its receptors in porcine endometrium. J Steroid Biochem Mol Biol, 2004; 88 (3): 295-304
389. Wick M.R. Immunohistology of neuroendocrine and neuroectodermal tumors. Semin Diagn Pathol, 2000; 17 (3): 194 - 203
390. Wiedenmann B., Franke W.W. Identification and localization of synaptophysin, an intedral membrane glycoprotein of Mr 38,000 charakteristics of presynaptic vesicles. Cell, 1985; 41: 1017 – 28
391. Wolner-Hanssen P., Eschenbach D.A., Paavonen J., Kiviat N., Stevens C.E., Critchlow C., DeRouen T., Holmes K.K. Decreased risk of symptomatic chlamydial pelvic inflammatory disease associated with oral contraceptive use. JAMA. 1990 ;263 (1): 54 - 59
392. Woo J., Miletich I., Kim B.M., Sharpe P.T., Shivdasani R.A. Barx1-mediated inhibition of wnt signaling in the mouse thoracic foregut controls tracheo-esophageal septation and epithelial differentiation. PLoS One, 2011; 6 (7): 22493
393. Wordinger R.J., Smith K.J., Bell C., Chang I.F. The immunolocalization of basic fibroblast growth factor in the mouse uterus during the initial stages of embryo implantation. Growth Factors, 1994; 11 (3): 175-86
394. Wyatt L., Wadham C., Crocker L.A., Lardelli M., Khew-Goodall Y. The protein tyrosine phosphatase Pez regulates TGFβ, epithelial-mesenchymal transition, and organ development. J Cell Biol, 2007; 178 (7): 1223 – 1235
395. Xiong X., Buekens P., Wollast E. IUD use and the risk of ectopic pregnancy: a meta-analysis of case-control studies. Contraception, 1995; 52 (1): 23-34
396. Xu P., Wang Y., Piao Y., Bai S., Xiao Z., Jia Y., Luo S., Zhuang L. Effects of matrix proteins on the expression of matrix metalloproteinase-2, -9, and -14 and tissue inhibitors of metalloproteinases in human cytotrophoblast cells during the first trimester. Biol Reprod, 2001; 65 (1): 240 - 6
397. Yamashita T., Fujitani M., Hata K., Mimura F., Yamagishi S. Diverse functions of the p75 neurotrophin receptor. Anat Sci Int, 2005; 80 (1): 37 - 41
398. Yang D., Chertov O., Bykovskaia S.N., Chen Q., Buffo M.J., Shogan J., Anderson M., Schröder J.M., Wang J.M., Howard O.M., Oppenheim J.J. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. Science, 1999; 286 (5439): 525 – 8
399. Yang V.C., Piek E., Zavadil J. Hierarchical model of gene regulation of transforming factor beta. Cell Biol, 2003; 100 (18): 10269 - 10274
400. Ye P., D'Ercole A.J. Insulin-like growth factor actions during development of neural stem cells and progenitors in the central nervous system. Neurosci Res, 2006; 83 (1): 1 - 6

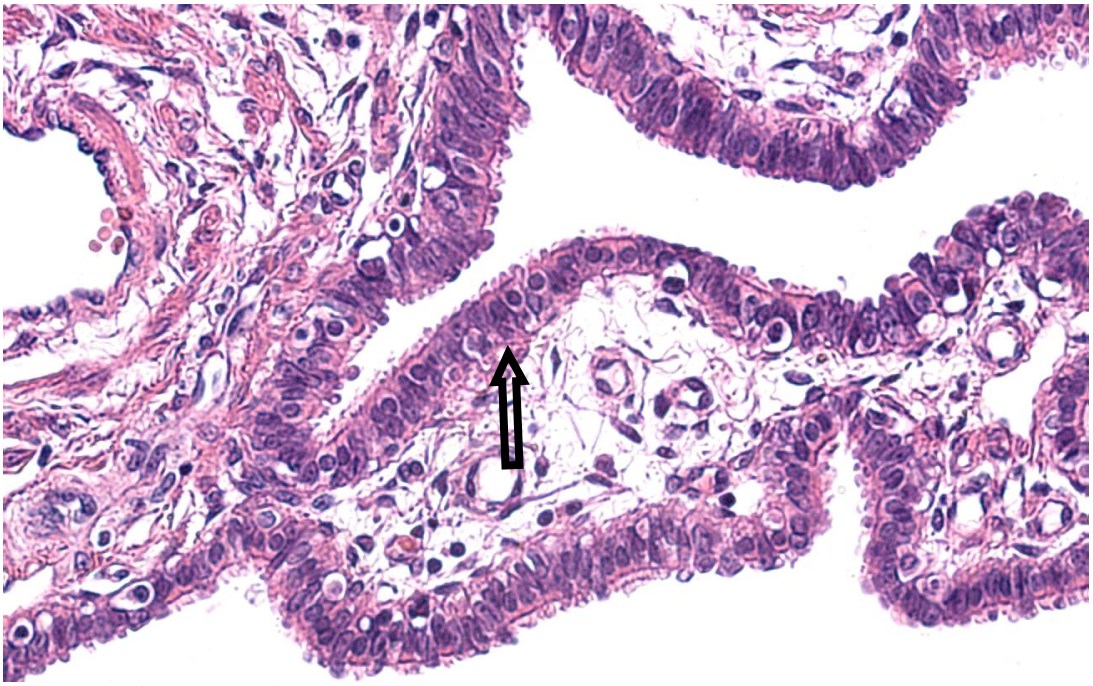
401. Yigiter A.B., Kavak Z.N., Durukan B., Isci H., Uzuner A., Uyar E., Gokaslan H. Placental volume and vascularization flow indices by 3D power Doppler US using VOCAL technique and correlation with IGF-1, free beta-hCG, PAPP-A, and uterine artery Doppler at 11-14 weeks of pregnancy. J Perinat Med, 2011; 39 (2): 137-41
402. Yin F., Guo L., Lu R.F., Zhu Q.S. Spontaneous differentiation of porcine neural progenitors in vitro. Cytotechnology, 2011; 63 (4): 363 – 70
403. Yoshida S., Yamaguchi Y., Itami S., Yoshikawa K., Tabata Y., Matsumoto K., Nakamura Y. Neutralization of hepatocyte growth factor leads to retarded cutaneous wound healing associated with decreased neovascularization and granulation tissue formation. J Invest Dermatol, 2003; 120 (2): 335 - 43
404. Yu W., Ruest L.B., Svoboda K.K.H. Regulation of epithelial – mesenchymal transition in palate fusion. Experimental biology and medicine, 2009, 234: 483 – 491
405. Yu X.Y., Song Y.H., Geng Y.J., Lin Q.X., Shan Z.X., Lin S.G., Li Y. Glucose induces apoptosis of cardiomyocytes via microRNA-1 and IGF-1. Biochem Biophys. Res Commun, 2008; 376 (3): 548 - 552
406. Zakaria R., Rajikin M.H., Yaacob N.S., Nor N.M. Immunolocalization of insulin-like growth factors and their receptors in the diabetic mouse oviduct and uterine tissues during the preimplantation period. Acta Histochem, 2009; 111 (1): 52-60
407. Zavadil J., Boettinger E.P. TGF-β and epithelial-to mesenchymal transitions. Oncogene, 2005; 24: 5764 – 5774
408. Zhang D. Dual regulation of MMP-2 expression by the type 1 insulin-like growth factor receptor: the phosphatidylinositol 3- kinase/Akt and Raf/ERK pathways transmit opposing signals. J Biol Chem, 2004; 279 (19): 19683 - 19690
409. Zhang G.H., Ichimura T., Wallin A., Kan M., Stevens J.L. Regulation of rat proximal tubule epithelial cell growth by fibroblast growth factors, insulin-like growth factor-1 and transforming growth factor-beta, and analysis of fibroblast growth factors in rat kidney. J Cell Physiol, 1991; 148 (2): 295 – 305
410. Zhang X. Hepatocyte growth factor system in the mouse uterus: variation across the estrous cycle and regulation by 17-beta-estradiol and progesterone. Biol Reprod, 2010; 82 (6): 1037-48
411. Zhao Y., Chegini N., Flanders K.C. Human fallopian tube expresses transforming growth factor (TGF beta) isoforms, TGF beta type I-III receptor messenger ribonucleic acid and protein, and contains [125I] TGF beta-binding sites. J Clin Endocrinol Metab, 1994; 79 (4): 1177-84
412. Ziganshin A.U., Vafina Z.R., Fatkullin I.F. Pharmacological characterization of P2-receptors in human fallopian tubes. Bull Exp Biol Med, 2004; 137 (3): 242 - 5

413. Zygmunt M., Herr F., Münstedt K., Lang U., Liang O.D. Angiogenesis and vasculogenesis in pregnancy. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2003; 22 (110): 10 – 18

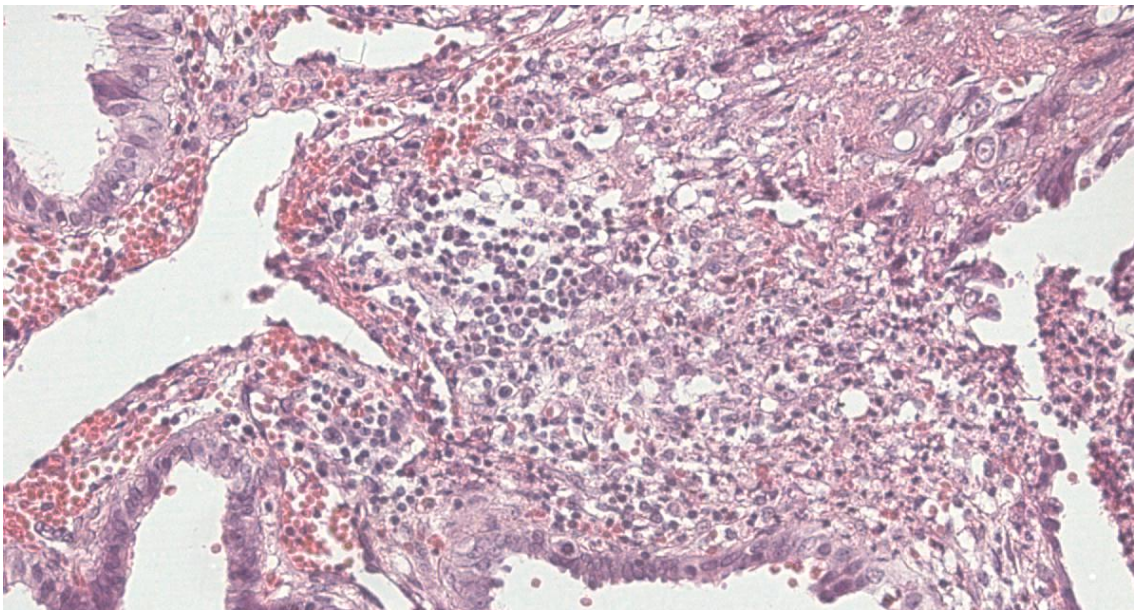
PIELIKUMS



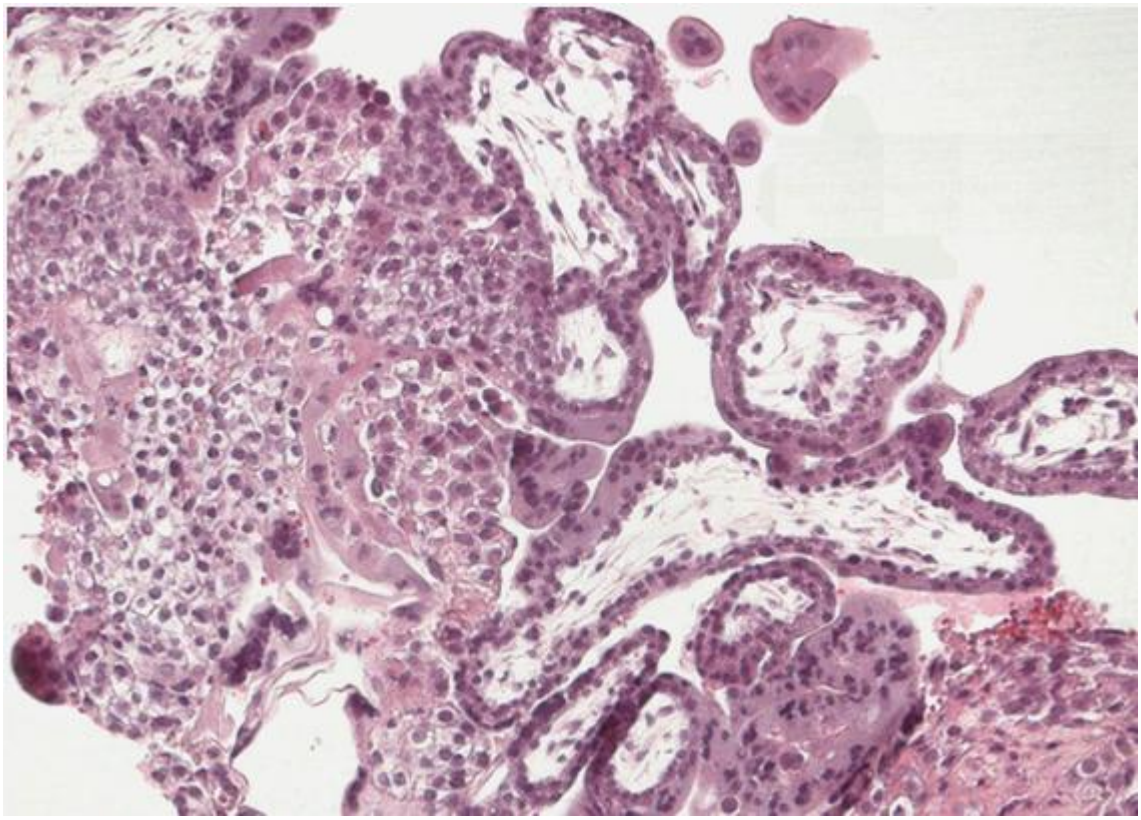
3.1. attēls. Olvada grūtniecības gadījumā novēro tūskainas un izteikti zarotas olvada bārkstiņas. Hematoksilīns un eozīns x200.



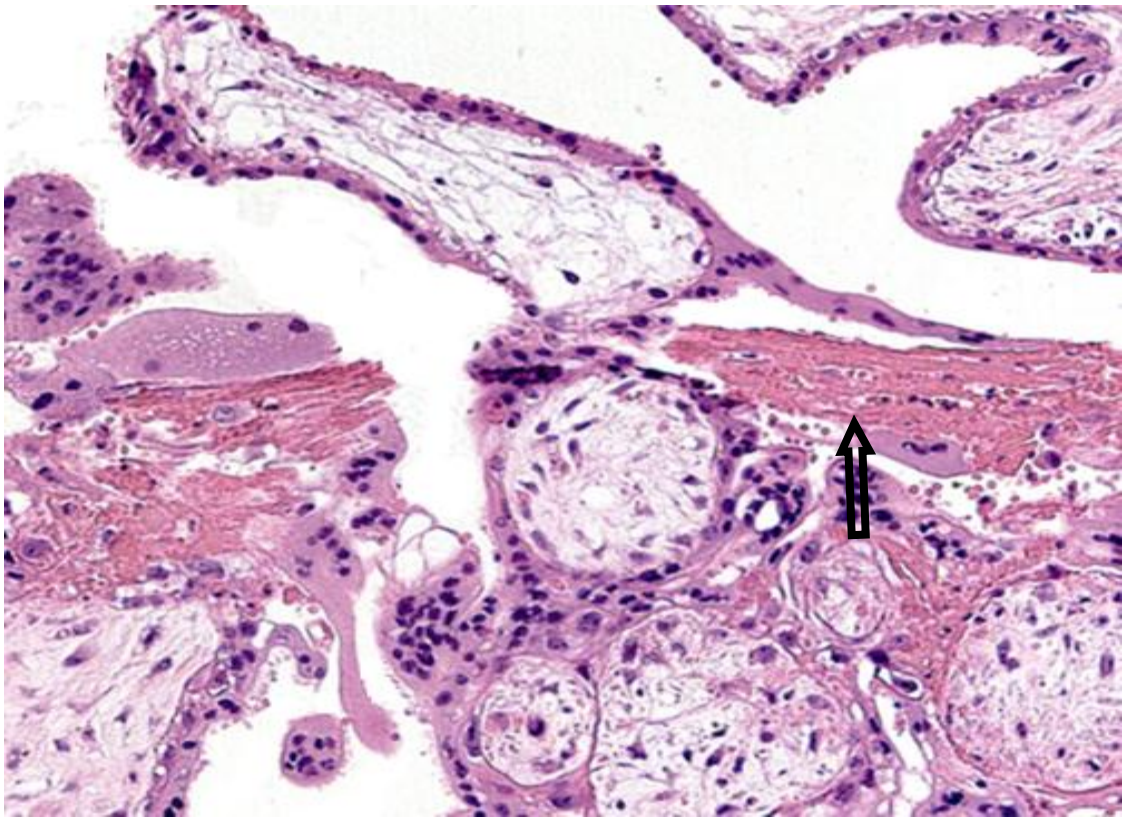
3.2. attēls. Izteikti zarotas olvada bārkstiņas un bazālo epiteliocītu proliferācija (bultiņa) redzama ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā. Hematoksilīns un eozīns x400.



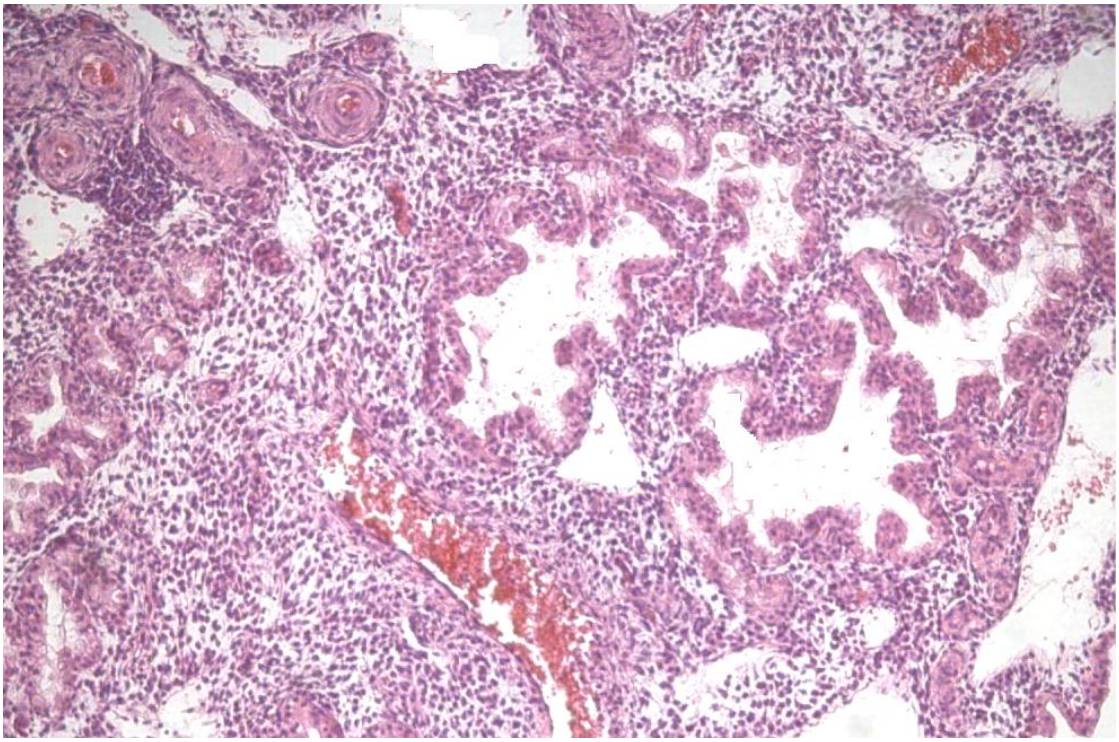
3.3. attēls. Olvadu gļotādas saistaudos redzama dažādas pakāpes limfocītu, leikocītu, makrofāgu infiltrāciju un asins kapilāru pilnasinību. Hematoksilīns un eozīns x250.



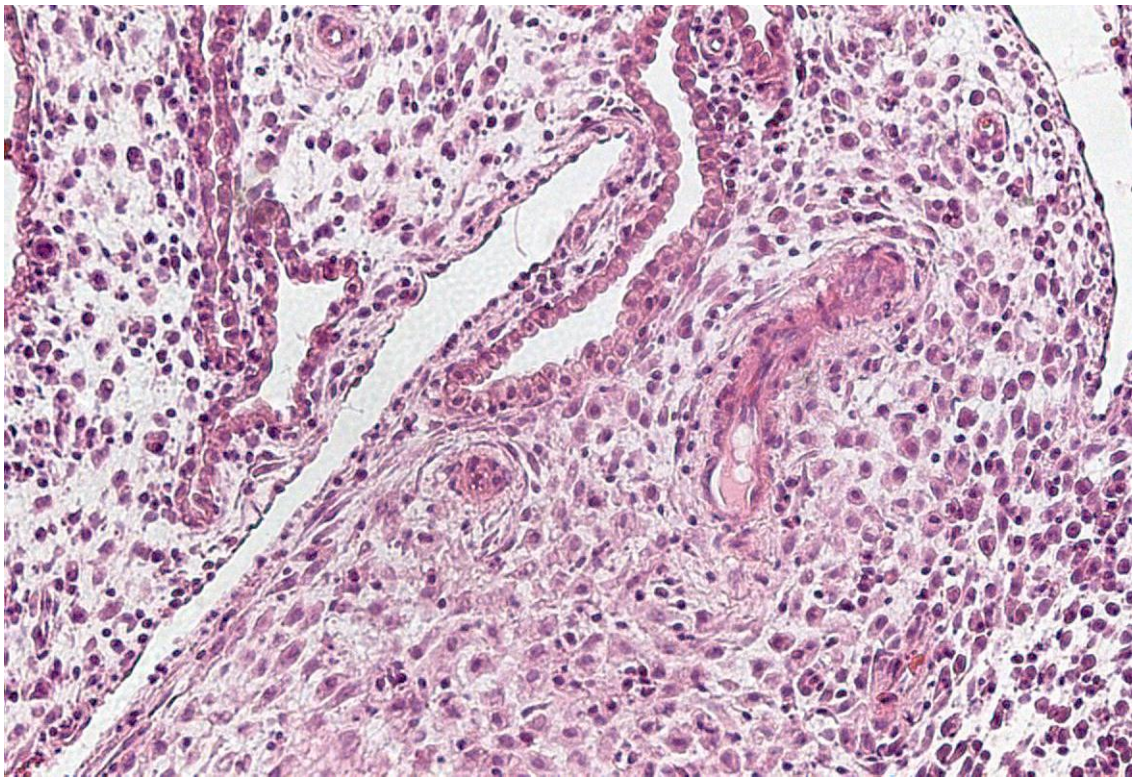
3.4. attēls. Olvada *lamina propria* atrodamas perifērā trofoblasta šūnas un horija bārkstiņas. Hematoksilīns un eozīns x250.



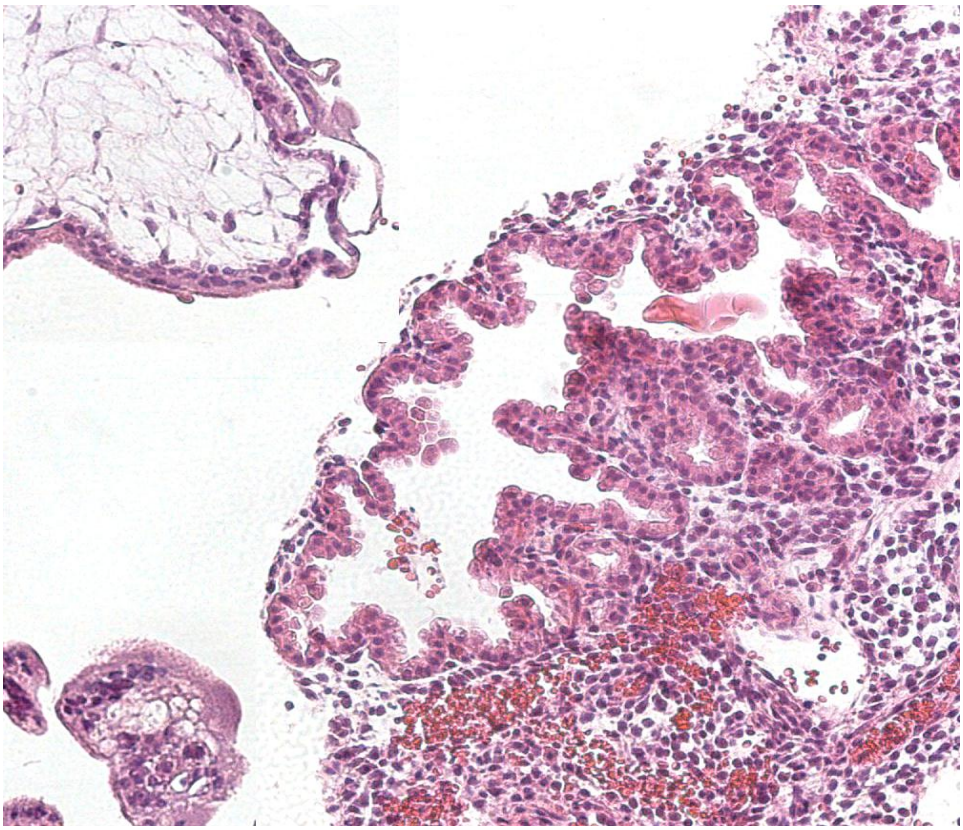
3.5. attēls. Attēlā redzamas olvada sienā ieaugušas horija bārkstiņas un fibrinoīda nogulsnējumi (bultiņa). Hematoksilīns un eozīns x200.



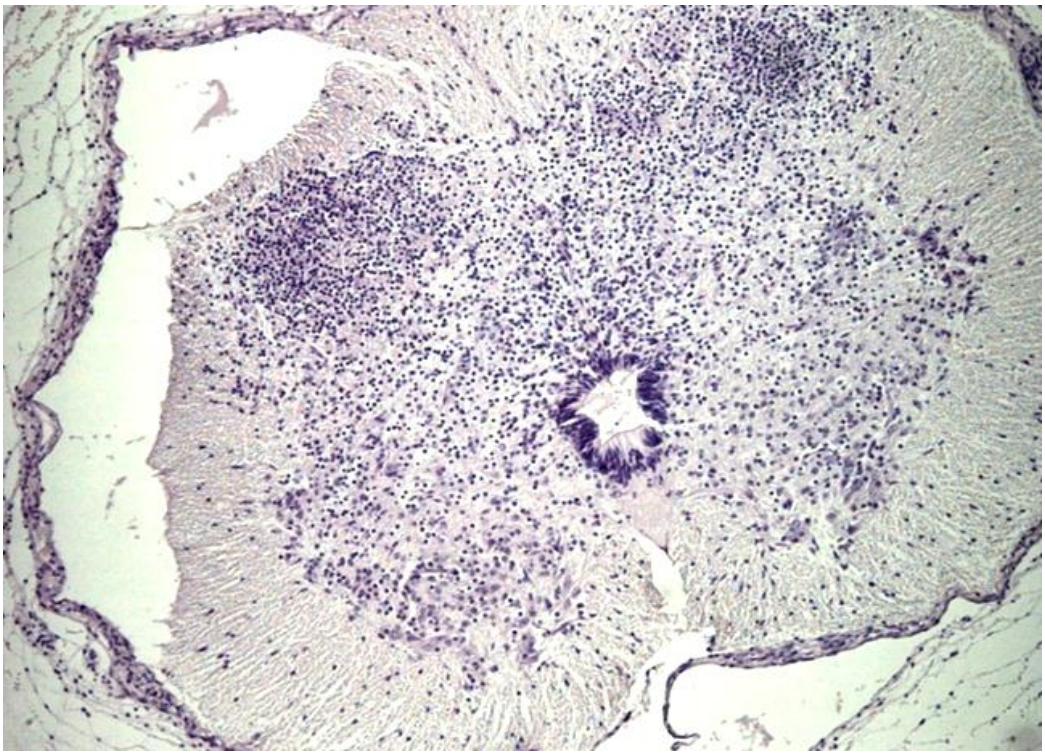
3.6. attēls. Attēlā redzamas paplašinātas zigzagveidīgi izlocītas dzemdes kriptas. Hematoksilīns un eozīns x100.



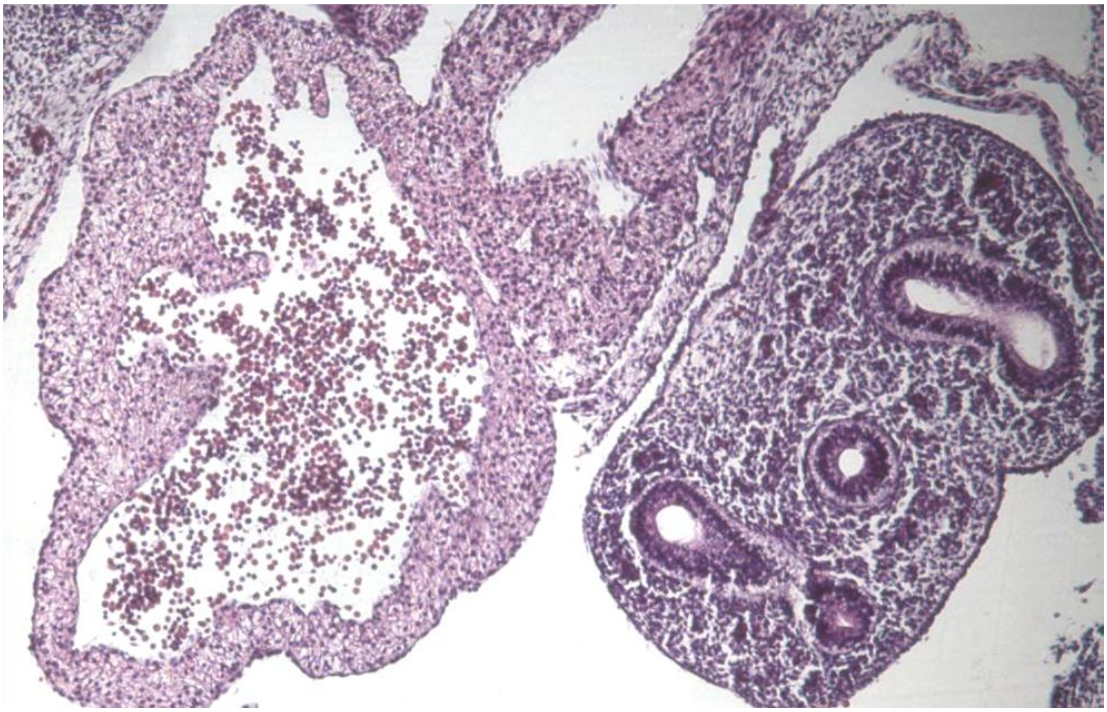
3.7. attēls. Atlobenē redzamas perifērā trofoblasta un iekaisuma šūnas. Hematoksilīns un eozīns x200.



3.8. attēls. Attēla redzamās horija bārkstiņas liecina par grūtniecības lokalizāciju dzemdē. Hematoksilīns un eozīns x200.

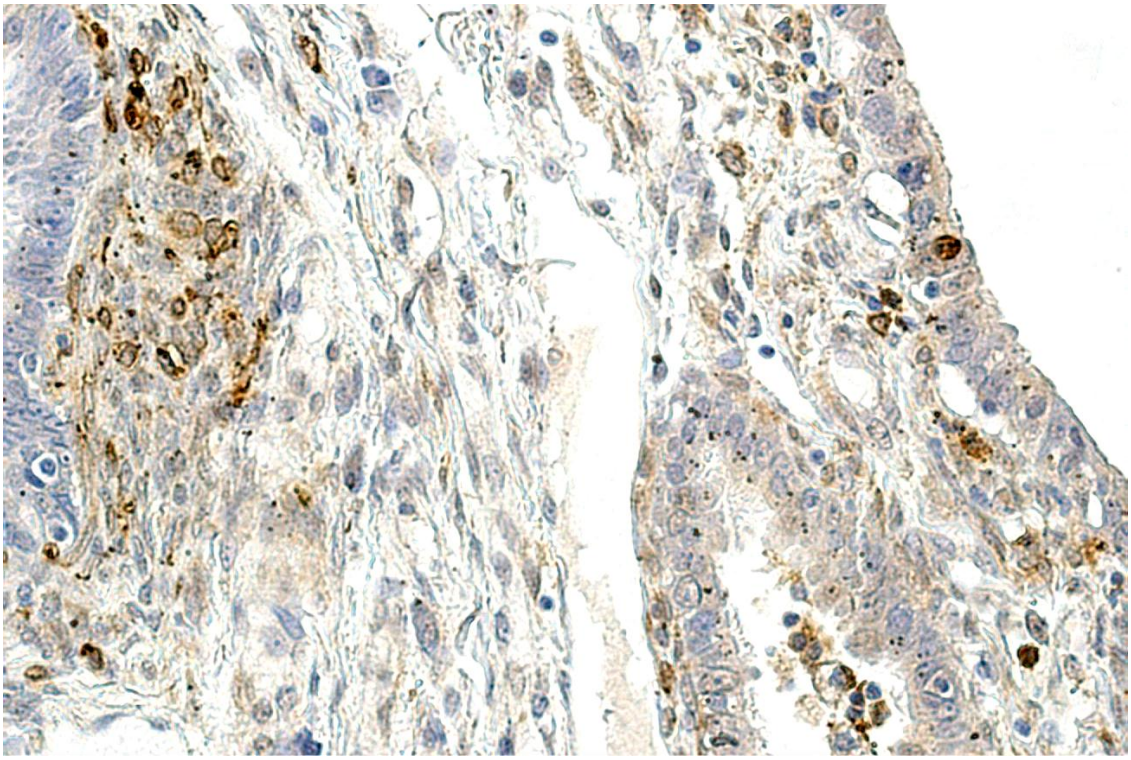


3.9. attēls. Attēlā redzamas embrija muguras smadzenes ar izteiktu ependīmas, apmetņa un marginālo zonu. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Hematoksilīns un eozīns x100.

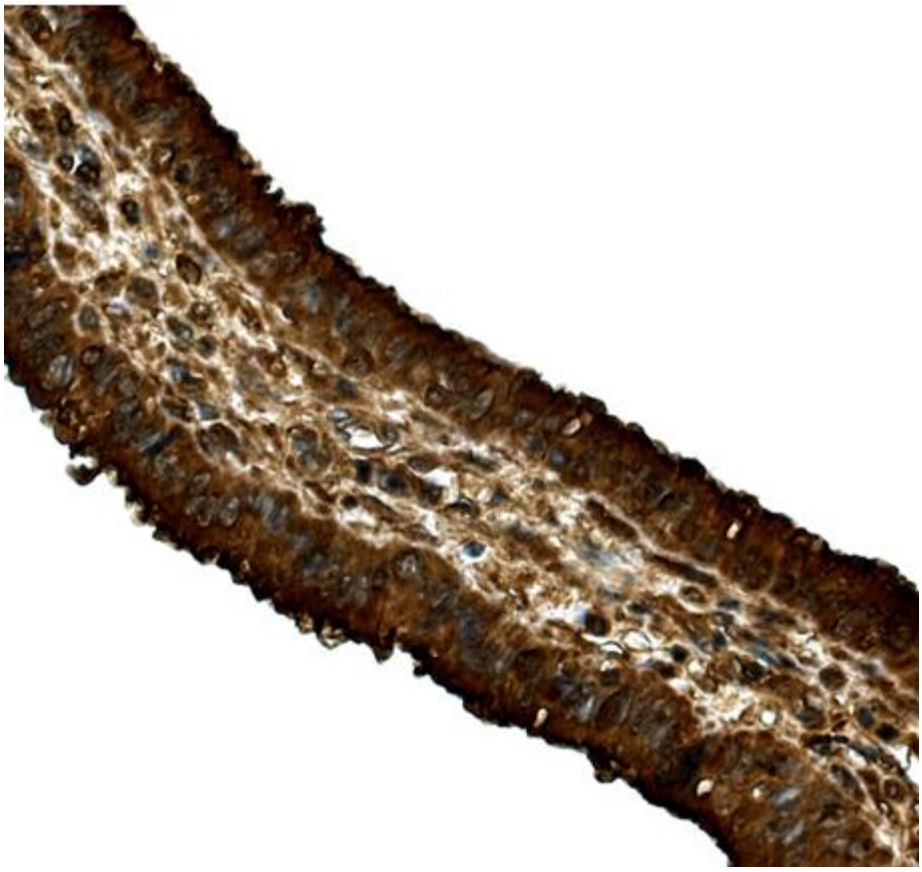


3.10. attēls. Attēlā redzamas embrija sirds struktūras – kambaris, priekškambaris un plaušas viltus dziedzera attīstības stadijā. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. Hematoksilīns un eozīns x100.

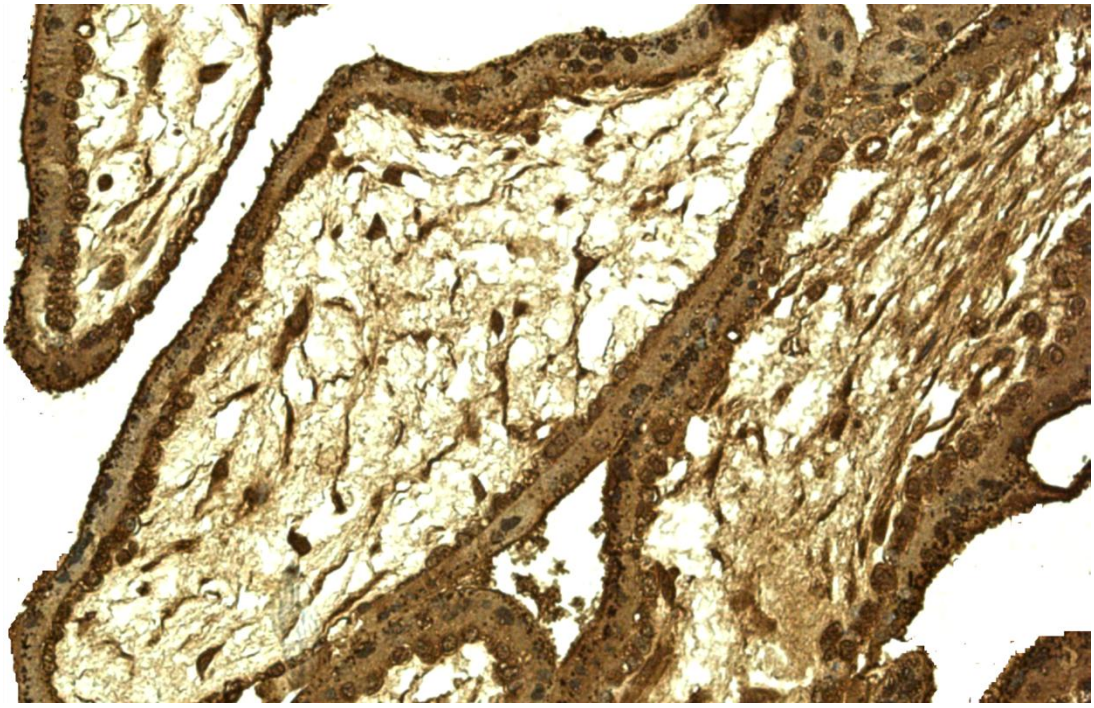
3.11. attēls. Embrija pirmniere (*mesonephros*). Labi redzami nieres ķermenīši un tubulīšu sistēmas attīstība. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. Hematoksilīns un eozīns x100.



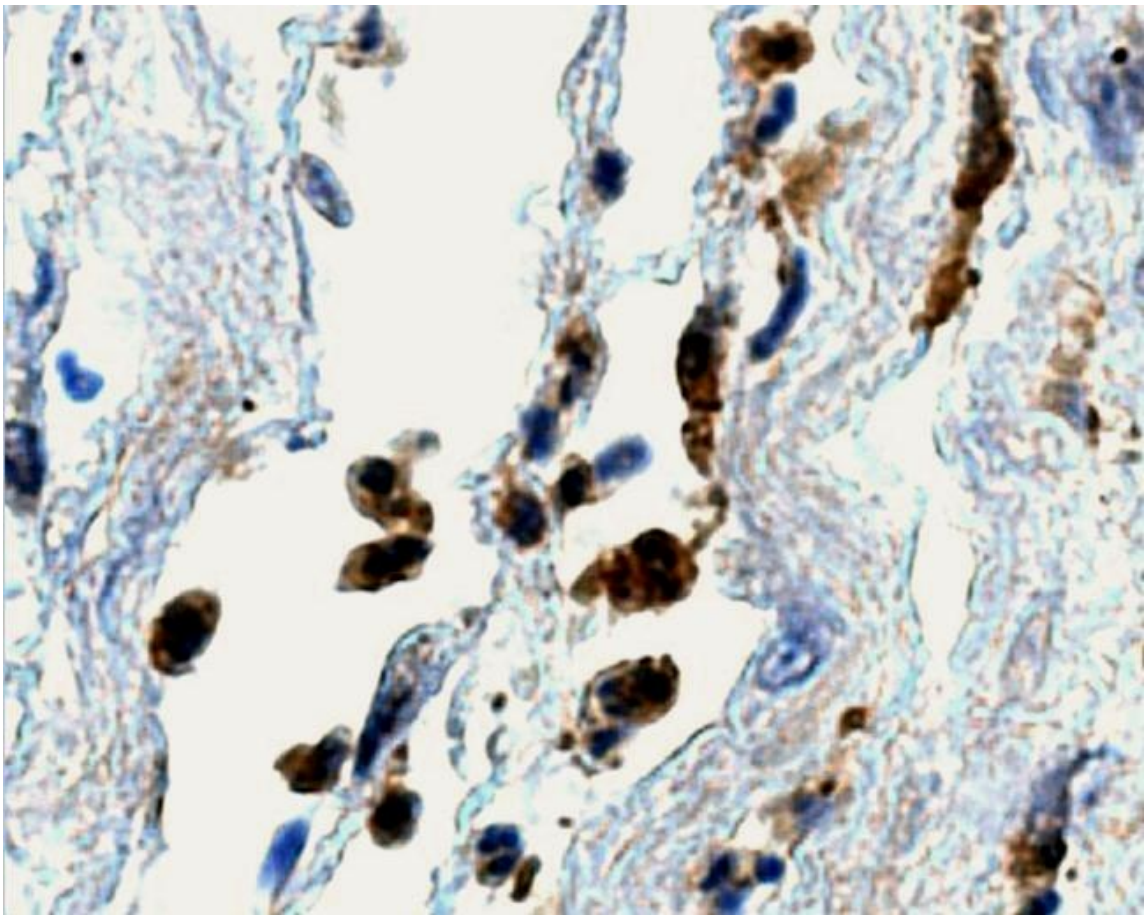
3.12. attēls. Olvada grūtniecības gadījumā novēro bFGF saturošas šūnas olvada saistaudos. bFGF IMH x400.



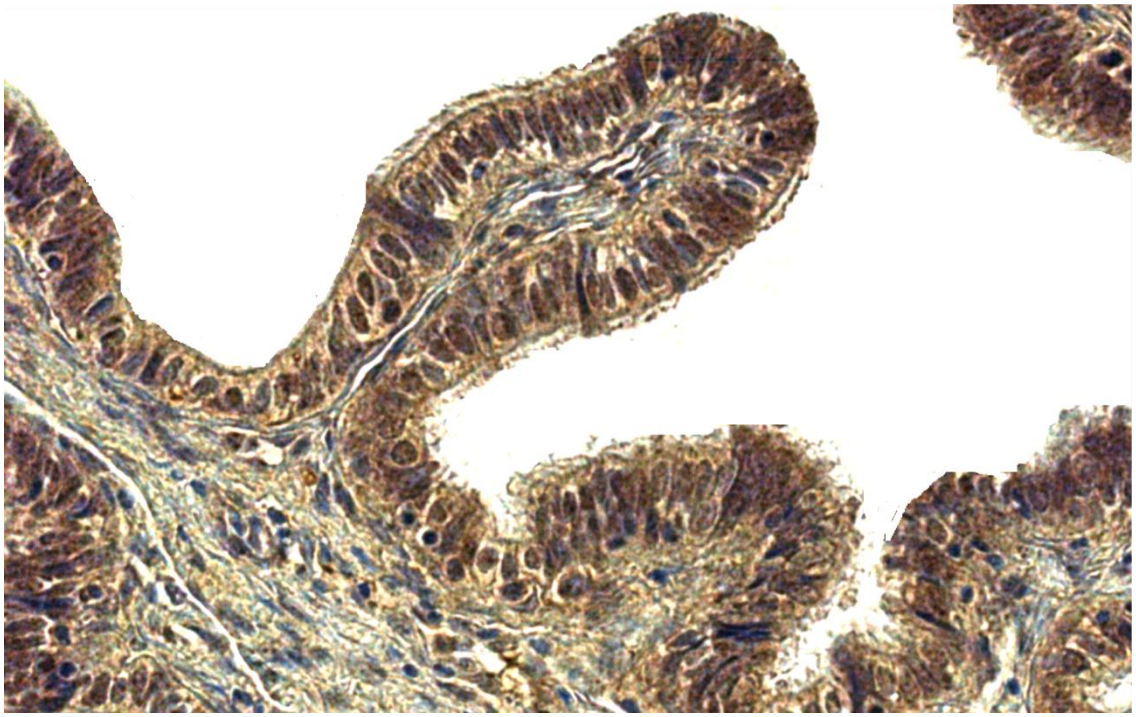
3.13. attēls. Daudz FGFR1 pozitīvo šūnu redzamas olvada epitēlijā un *lamina propria* ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā. FGFR1 IMH x400.



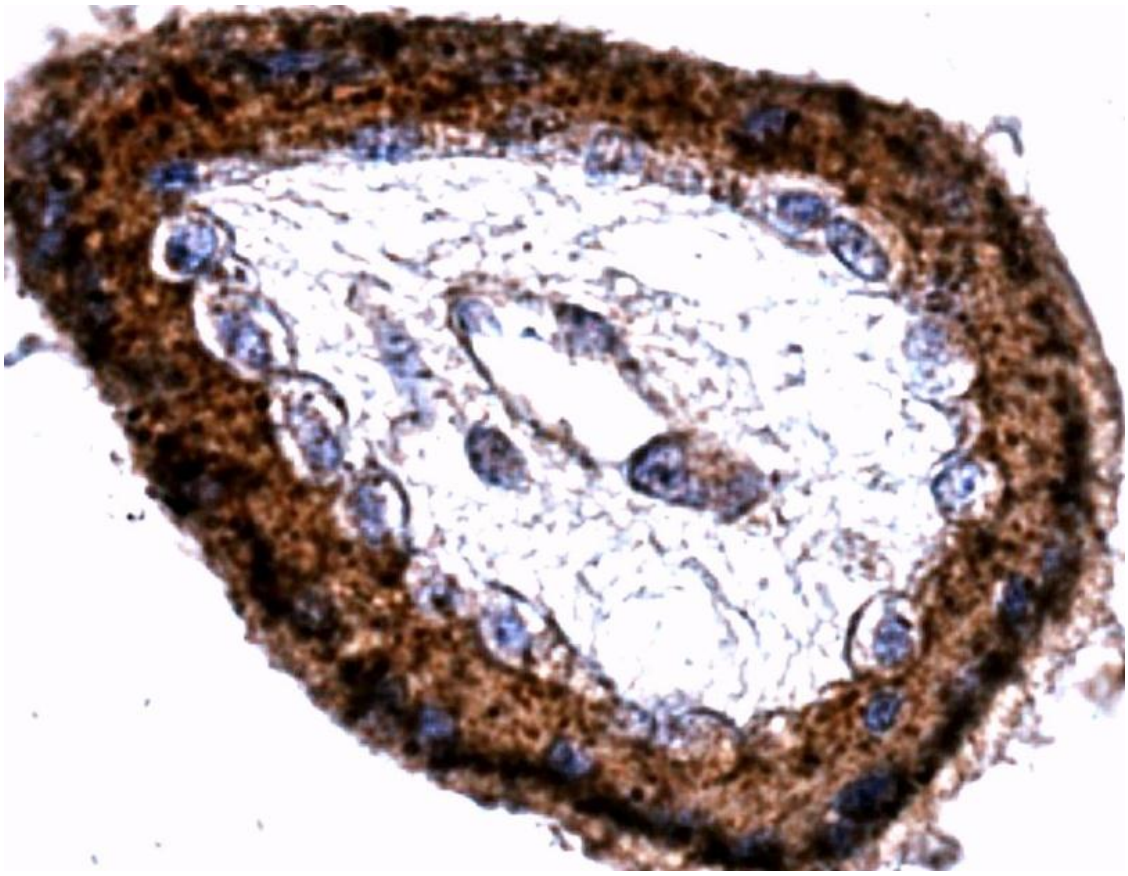
3.14. attēls. Ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā sincītijtrofoblastā, un citotrofoblastā redzams vidēji daudz FGFR1 pozitīvo šūnu. FGFR1 IMH x250.



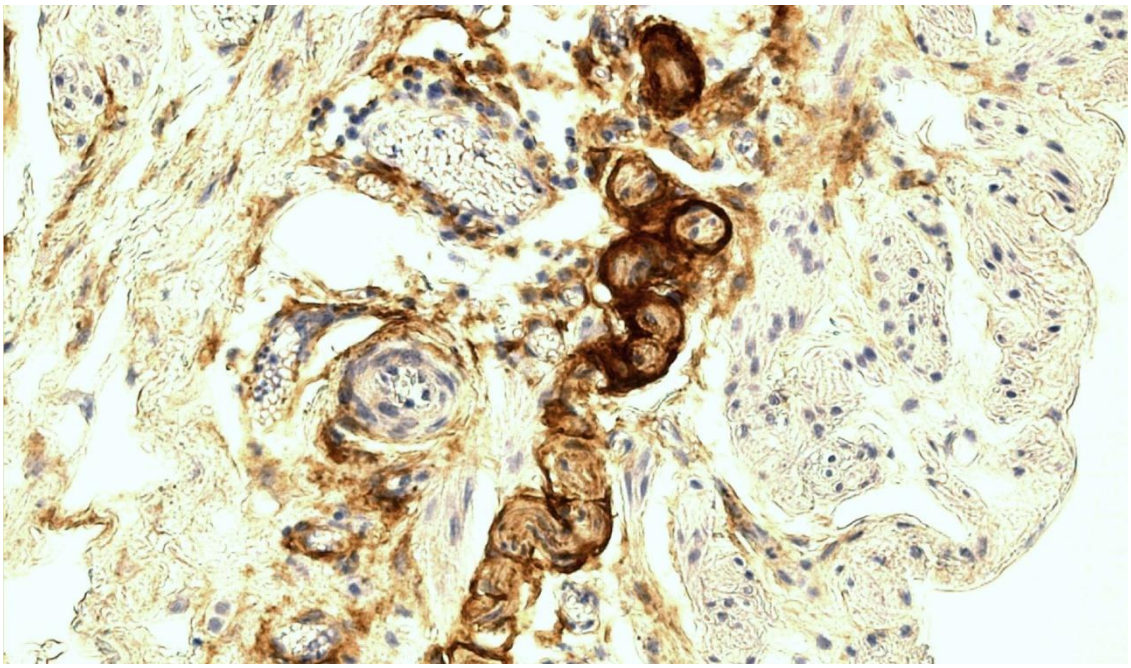
3.15. attēls. Olvada gļotādas saistaudos redzams mazs FGFR1 pozitīvo makrofāgu un neitrofīlo leikocītu daudzums. FGFR1 IMH x400.



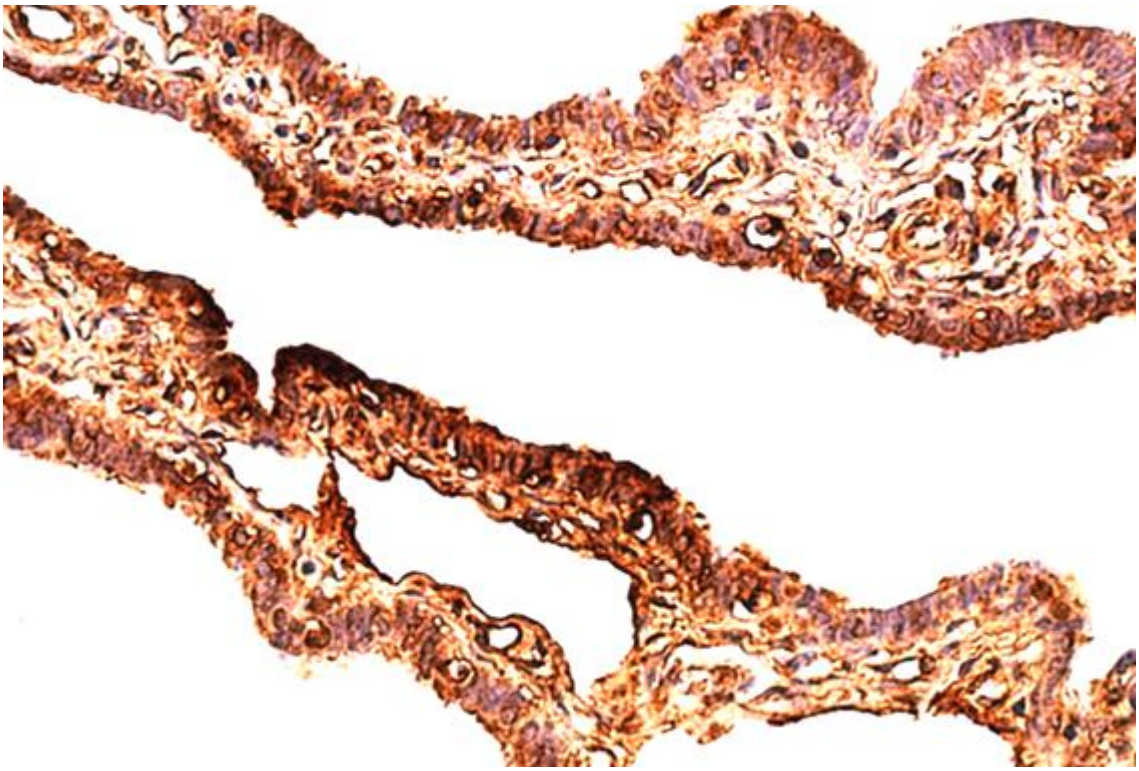
3.16. attēls. Olvada epitēlijā, gludājā muskulatūrā, endotēlijā un nervu šķiedrās redzams vidējs NGF pozitīvo struktūru daudzums. NGF IMH x400.



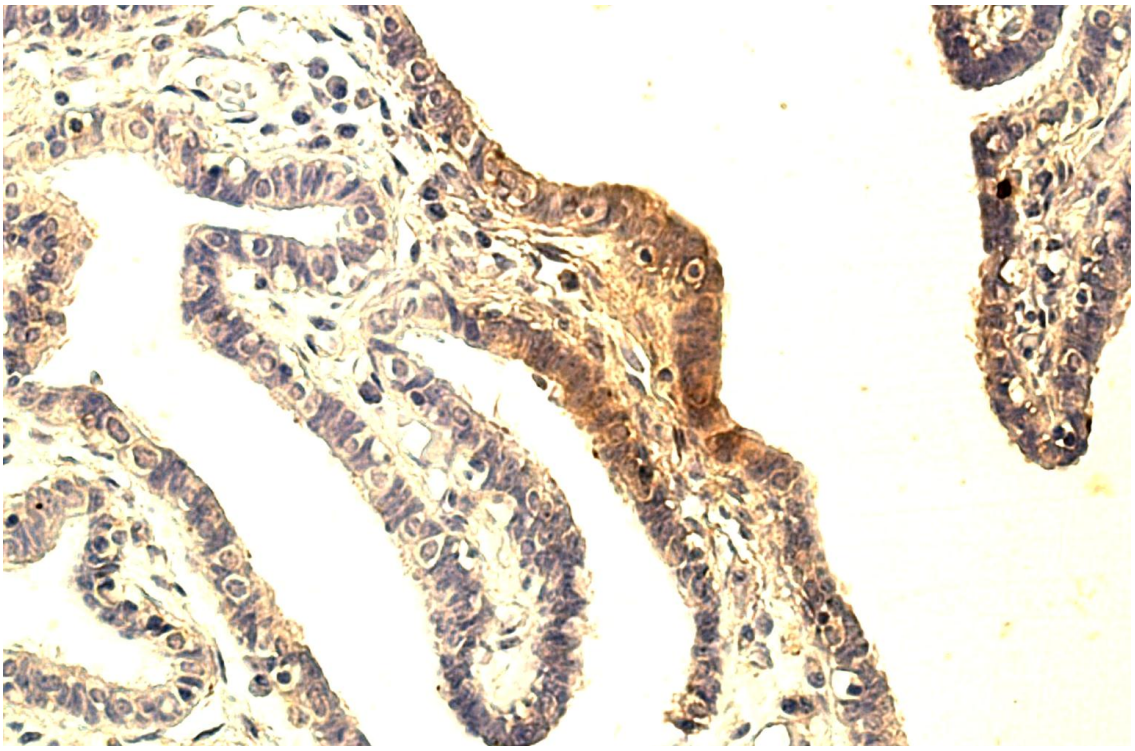
3.17. attēls. Citotrofoblasts demonstrē negatīvu reakciju, bet sincītijtrofoblasts – daudz NGF pozitīvo šūnu. NGF IMH x400.



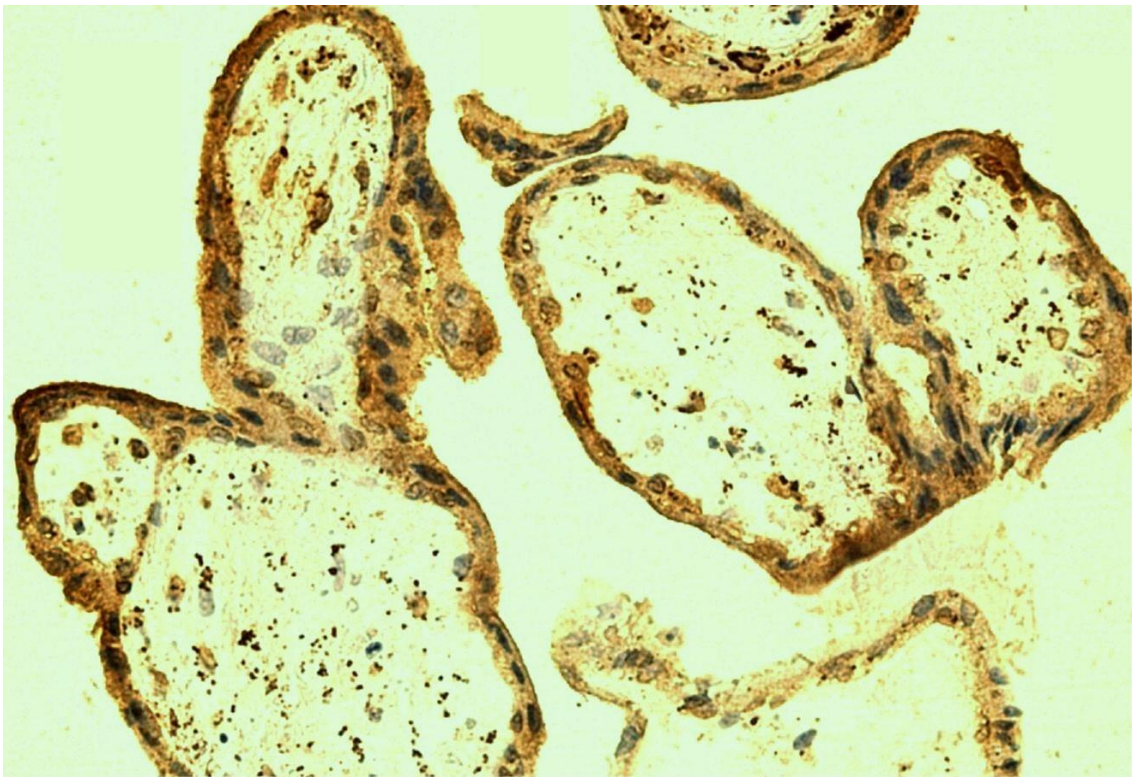
3.18. attēls. Olvada grūtniecības gadījumā redz maz NGFRp75 saturošas nervu šķiedras olvada *tunica muscularis*. NGFRp75 IMH x250.



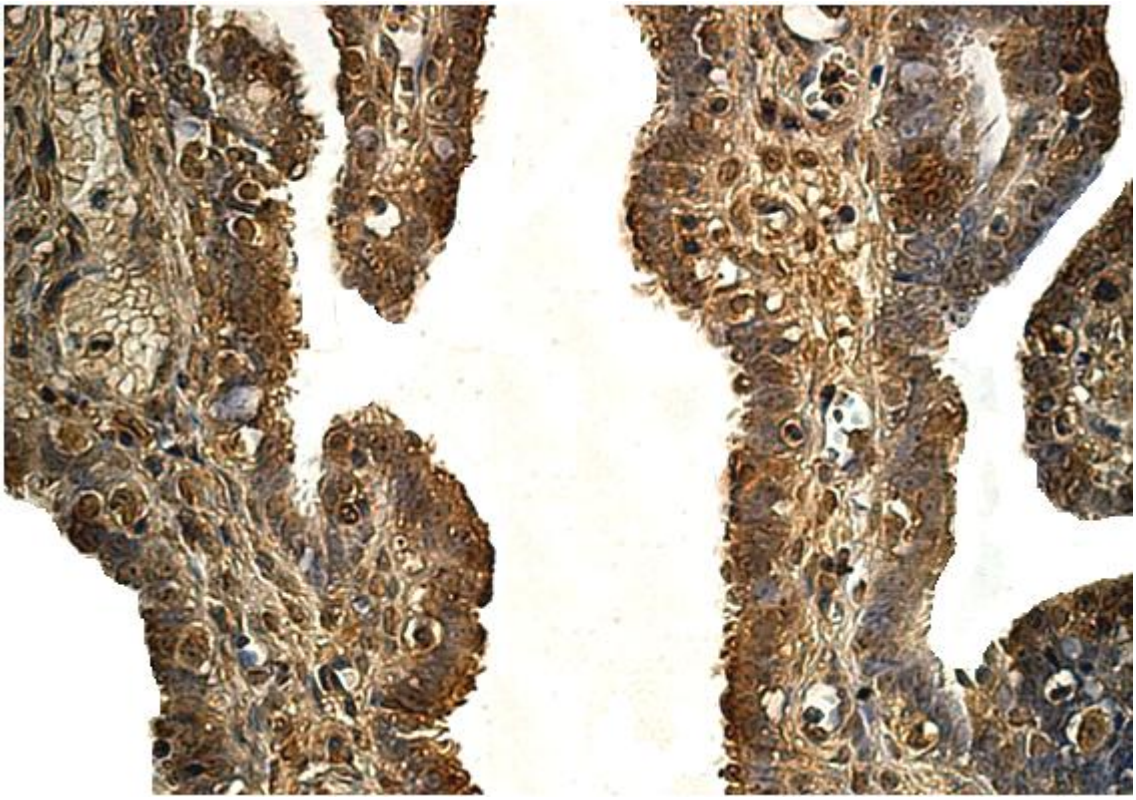
3.19. attēls. Olvada audi ar daudz IGF-1 pozitīvām struktūrām. IGF-1 IMH x400.



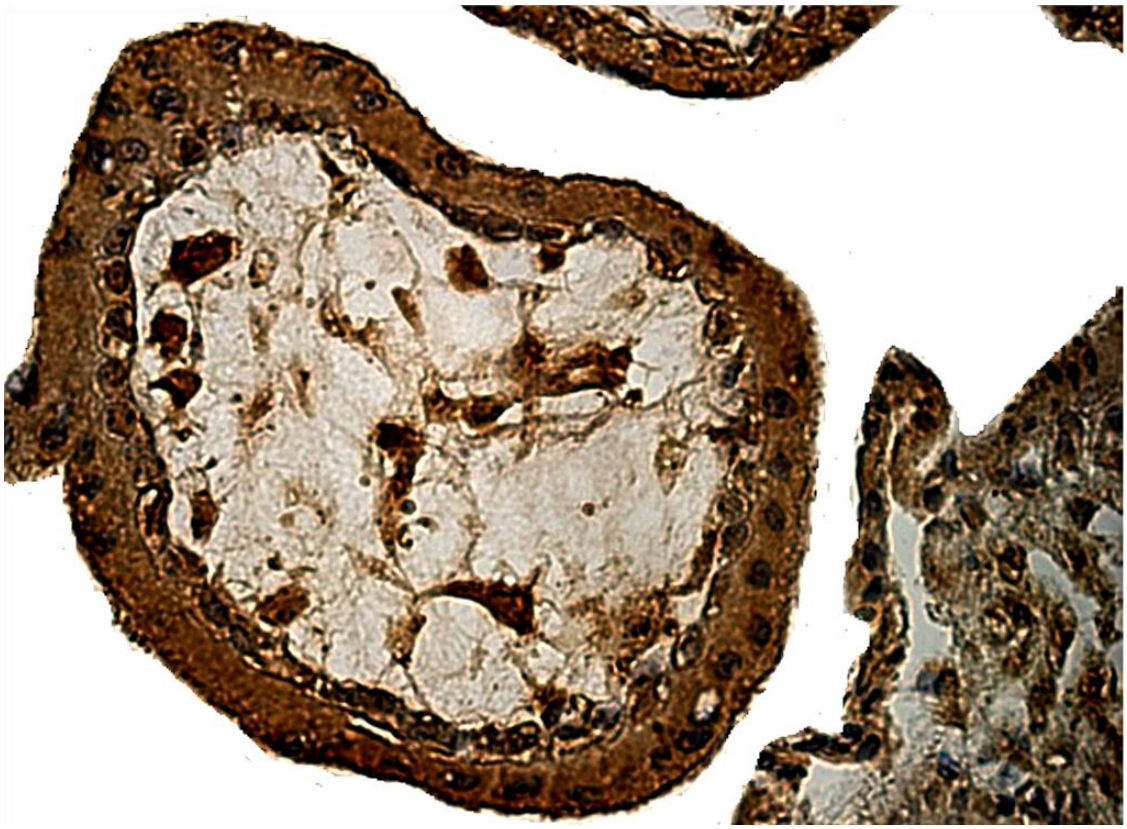
3.20. attēls. Mazu IGF-1R pozitīvo šūnu daudzumu novēro olvada epitēlijā. IGF-1R ir perēkļveidīgi izplatīts olvada grūtniecības gadījumā IGF-1R IMH x400.



3.21. attēls. Citotrofoblasts un sincītijtrofoblasts olvada grūtniecības gadījumā satur vidēju IGF-1 pozitīvo šūnu daudzumu. Atsevišķas ekstraembrionālās mezenhīmas šūnas krāsojās ar IGF-1. IGF-1 IMH x400.

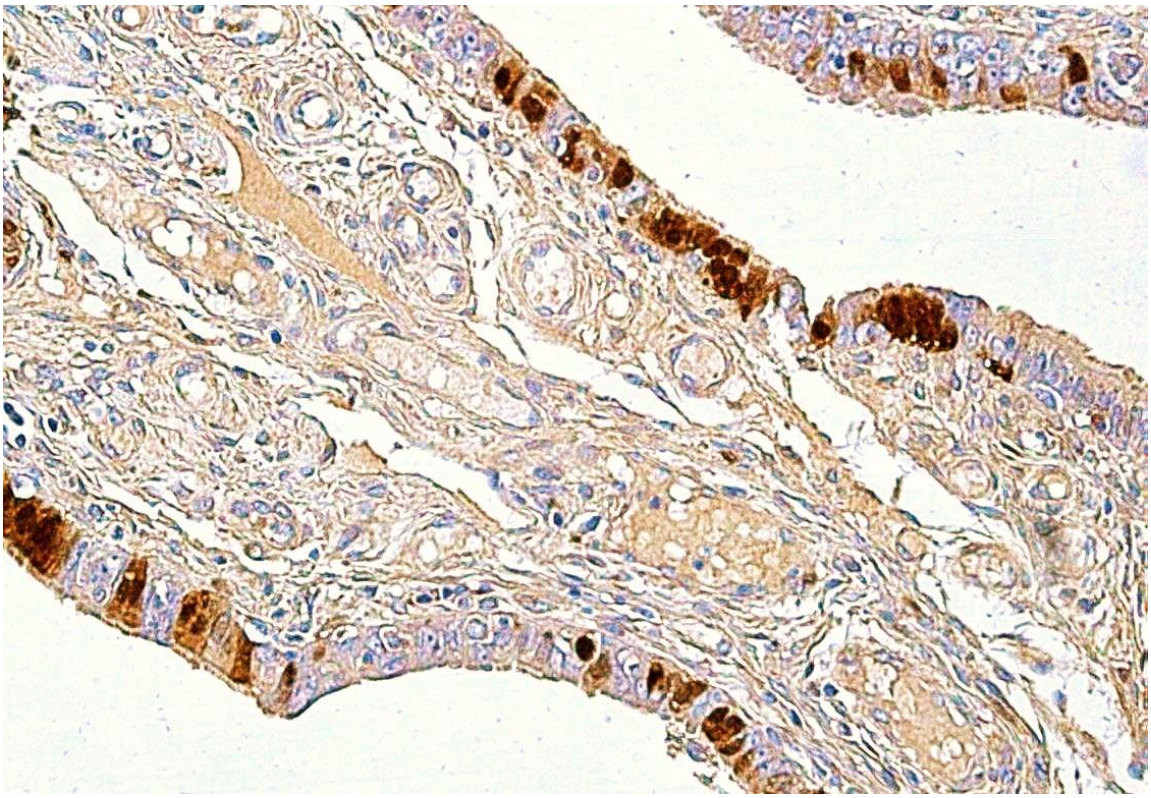


3.22. Olvada epitēlijā un gļotādas saistaudos novēro daudz HGF pozitīvas šūnas. HGF IMH x400

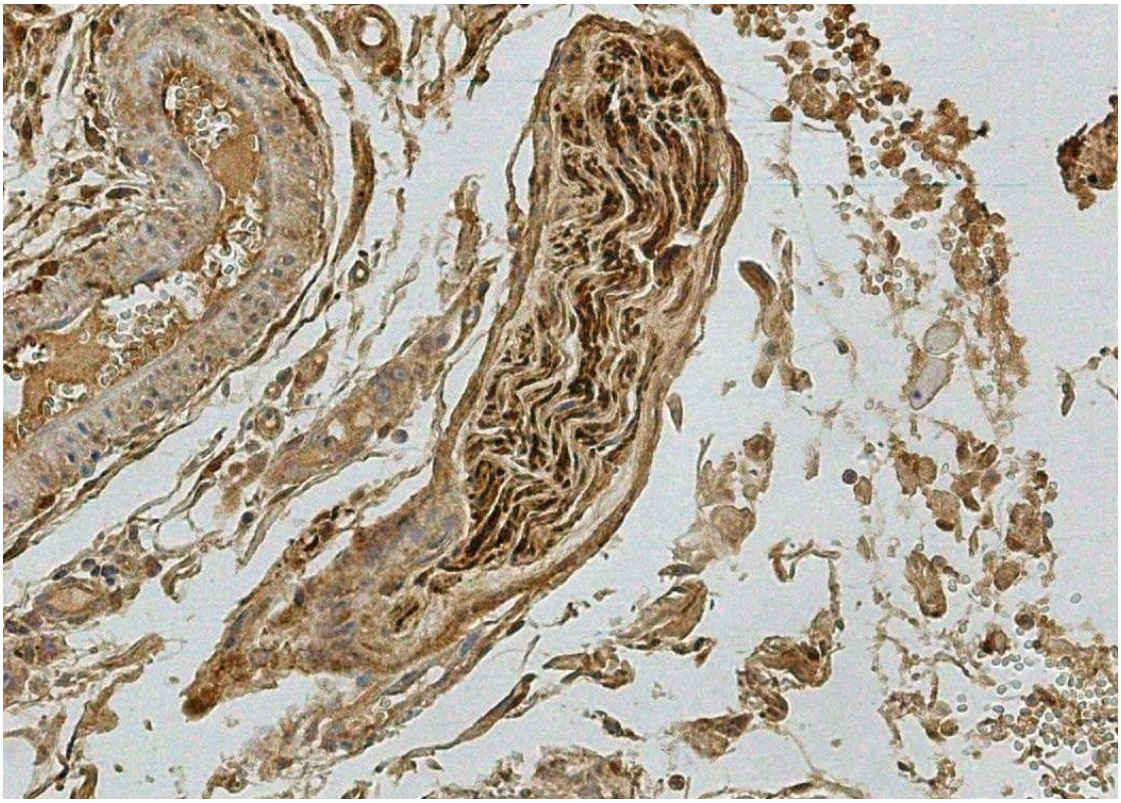


3.23. attēls. Citotrofoblasts un sincītijtrofoblast satur daudz, bet ekstra-embrionālā mezenhīma vidēji daudz HGF pozitīvo šūnu. HGF IMF x400.

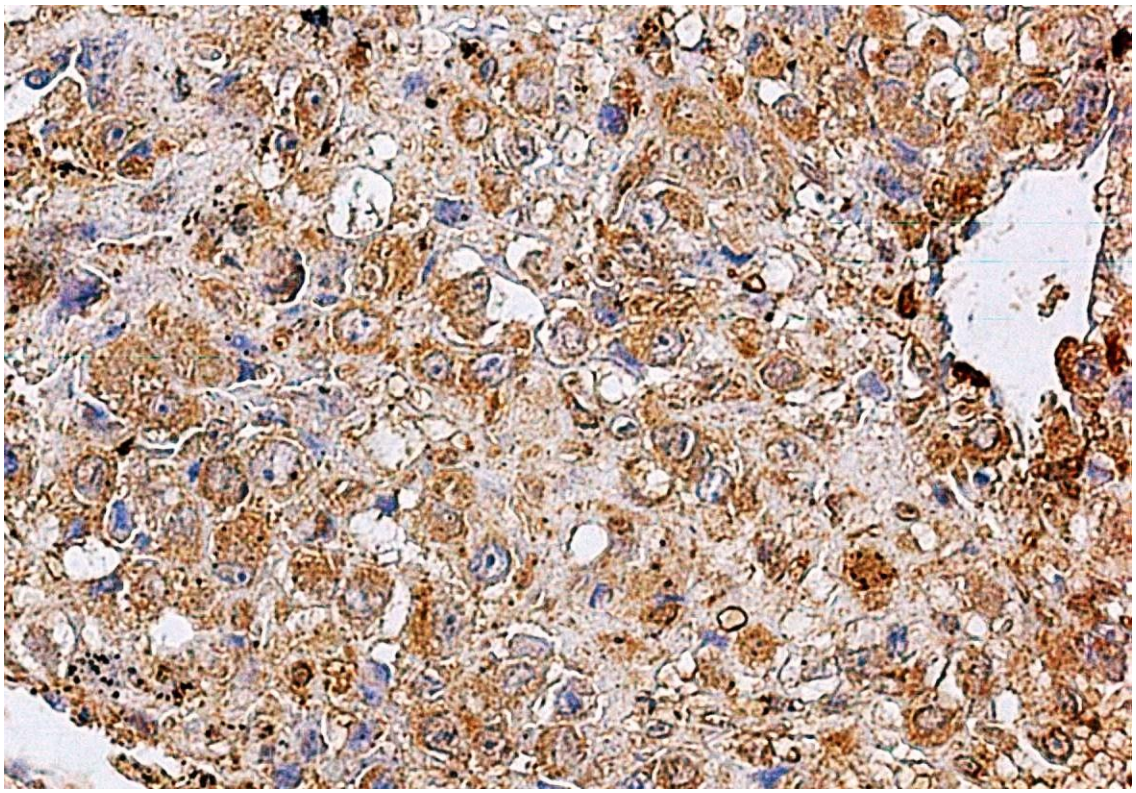
3.24. attēls. Daudz pozitīvo PGP 9.5 saturošo struktūru redzamas olvada epitēlijā ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā. PGP 9.5 IMH x250.



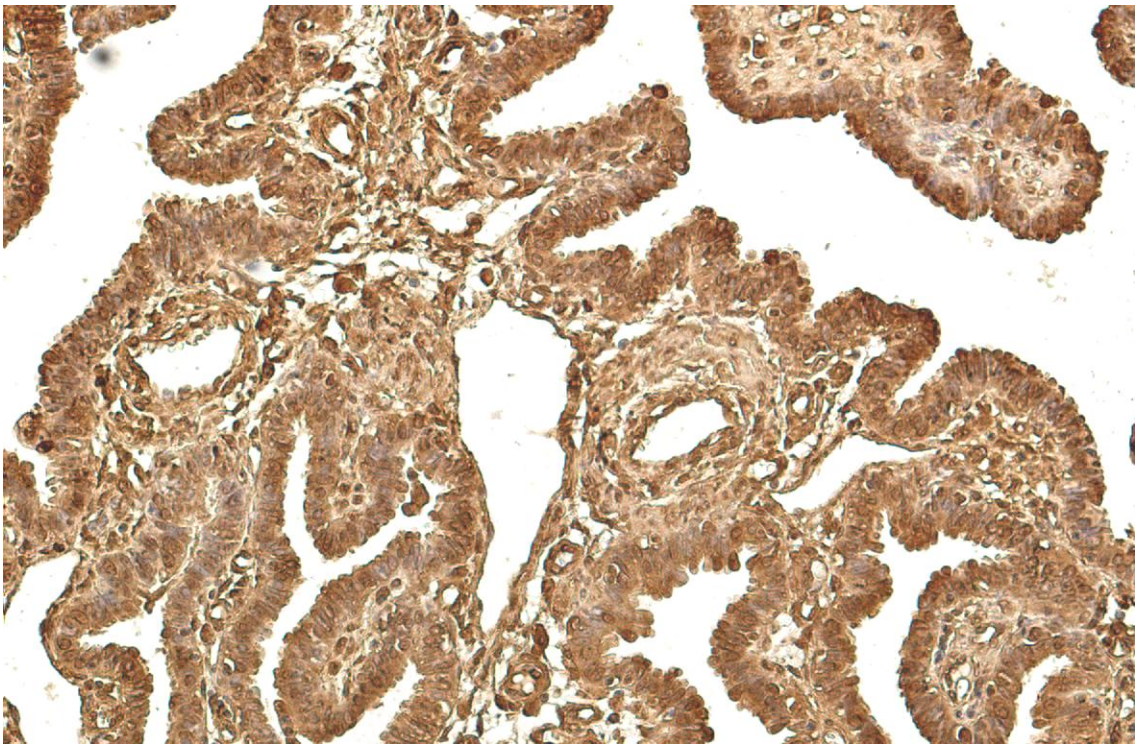
3.25. attēls. Attēla redzami PGP 9.5 pozitīvie neiroepiteliālie ķermenīši olvada epitēlijā. PGP 9.5 IMH x250.



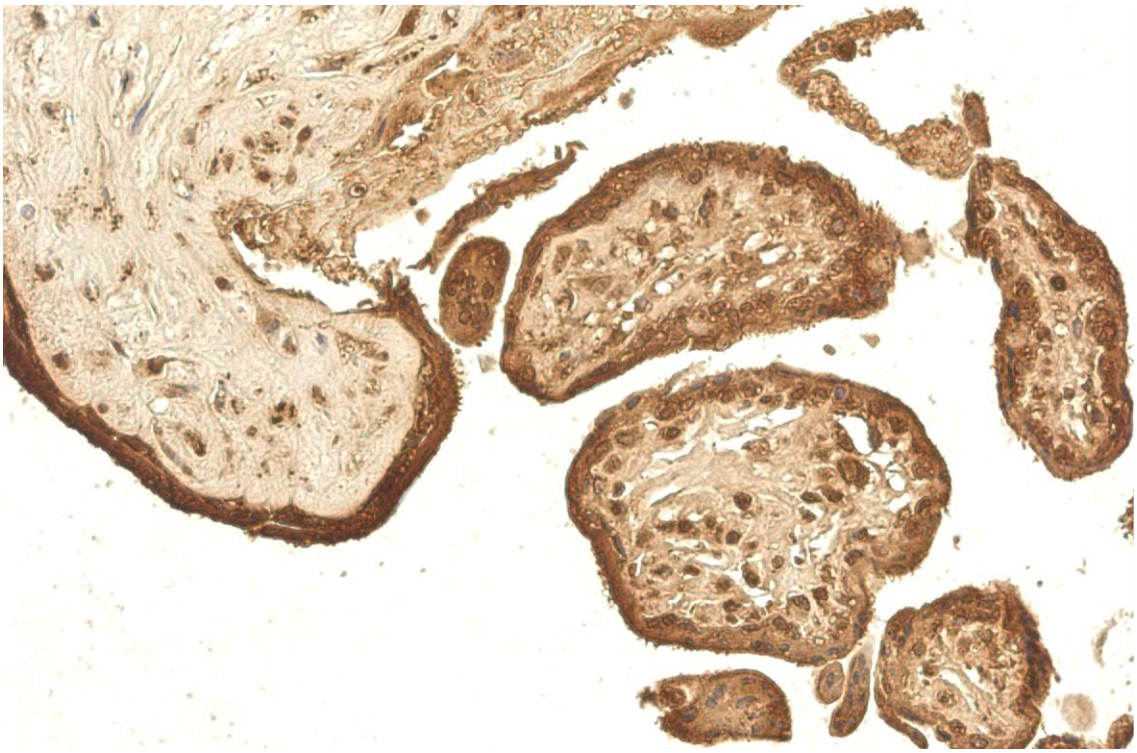
3.26. attēls. Daudz PGP 9.5 saturošo nervu šķiedru redzamas olvada sienas nervšķiedru kūlītī. PGP 9.5 IMH x400.



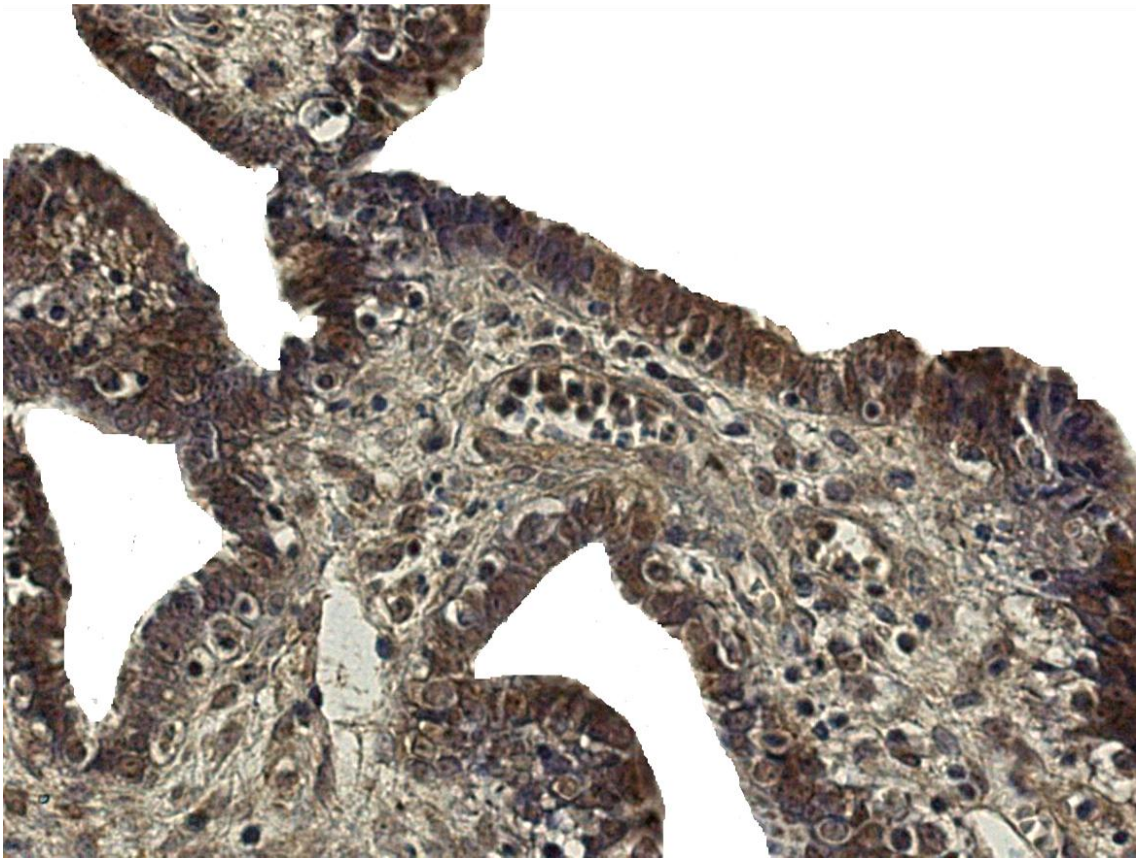
3.27. attēls. Perifērajā trofoblastā novēro daudz PGP 9.5 pozitīvo šūnu olvada grūtniecības gadījumā. PGP 9.5 IMH x250.



3.28. attēls. Olvada grūtniecības gadījumā novēro daudz MMP-2 pozitīvo struktūru olvada epitēlijā, endotēlijā, gludajā muskulatūrā, nervu šķiedrās, mezotēlijā un *lamina propria* šūnās. MMP-2 IMH x200.

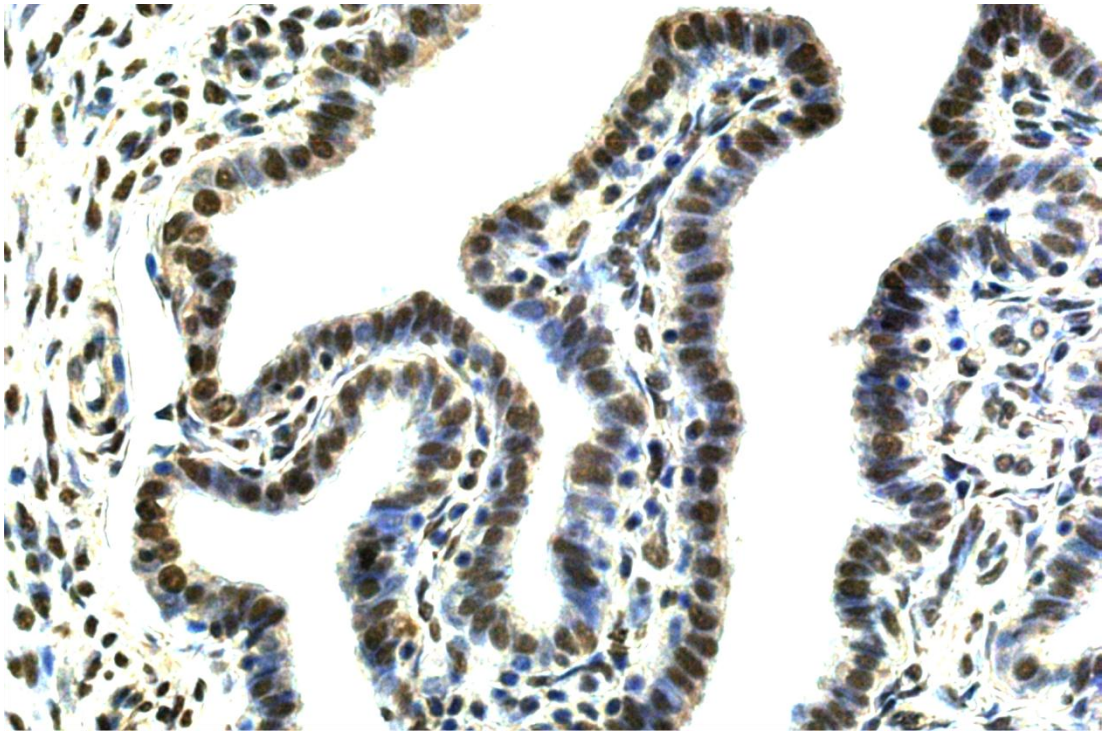


3.29. attēls. Daudz MMP-2 pozitīvo struktūru redzamas citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un ekstraembrionālajā mezenhīmā. MMP-2 IMH x200.

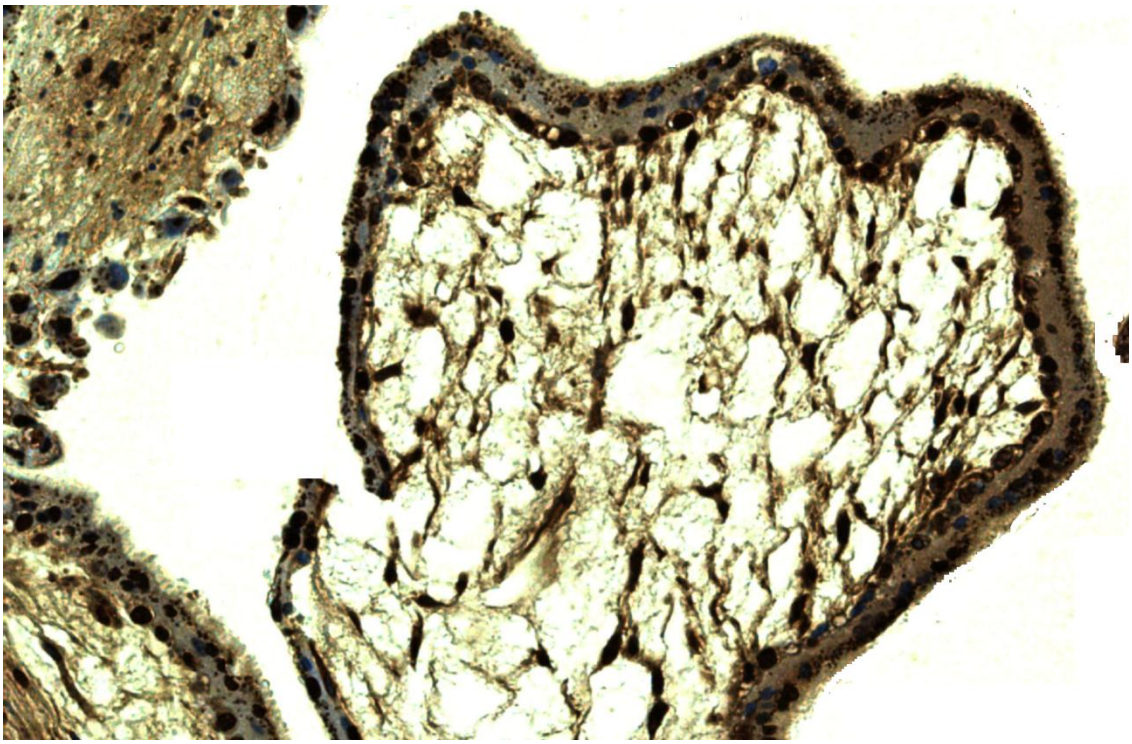


3.30. attēls. Vidējs MMP 9 pozitīvo šūnu daudzums redzams olvada epitēlijā un olvada gļotādas saistaudos. MMP-9 IMH x400.

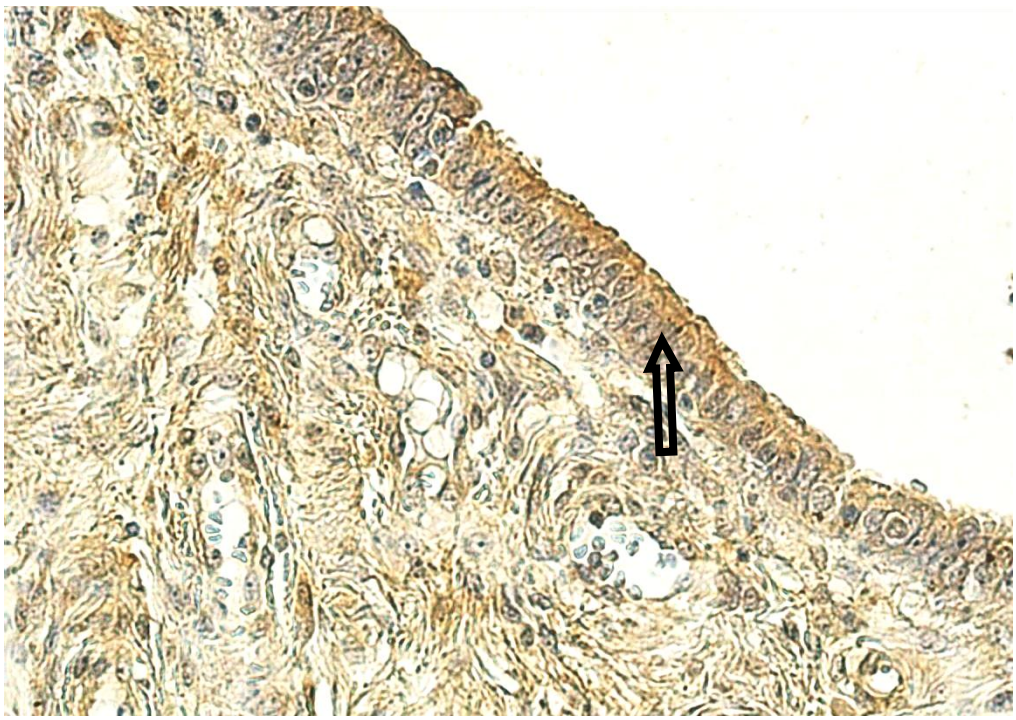
3.31. attēls. Citotrofoblasatā, sincītijtrofoblastā un perifērajā trofoblastā redzams vidējs, bet ekstraembrionāla mezenhīmā mazs daudzums MMP 9 pozitīvo šūnu. MMP-9 IMH x250.



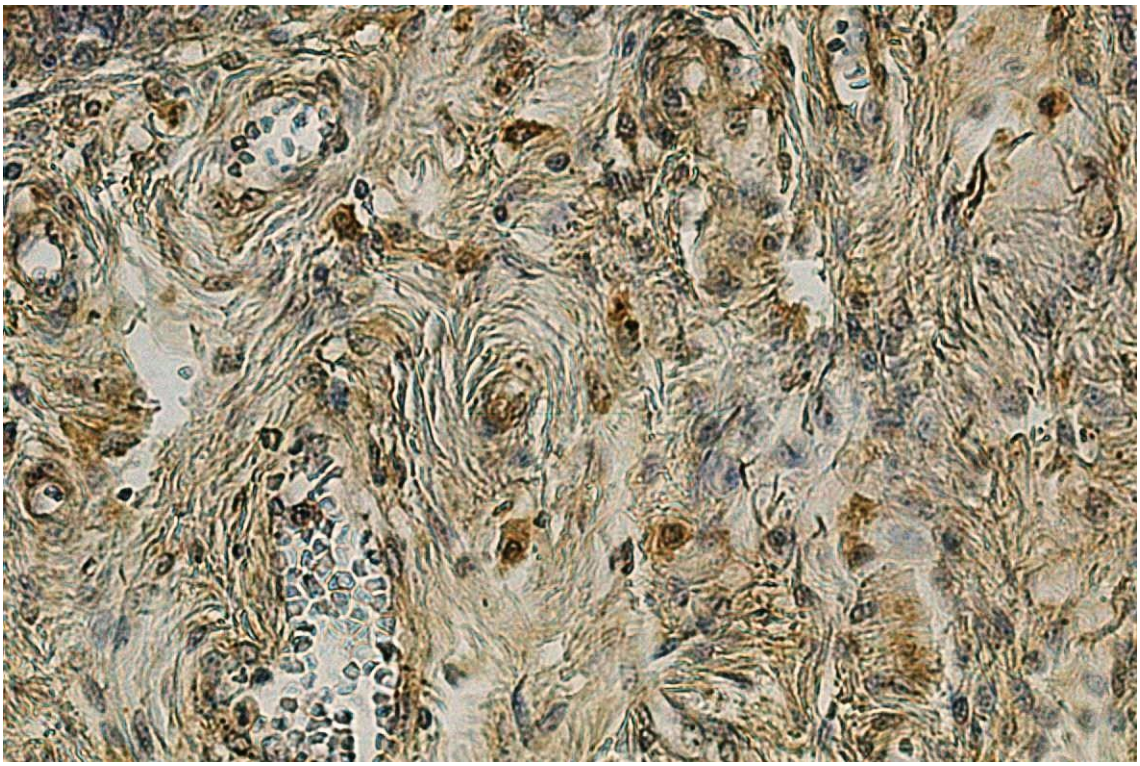
3.32. attēls. Olvada epitēlijs satur daudz apoptotisko šūnu. *TUNEL* x400



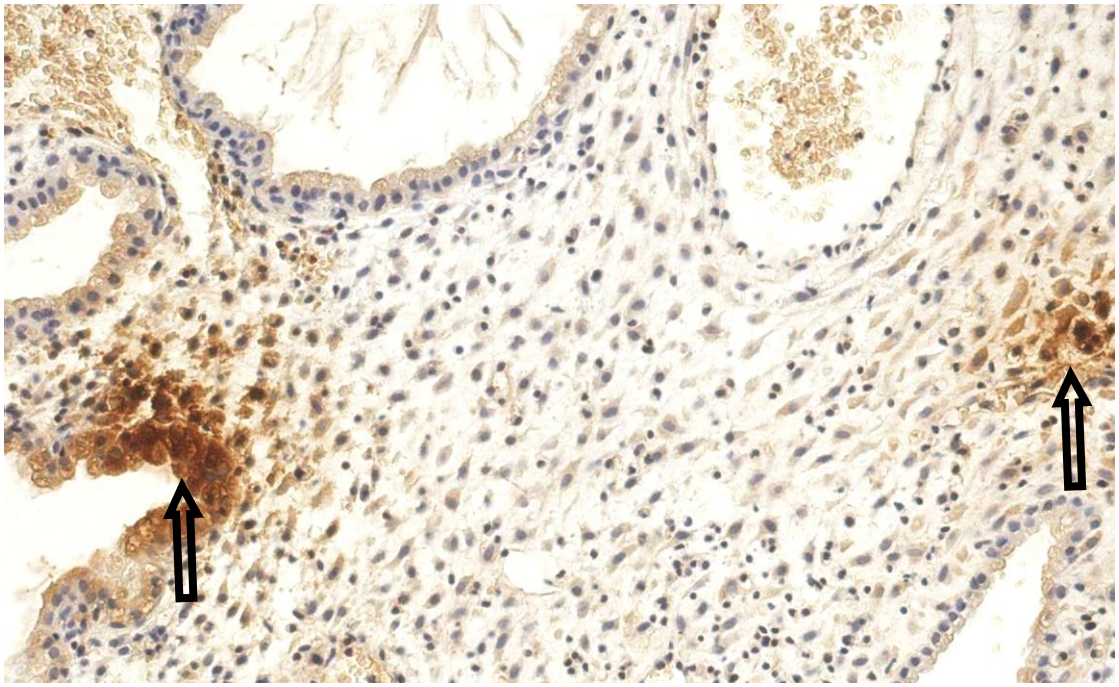
3.33. attēls. Citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un ekstraembrionālajā mezenhīmā novēro vidēju apoptotisko šūnu daudzumu ārpusdzemdes grūtniecības gadījumā. *TUNEL* x400.



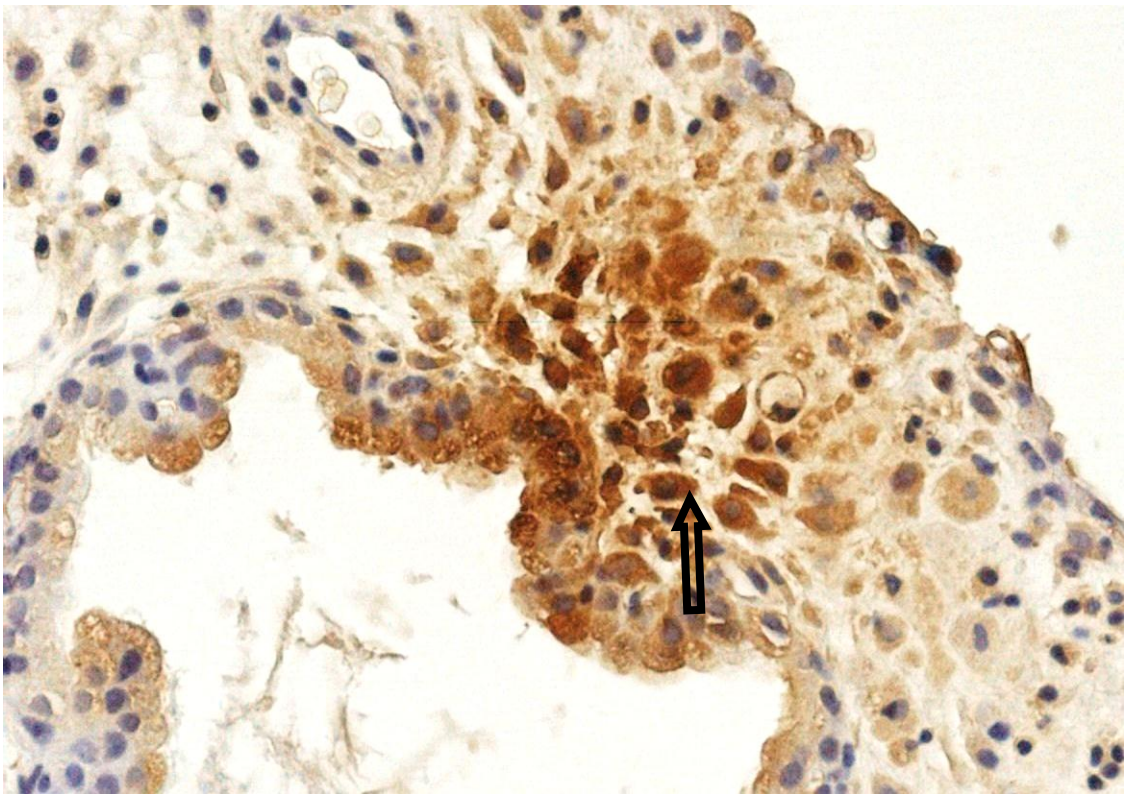
3.34. attēls. Vidējs cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu daudzums redzams olvada epitēlijā. Cilvēka defensīna beta 2 granulas koncentrējās olvada epiteliocītu citoplazmā un uz apikālās plazmolemmas. Cilvēka defensīns beta 2 IMH x250.



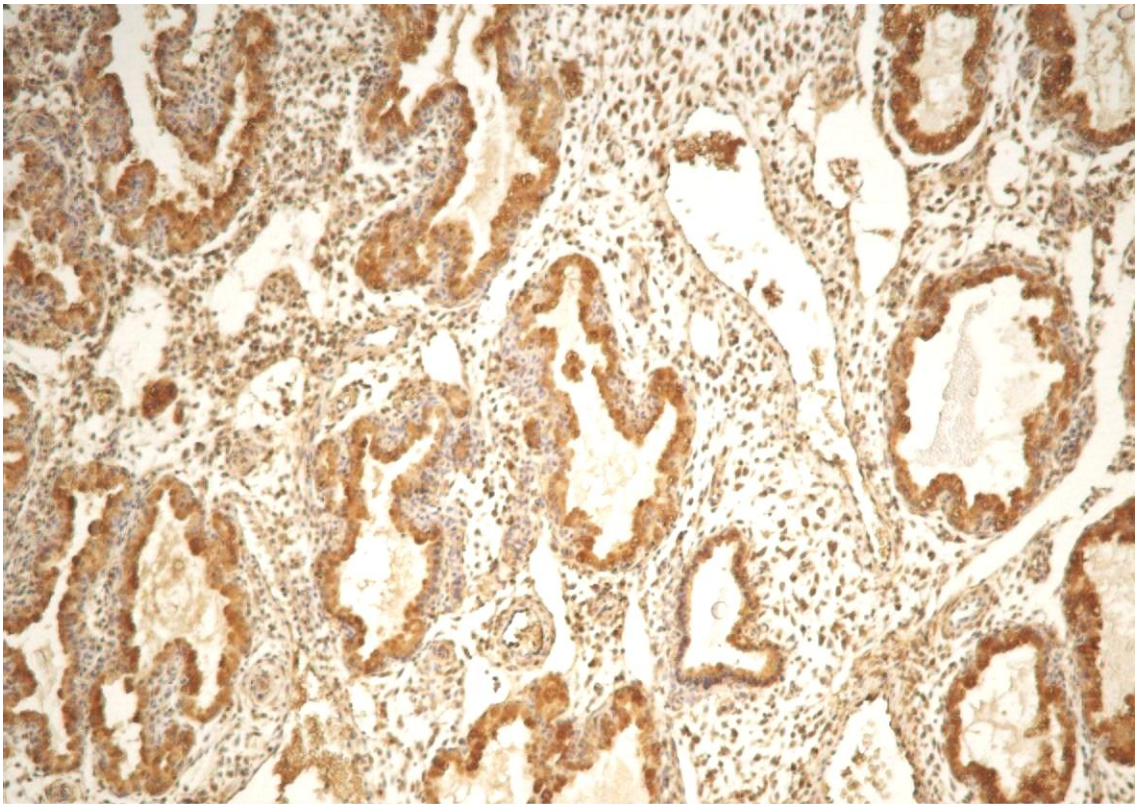
3.35. attēls. Vidējs cilvēka defensīna 2 pozitīvo šūnu daudzums ir koncentrēts saistaudos ap asinsvadiem. Cilvēka defensīns beta 2 IMH x400.



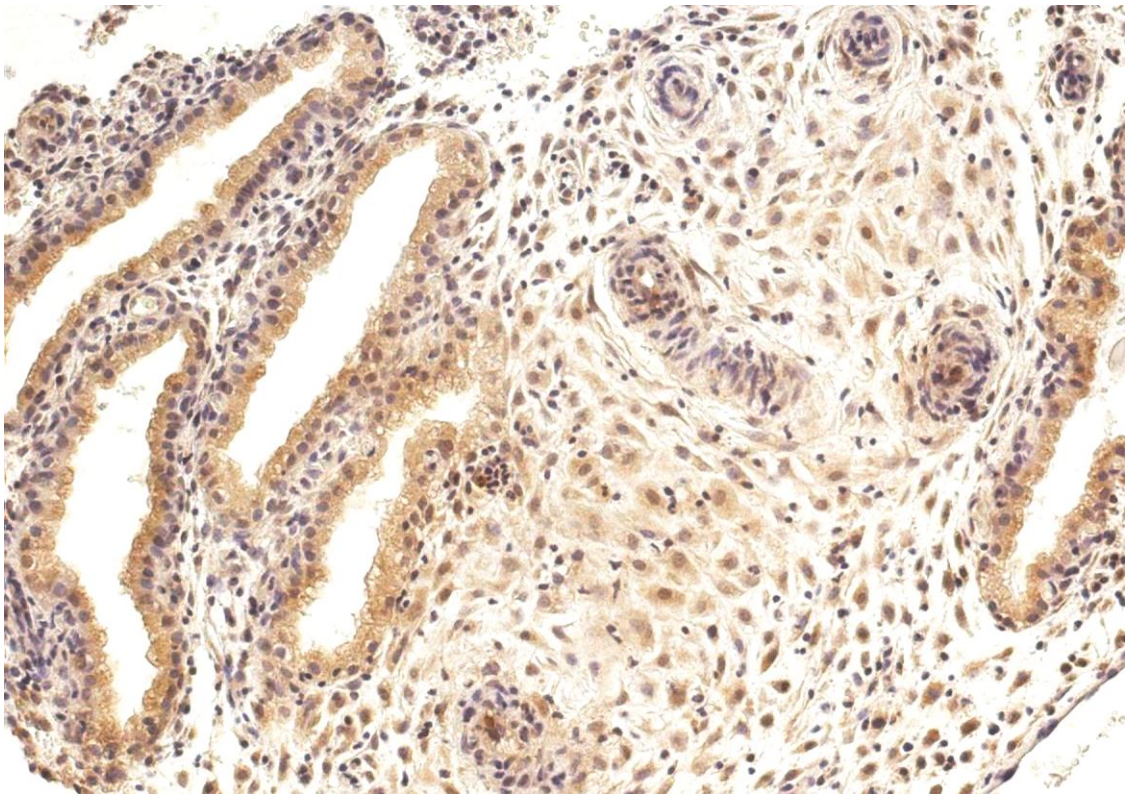
3.36. attēls. Vidēju TGF beta 1 pozitīvo šūnu (bultiņa) daudzumu redzam endometrija epitēlijā un gļotādas saistaudos dzemdes grūtniecības gadījumā. TGF beta 1 IMH x200.



3.37. attēls. Vidēja TGF beta 1 pozitīvo makrofāgu un neitrofīlo leikocītu daudzuma perēkļveida lokalizācija (bultiņa). TGF beta 1 IMH x400.

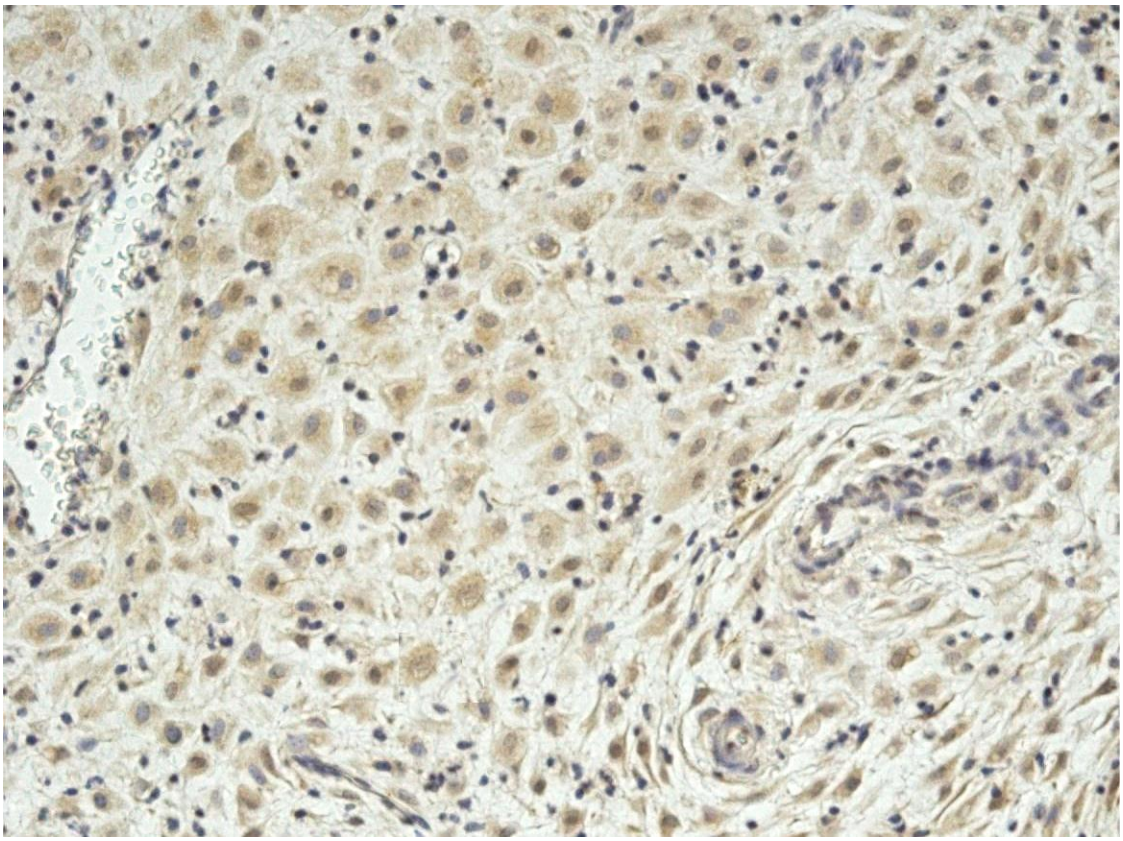


3.38. attēls. Dzemdes grūtniecības gadījumā epitēlijs un gludā muskulatūra satur daudz FGFR1 pozitīvo struktūru. FGFR1 IMH x100.

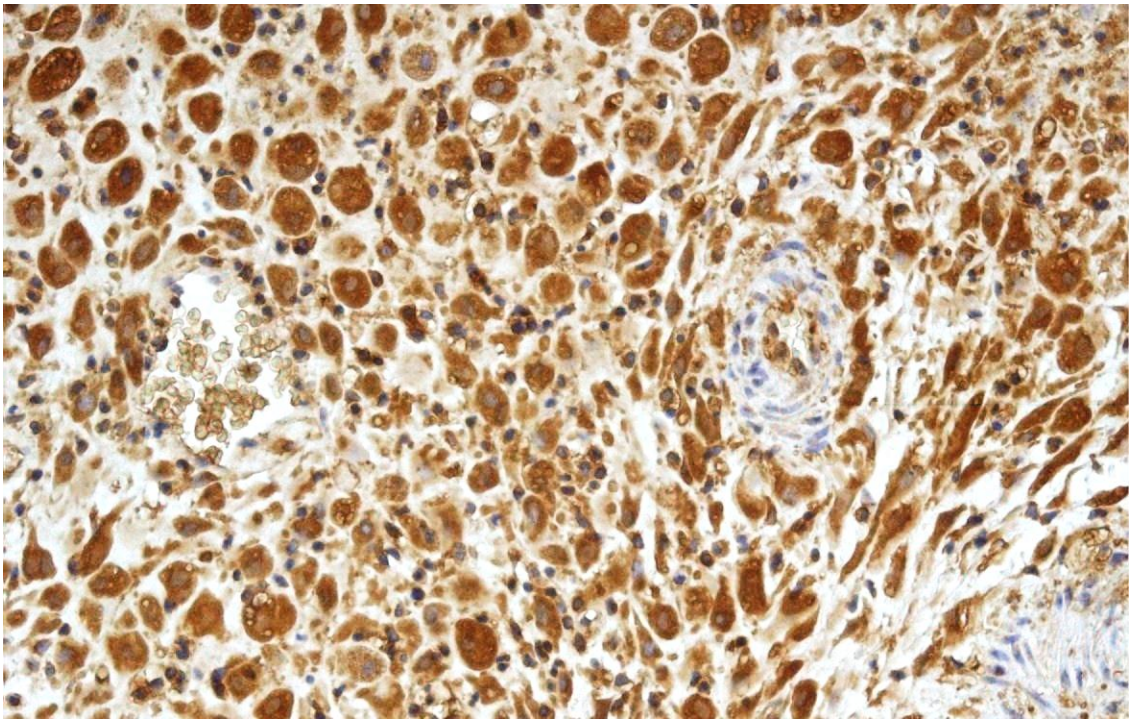


3.39. attēls. Dzemdes grūtniecības gadījumā redzams vidējs bFGF pozitīvo endometrija epitēlija, saistaudu un asinsvadu sienas šūnu daudzums. bFGF IMH x100.

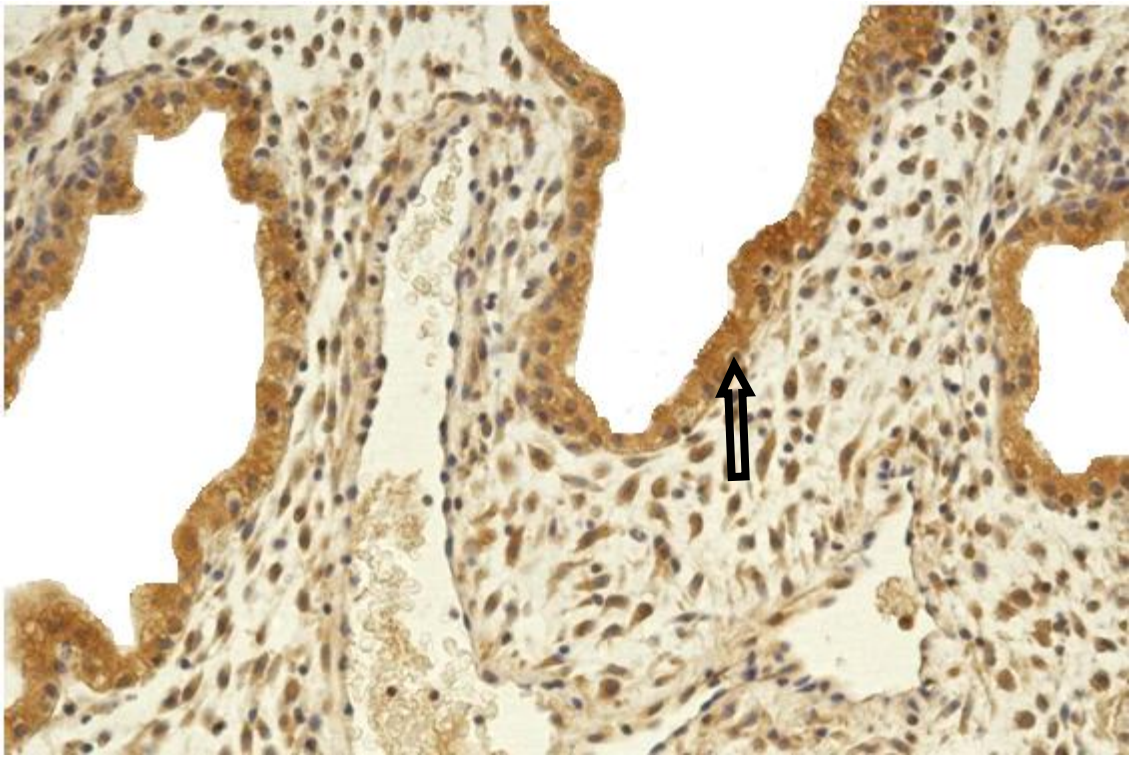
3.40. attēls. Ekstraembrionālā mezenhīma (bultiņa) satur daudz, bet sincītijtrofoblasts un citotrofoblasts – vidēju FGFR1 pozitīvo šūnu daudzumu. FGFR1 IMH x400.



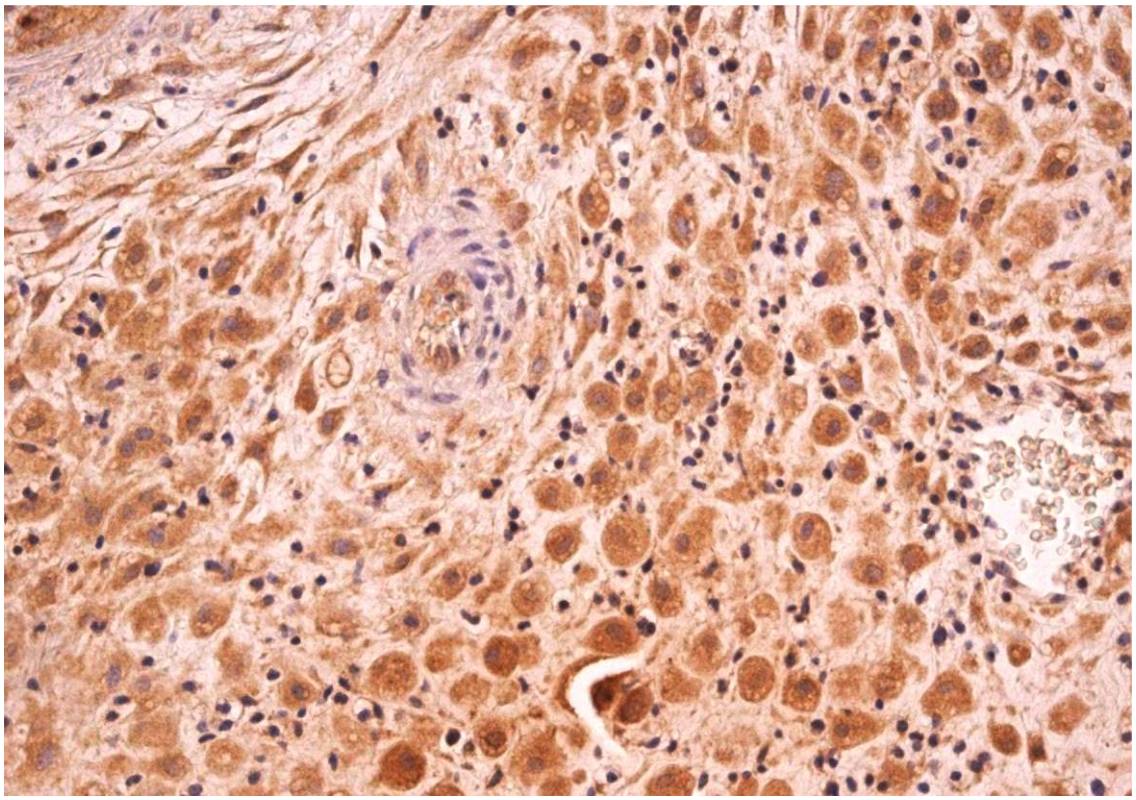
3.41. attēls. Attēlā redzams vidējs *decidua basalis* saistaudu un periferā trofoblasta bFGF pozitīvo šūnu daudzums. bFGF IMH x250.



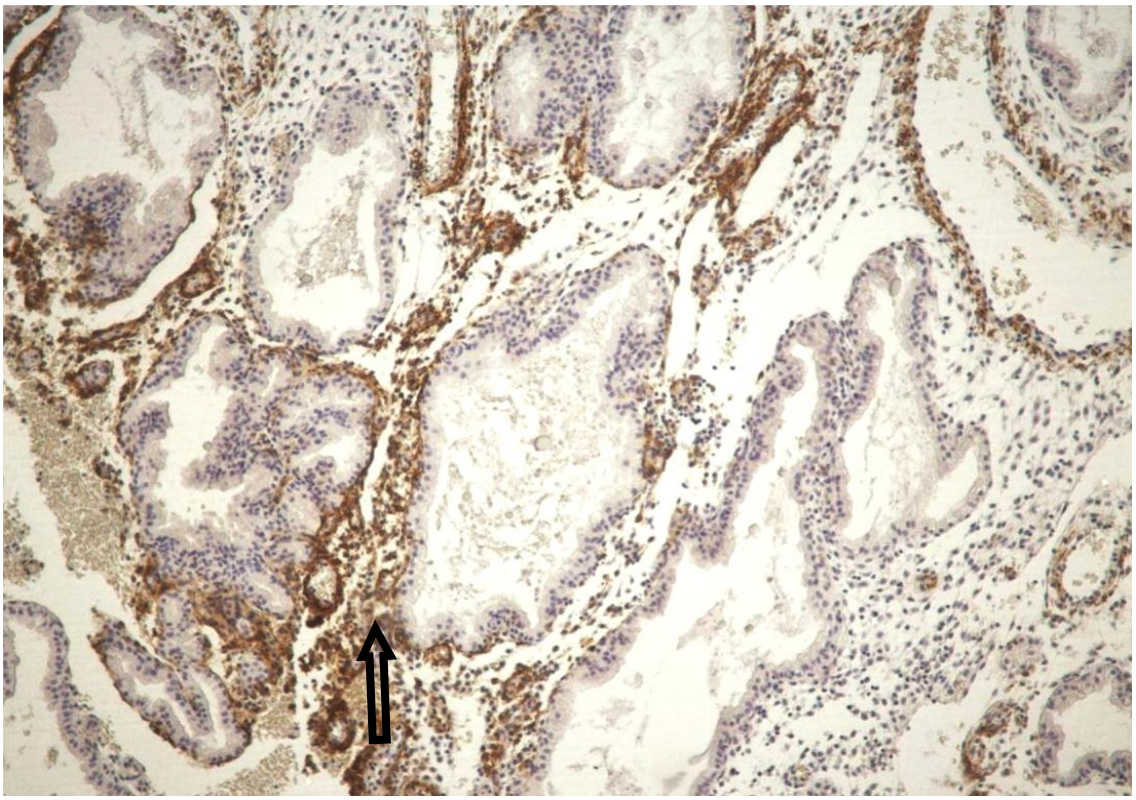
3.42. attēls. Perifērajā trofoblastā un endometrija stromā redzamas daudz FGFR1 pozitīvo struktūru. FGFR1 IMH x250.



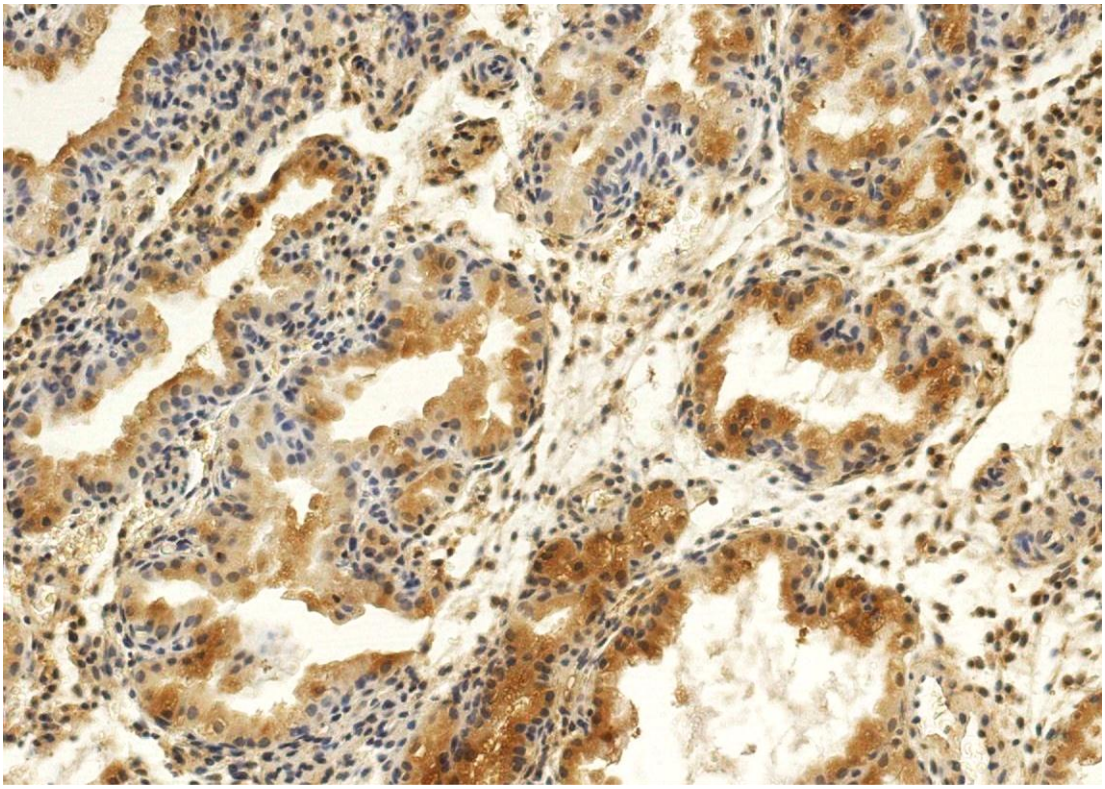
3.43. attēls. Daudz NGF pozitīvo šūnu redzamas *decidua basalis* epitēlijā (bultiņa) dzemdes grūtniecības gadījumā. NGF IMH x250.



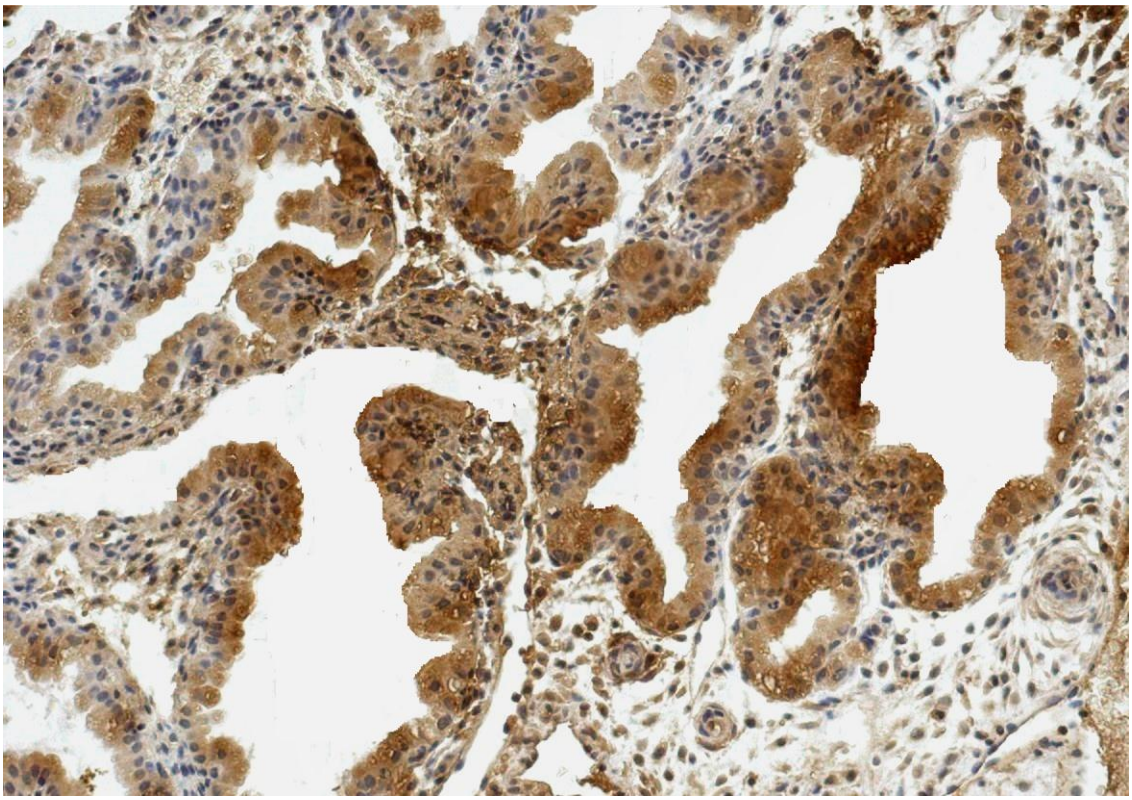
3.44. attēls. Daudz NGF pozitīvo šūnu atrodamas endometrija stromā dzemdes grūtniecības gadījumā. NGF IMH x400.



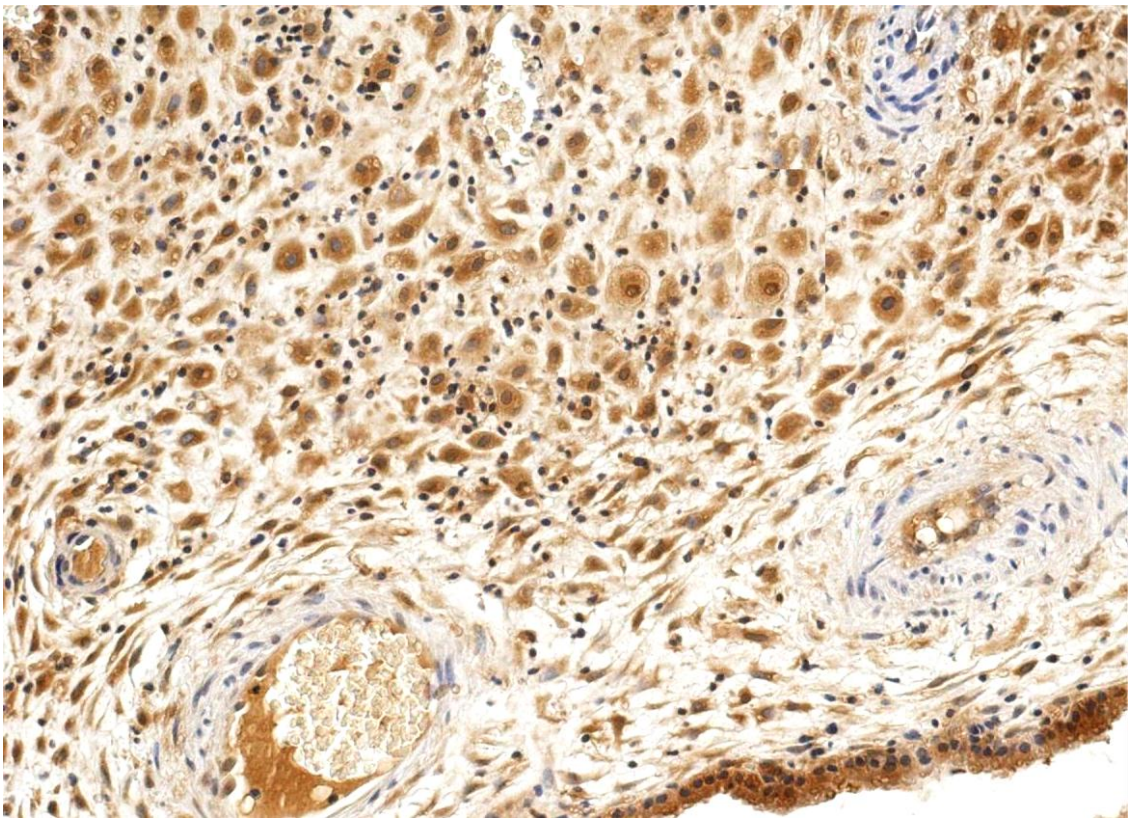
3.45. attēls. Vidējs NGFR p75 saturošo nervu šķiedru daudzums (bultiņa) lokalizējas atlobenes stromā. NGFRp75 IMH x100.



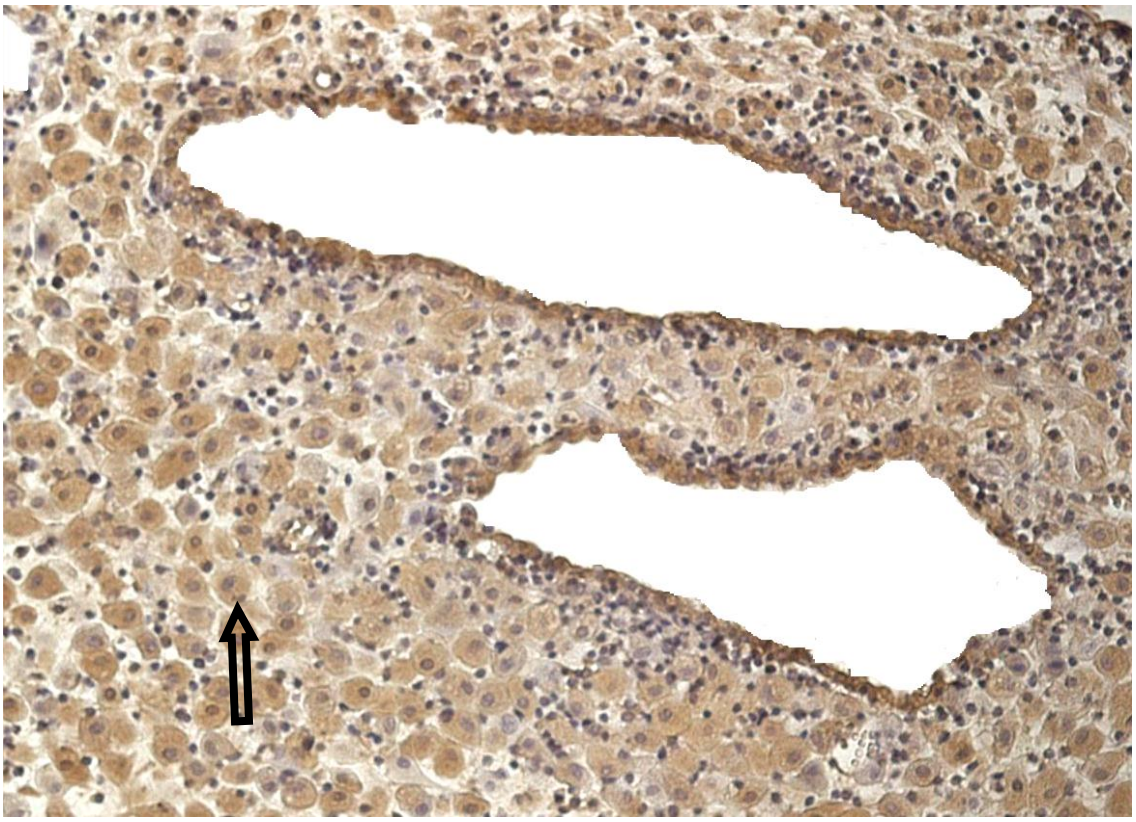
3.46. attēls. Daudz IGF-1R pozitīvo šūnu redzamas endometrijā dzemdes grūtniecības gadījumā. IGF-1R IMH x200.



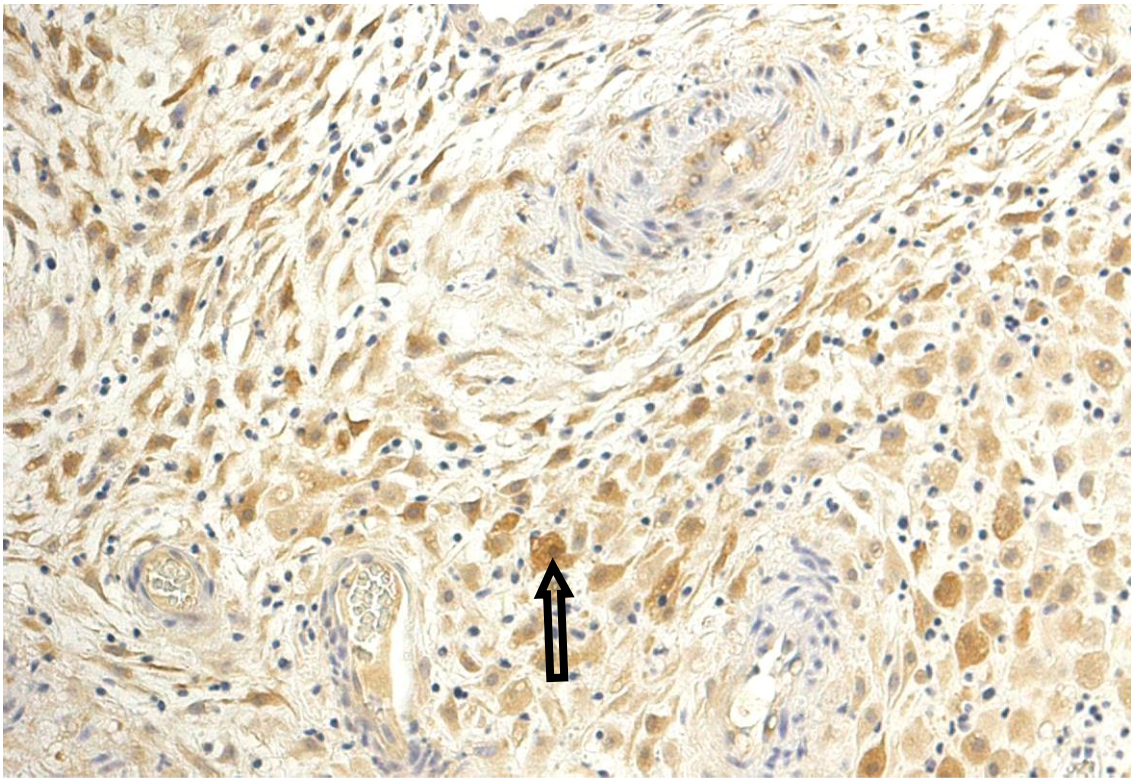
3.47. attēls. Attēlā redzamas endometrijā konstatētās daudz IGF-1 pozitīvās šūnas dzemdes grūtniecības gadījumā. IGF-1 IMH x200.



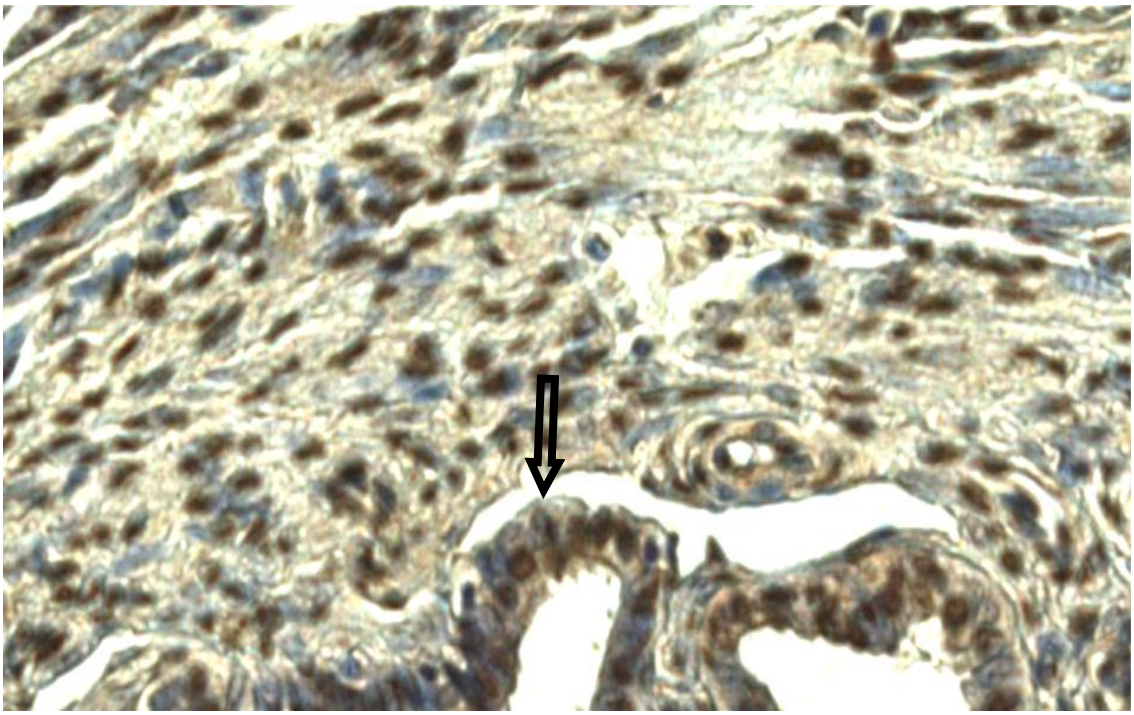
3.48. attēls. Vidējs IGF-1 pozitīvo šūnu daudzums perifērajā trofoblastā redzams endometrijā dzemdes grūtniecības gadījumā. IGF-1 IMH x250.



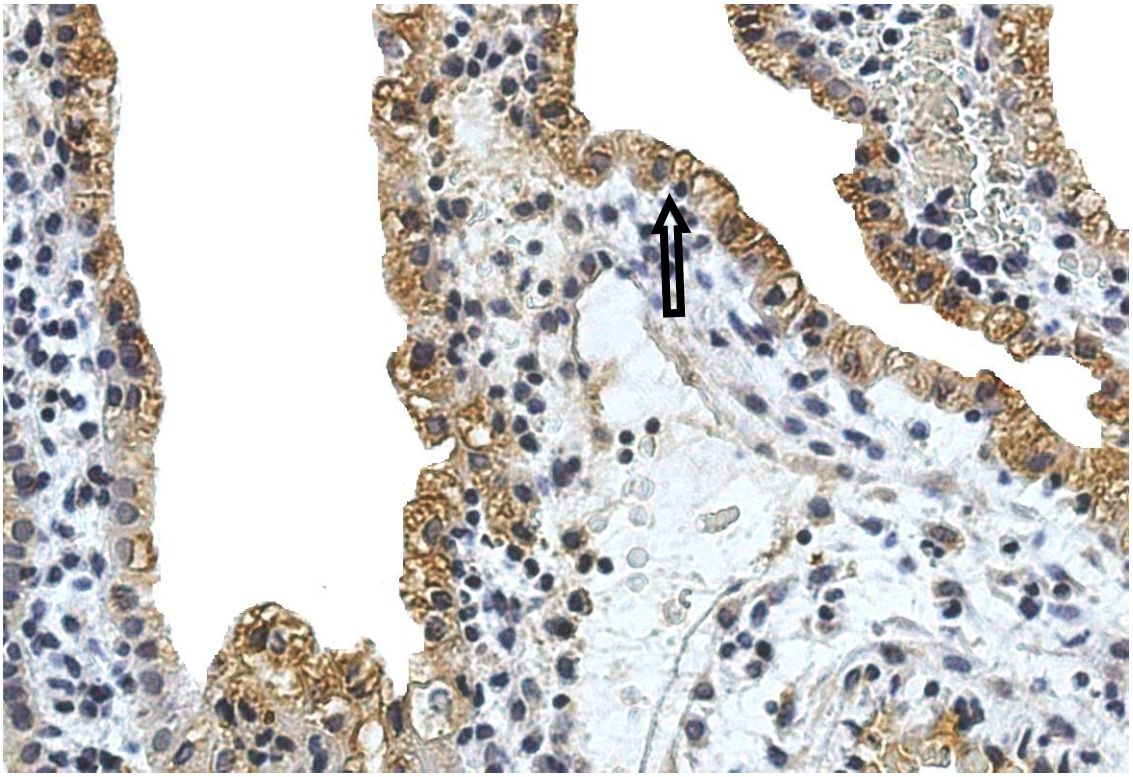
3.49. attēls. Endometrijā novēro daudz HGF pozitīvo periferā trofoblasta šūnu (bultiņa). HGF IMH x200



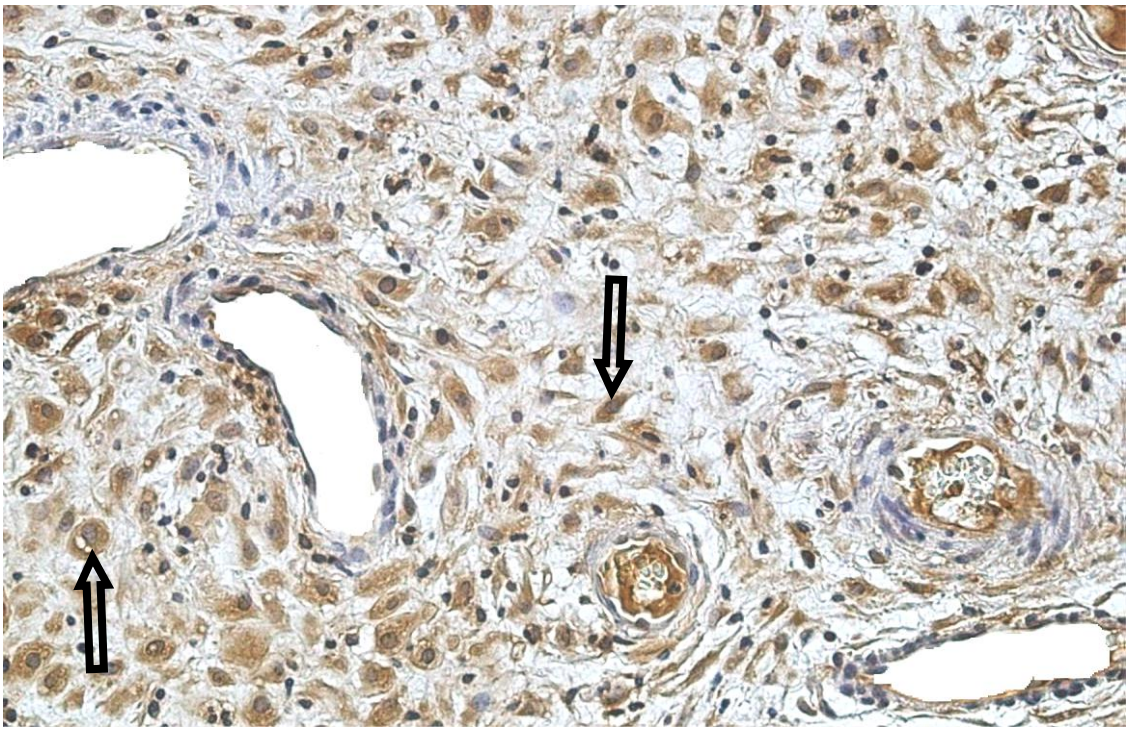
3.50. attēls. Vidēji daudz periferā trofoblasta (bultiņa) un endometrija stromas šūnu saturēja PGP 9.5. PGP 9.5 IMH x200.



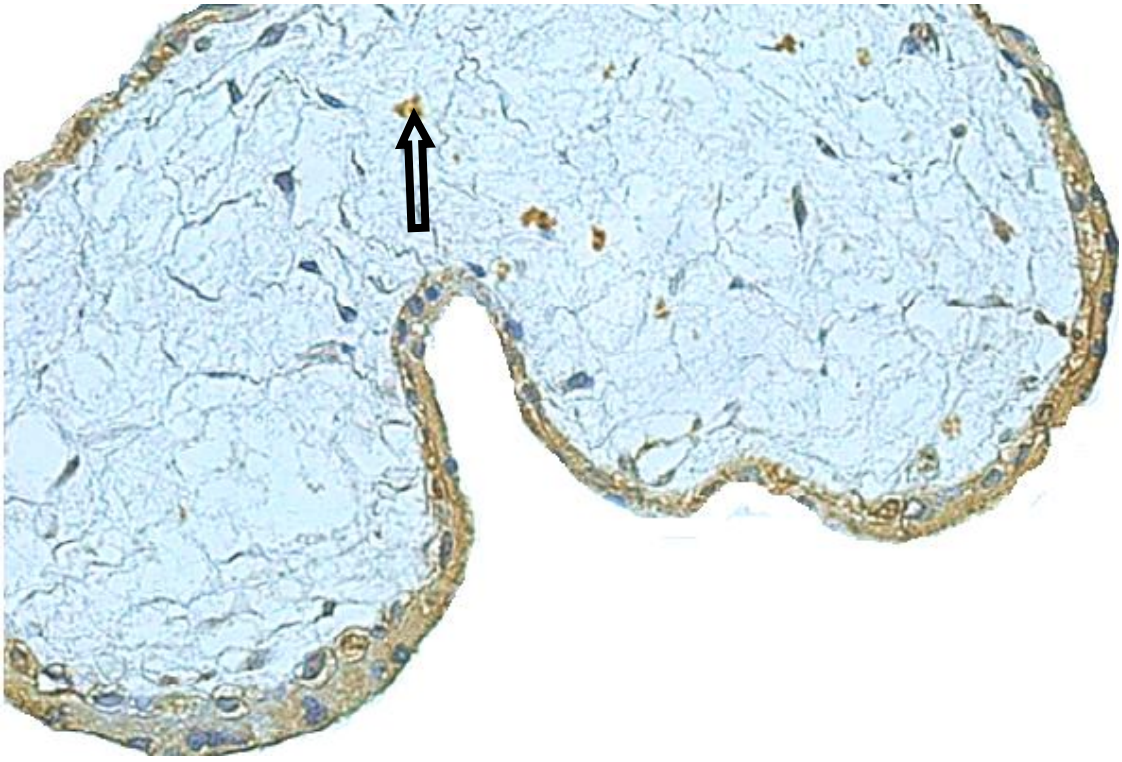
3.51. attēls. Atlobene satur daudz apoptotisko šūnu gan epitēlijā (bultiņa), gan stromā. *TUNEL* x400.



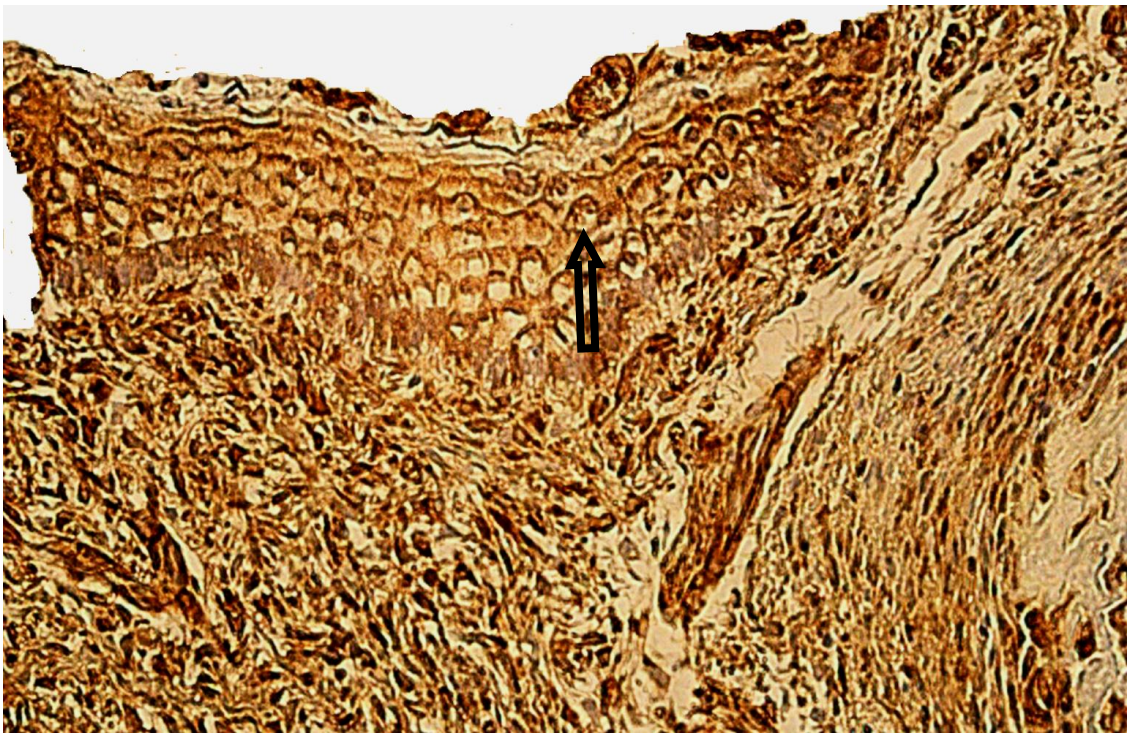
3.50. attēls. Daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru konstatē endometrija epitēlijā (bultiņa). Cilvēka defensīna beta 2 IMH x250.



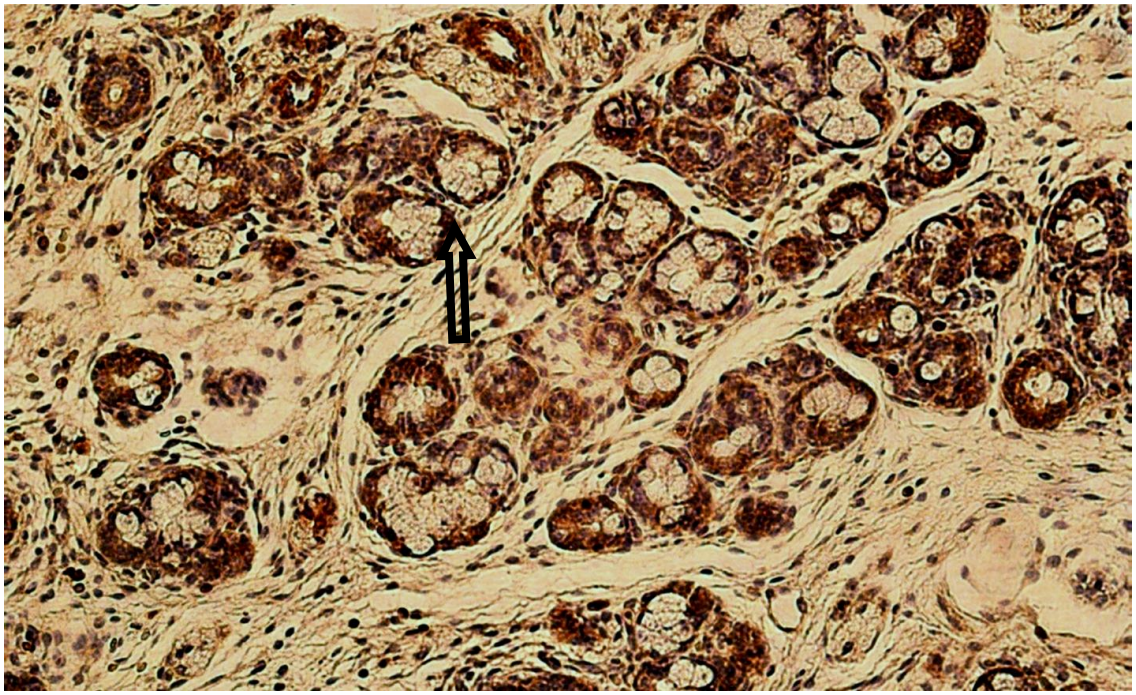
3.53. attēls. Daudz cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu, t.i., makrofāgu un neitrofilo leikocītu endometrijā (bultiņa). Cilvēka defensīna beta 2 IMH x400.



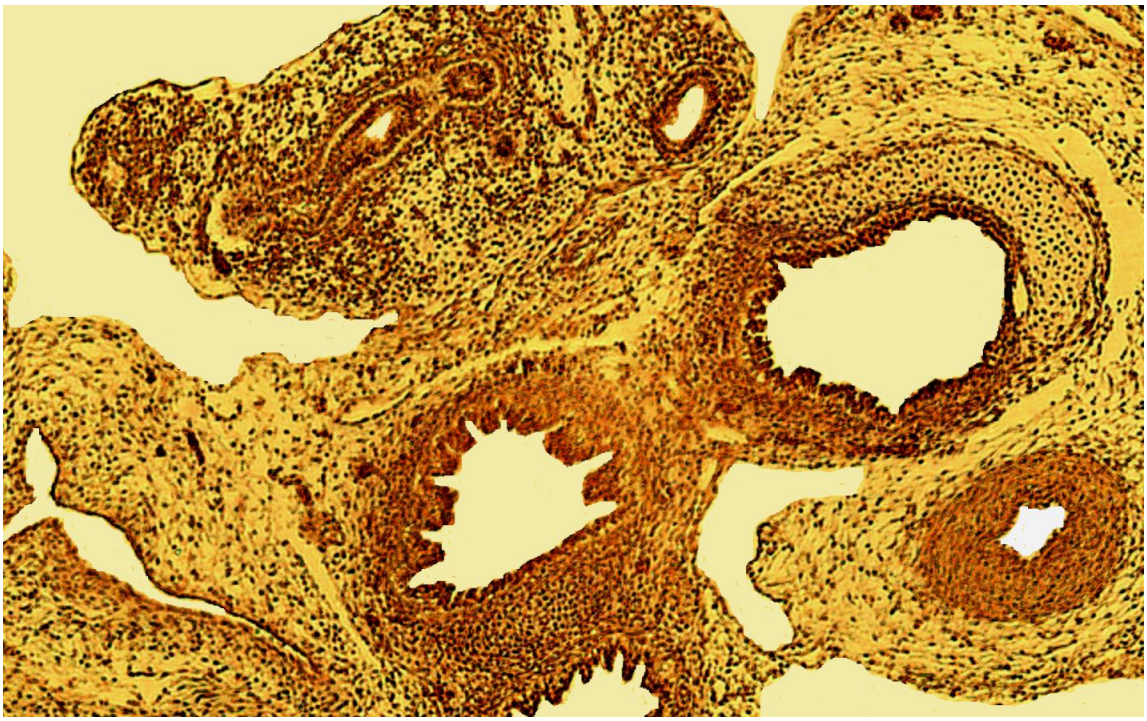
3.54. attēls. Vidējs daudzums cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo struktūru saskatāmas citotrofoblastā, sincītijtrofoblastā un ekstraembrionālā mezenhīmā (bultiņa). Cilvēka defensīna beta 2 IMH x400.



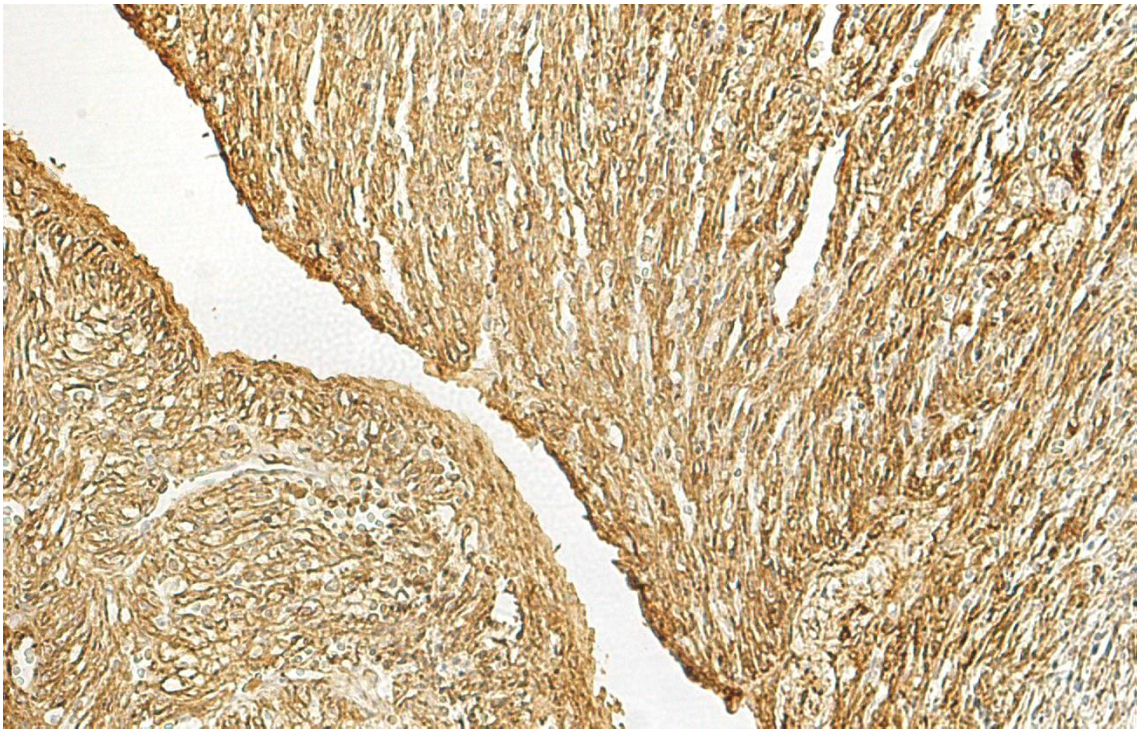
3.55. attēls. Daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu redzamas embrija ādas epitēlijā (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x250.



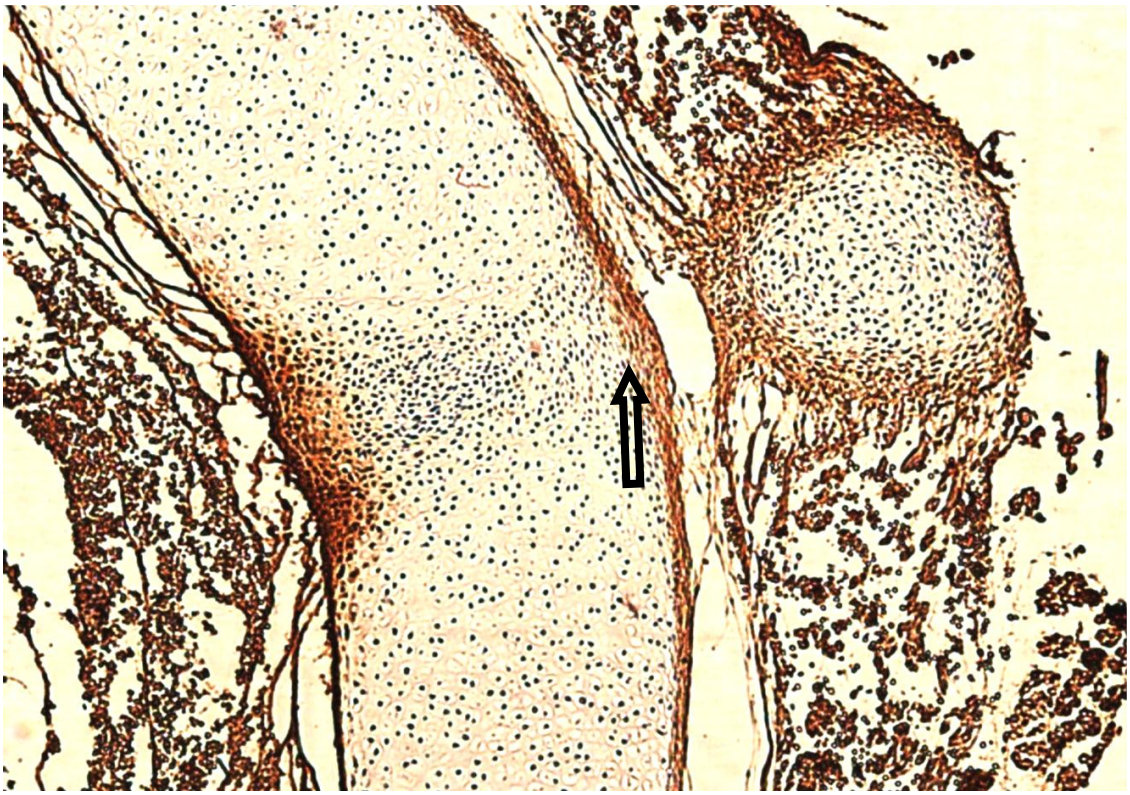
3.56. attēls. Attēla redzamas daudz TGF beta 1 pozitīvo šūnu embrija zemmēles siekalu dziedzerī (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x400.



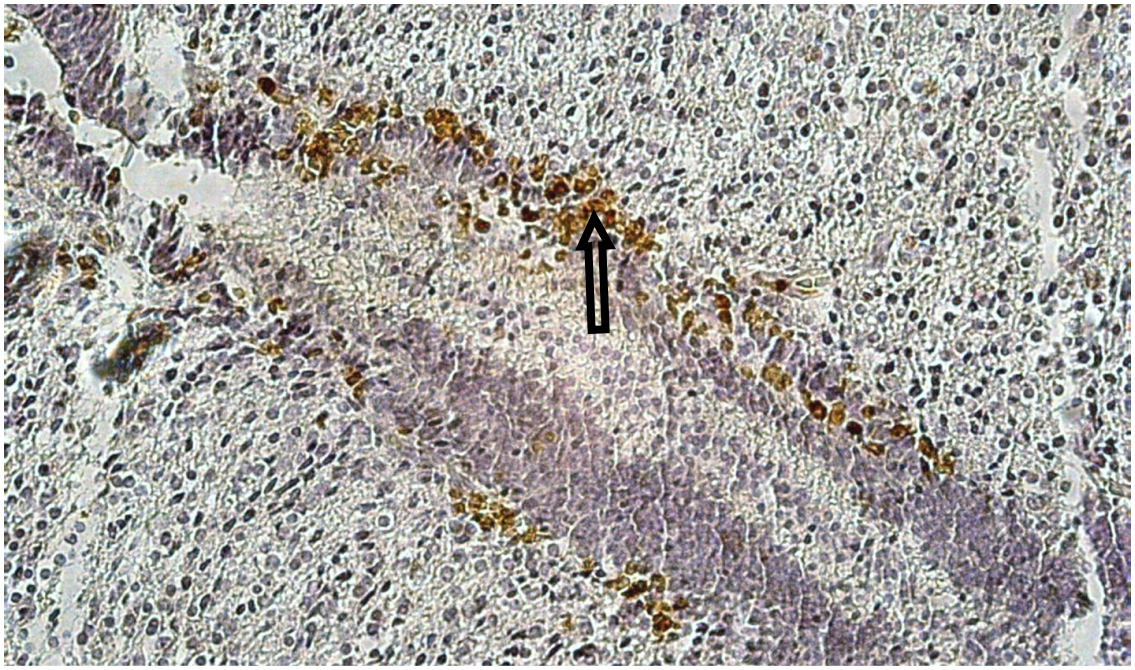
3.57. attēls. Plaušas viltus dziedzera attīstības stadijā. Daudz epitēlija un saistaudu šūnu ir TGF beta 1 pozitīvās. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x100.



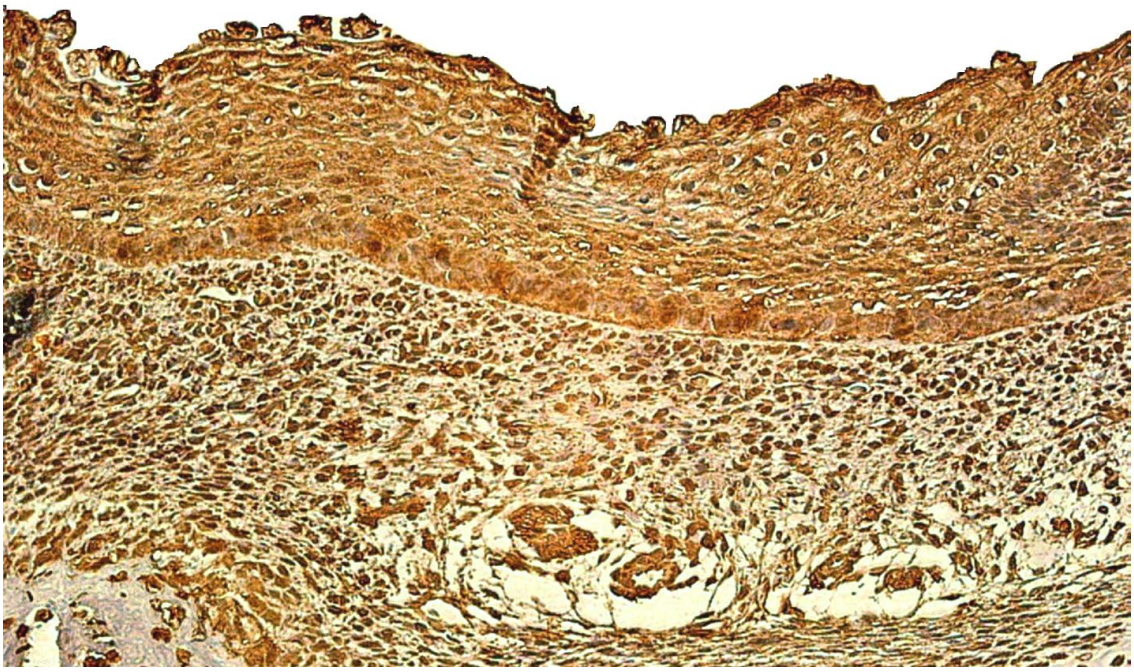
3.58. attēls. Embrija sirdī TGF beta 1 pozitīvās šūnas bija difūzi sadalītas miokardā un perikardā. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x400.



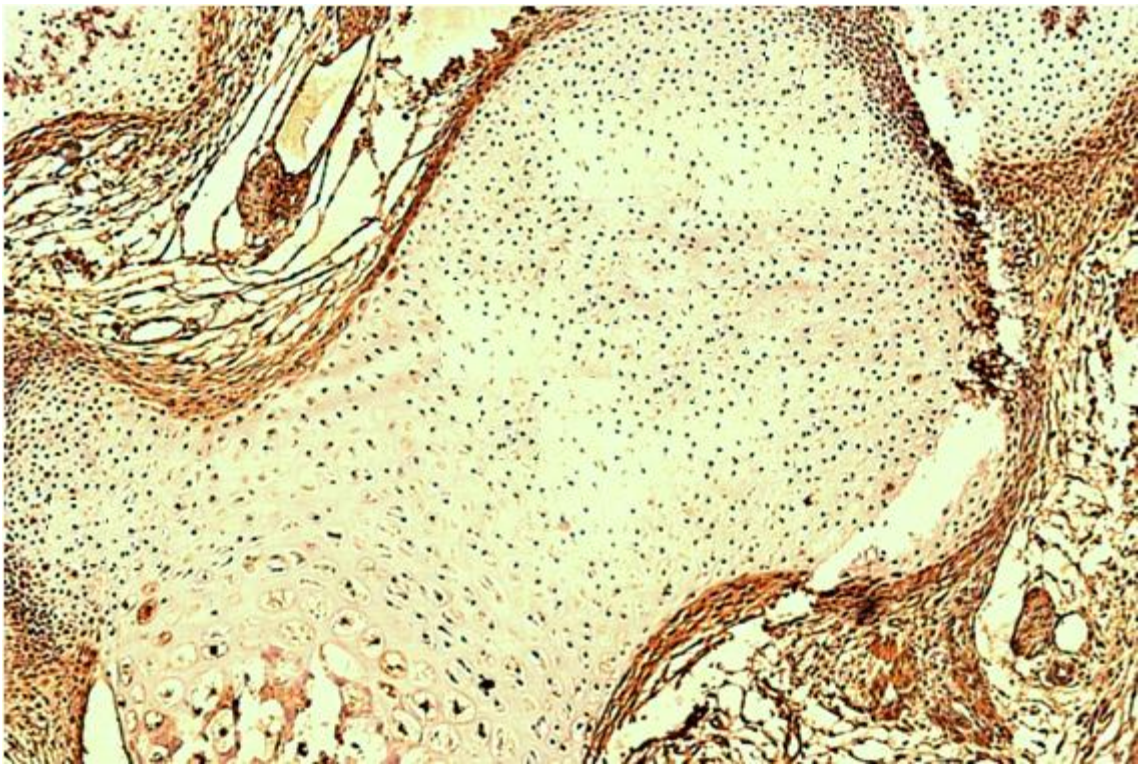
3.59. attēls. Embrija šūnas satur TGF beta 1 perihondrā, skrimšļa proliferācijas zonā (bultiņa) un sklerogēnajā mezenhīmā. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x250.



3.60. attēls. Attēla redzamas atsevišķas TGF beta 1 pozitīvās šūnas (bultiņa) nervu caurulītes ependimālajā slānī. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. TGF beta 1 IMH x400.

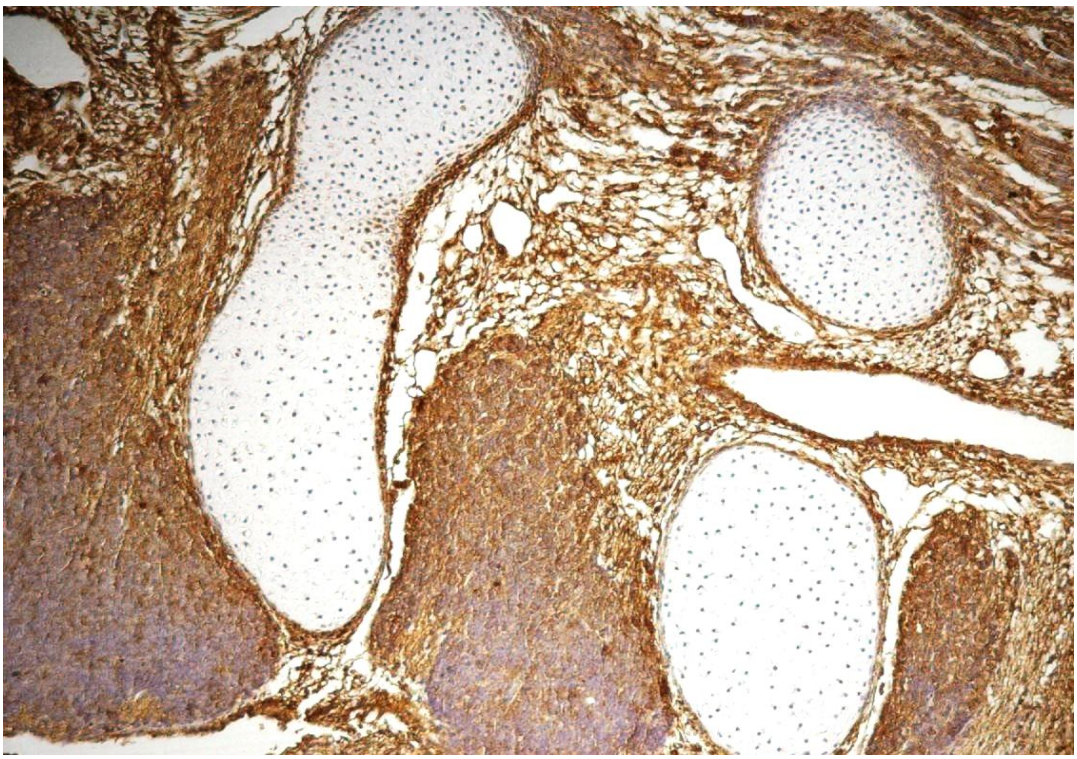


3.61. attēls. Daudz FGFR1 pozitīvo struktūru atrodamas embrija ādā un zemādā. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. FGFR1 IMH x250.



3.62. attēls. Daudz FGFR1 pozitīvo šūnu redzamas embrija sklerogēnajā mezenhīmā un perihondrā. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. FGFR1 IMH x250.

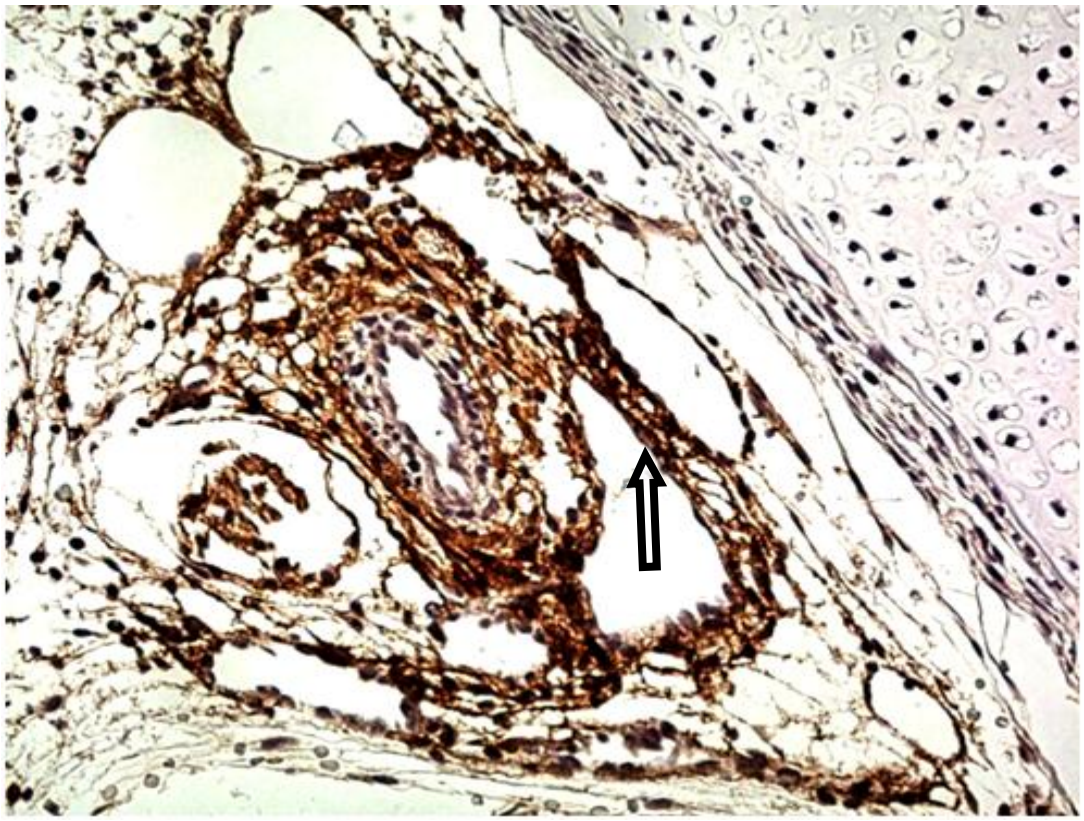
3.63. attēls. Embrija miokards ar vidēju FGFR1 pozitīvo struktūru daudzumu. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. FGFR1 IMH x250.



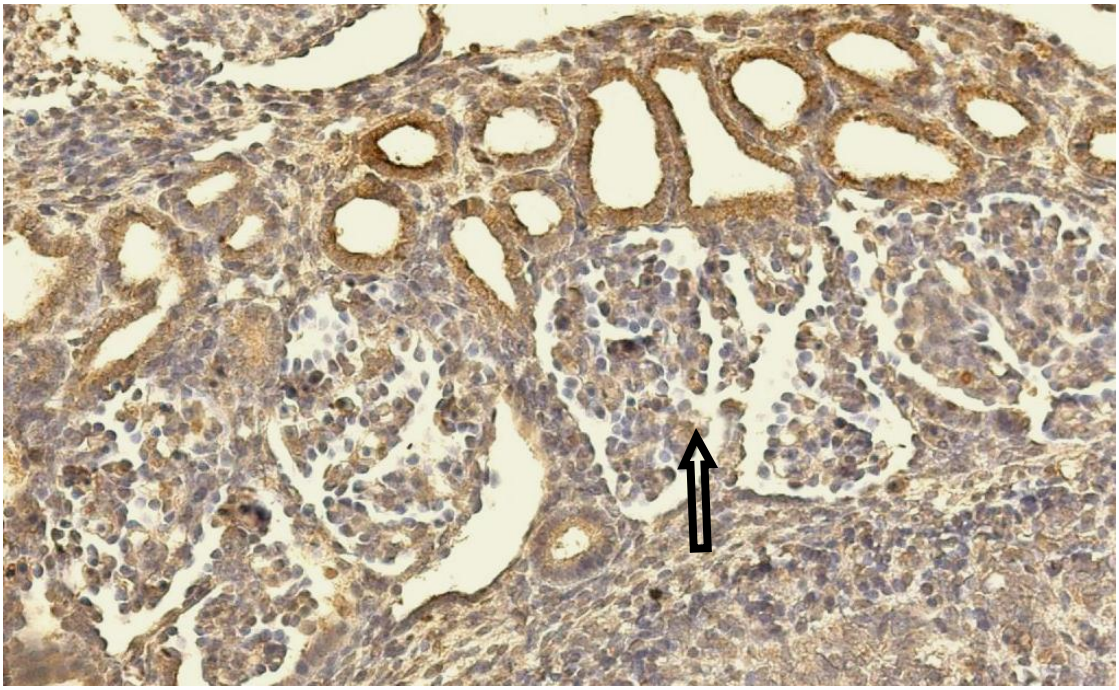
3.64. attēls. Spinālie gangliji, muskuļšķiedru, nervu šķiedru plazmolemmas un endoteliocīti satur daudz FGFR1 pozitīvo struktūru. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. FGFR1 IMH x250.

3.65. attēls. Vidējs bFGF viegli pozitīvo šūnu daudzums embrija *mesonephros* epitēlijā (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. FGFR1 IMH x250.

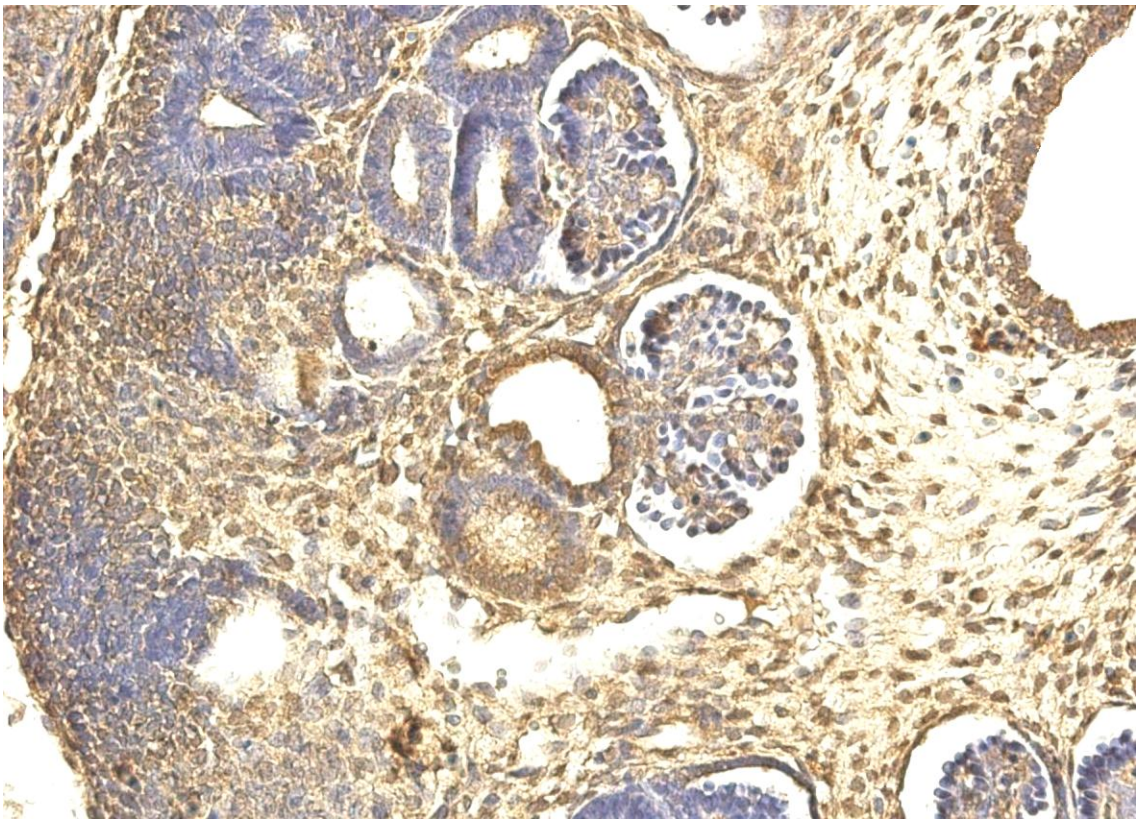
3.66. attēls. Daudz NGFRp75 nervu šķiedru un vidēji daudz gangliocītu (bultiņa) redzamas spinālajos ganglijos. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. NGFRp75 IMH x400.



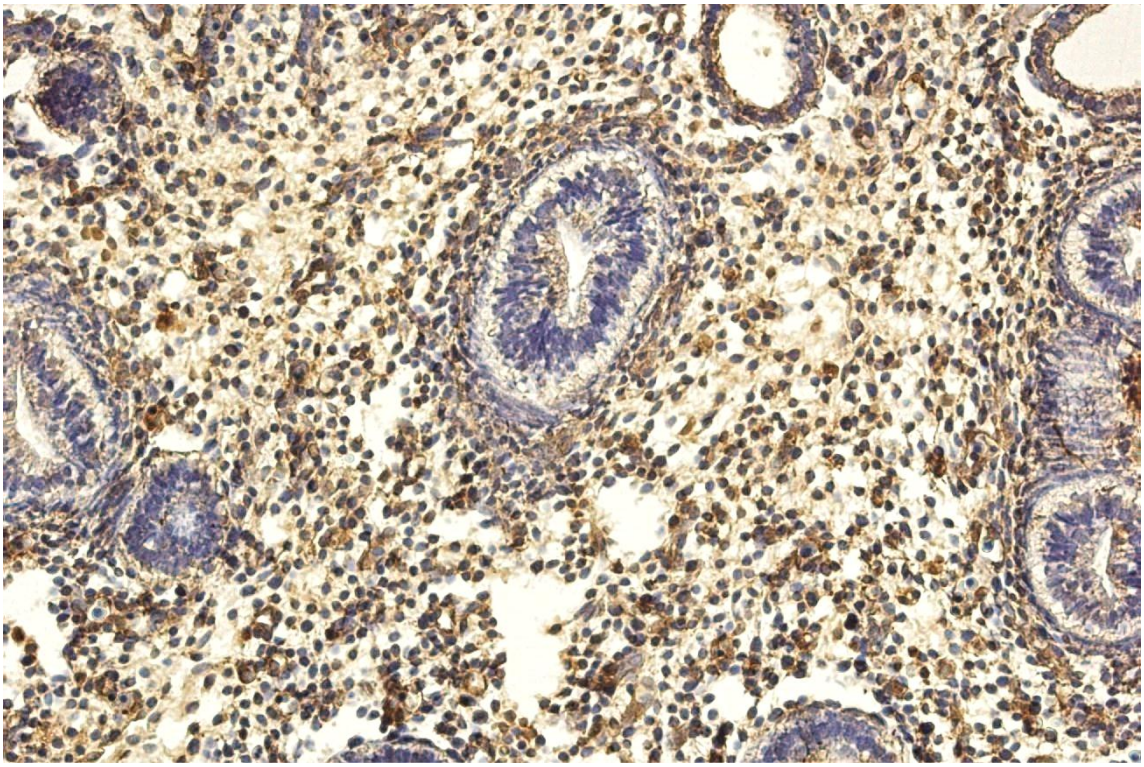
3.67. attēls. Daudz NGFRp75 pozitīvās nervu šķiedras redzamas ap asinsvadiem (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. NGFRp75 IMH x400.



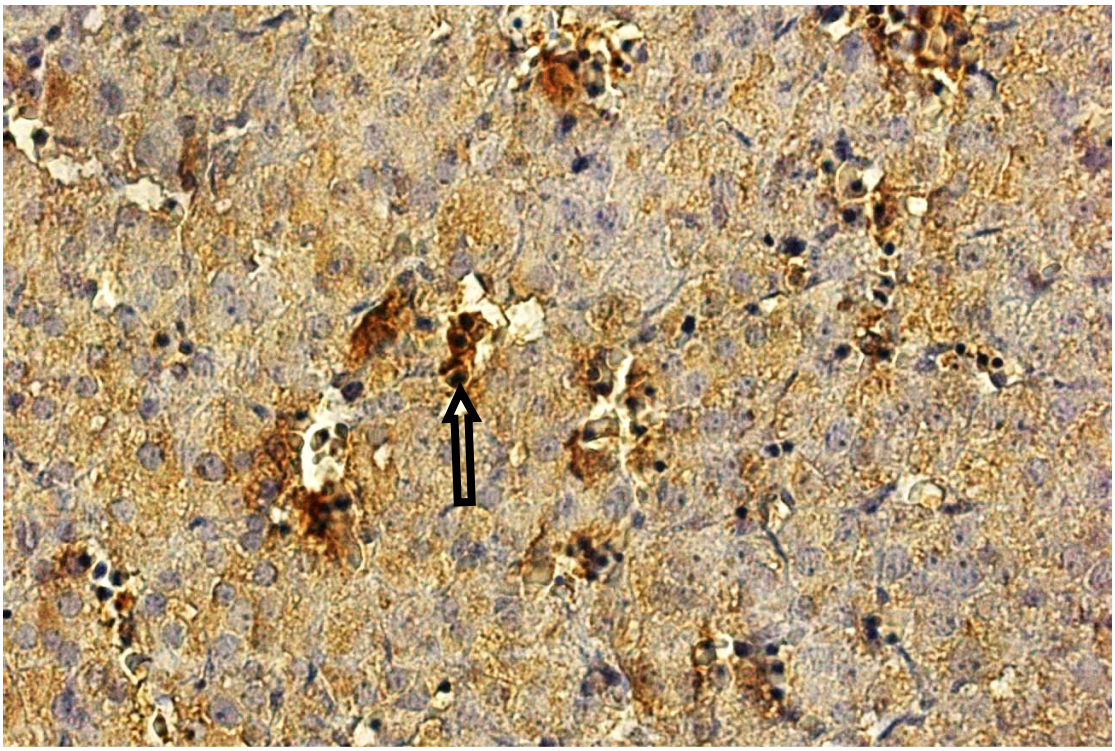
3.68. attēls. Daudz IGF-1 pozitīvo šūnu lokalizējas embrija *mesonephros* tubulārajā epitēlijā un kamoliņos (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1 IMH x250



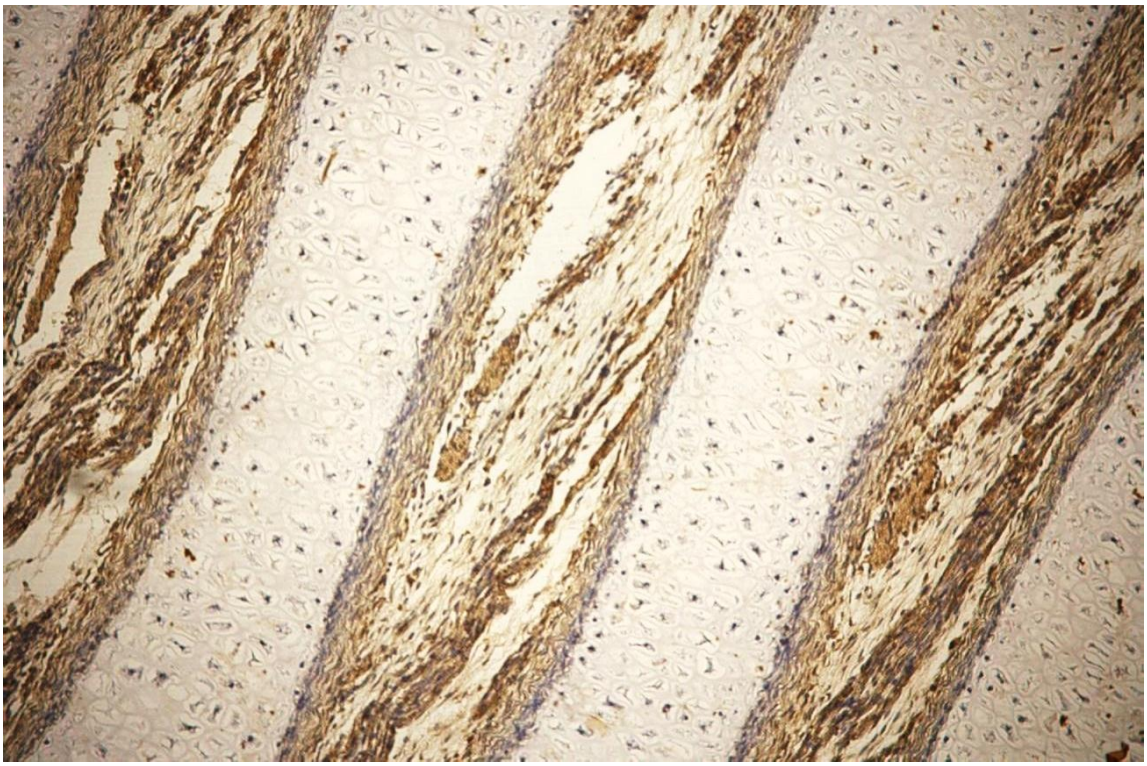
3.69. attēls. Daudz IGF-1R pozitīvo šūnu atrodams embrija *mesonephros*. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1R IMH x400.



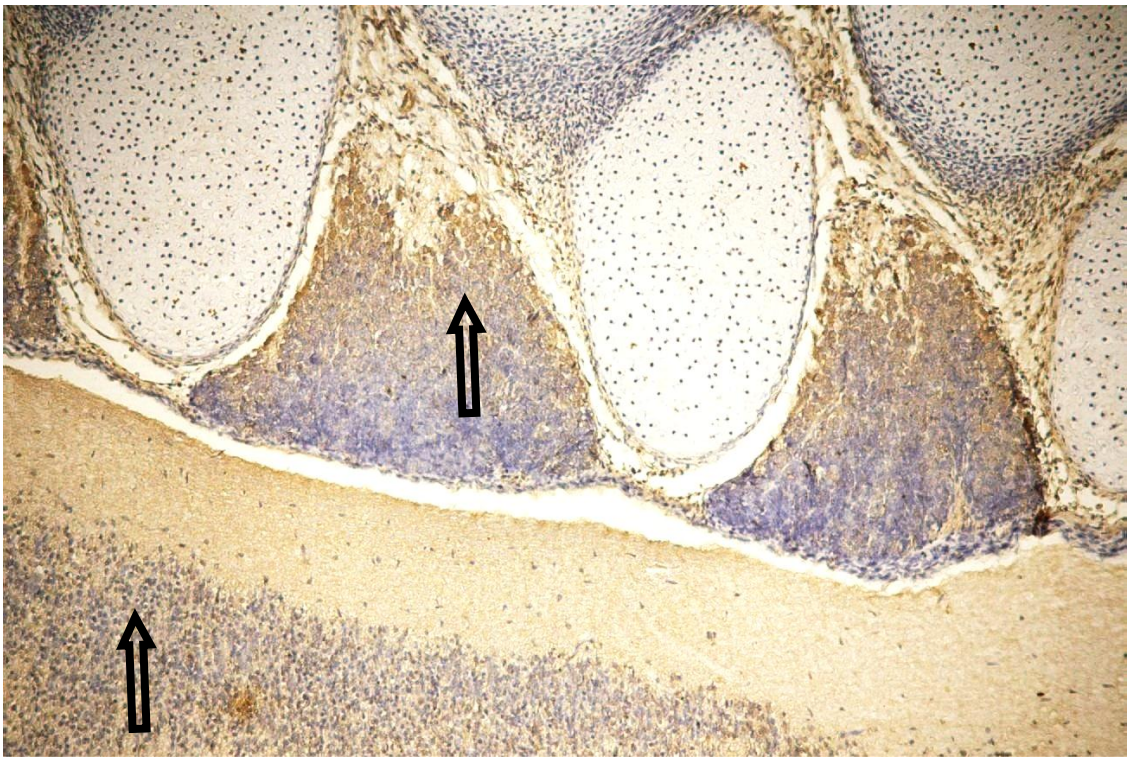
3.70. attēls. Embrija plaušās viltus dziedzera attīstības stadijā redzamas daudz IGF-1R pozitīvo šūnu. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1R IMH x250.



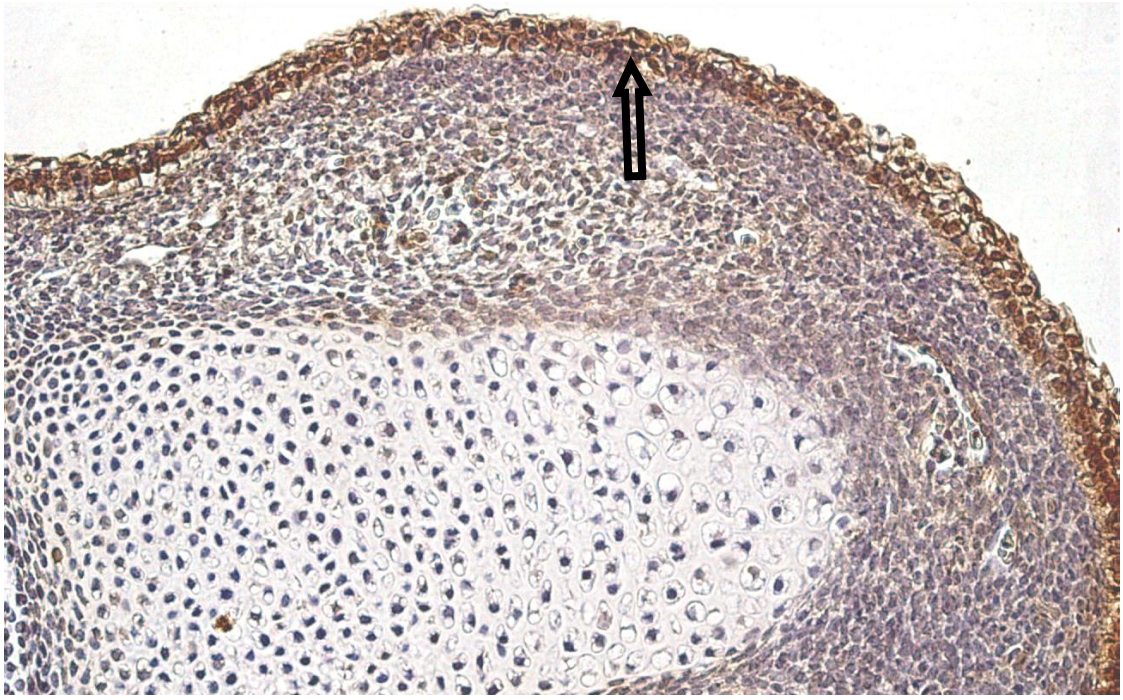
3.71. attēls. IGF-1R pozitīvās šūnas (bultiņa) lielā daudzumā perēkļveidā redzamas embrija aknās. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1R IMH x400.



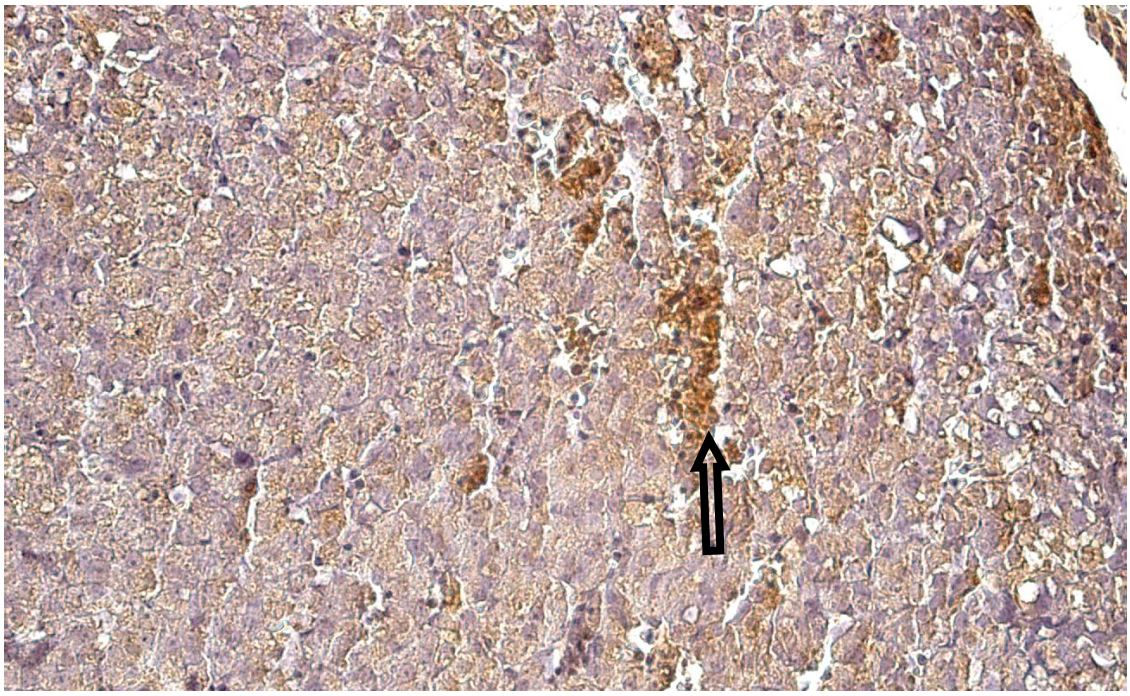
3.72. attēls. Sklerogēnā mezenhīma un perihondrs ar vidēju IGF-1R pozitīvo šūnu daudzumu. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1R IMH x400.



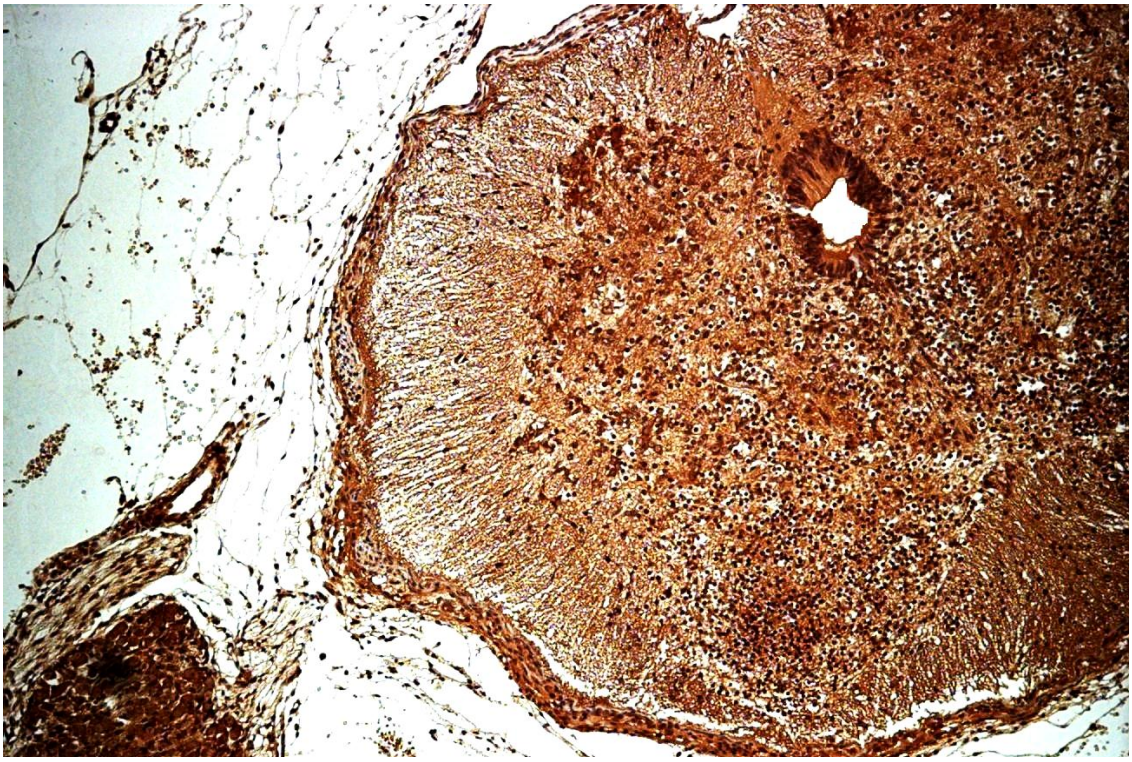
3.73. attēls. Spinālajos ganglijos (bultiņa) un nervu caurulītes apmetņa slānī redzams vidējs IGF-1R pozitīvo šūnu daudzums. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. IGF-1R IMH x100.



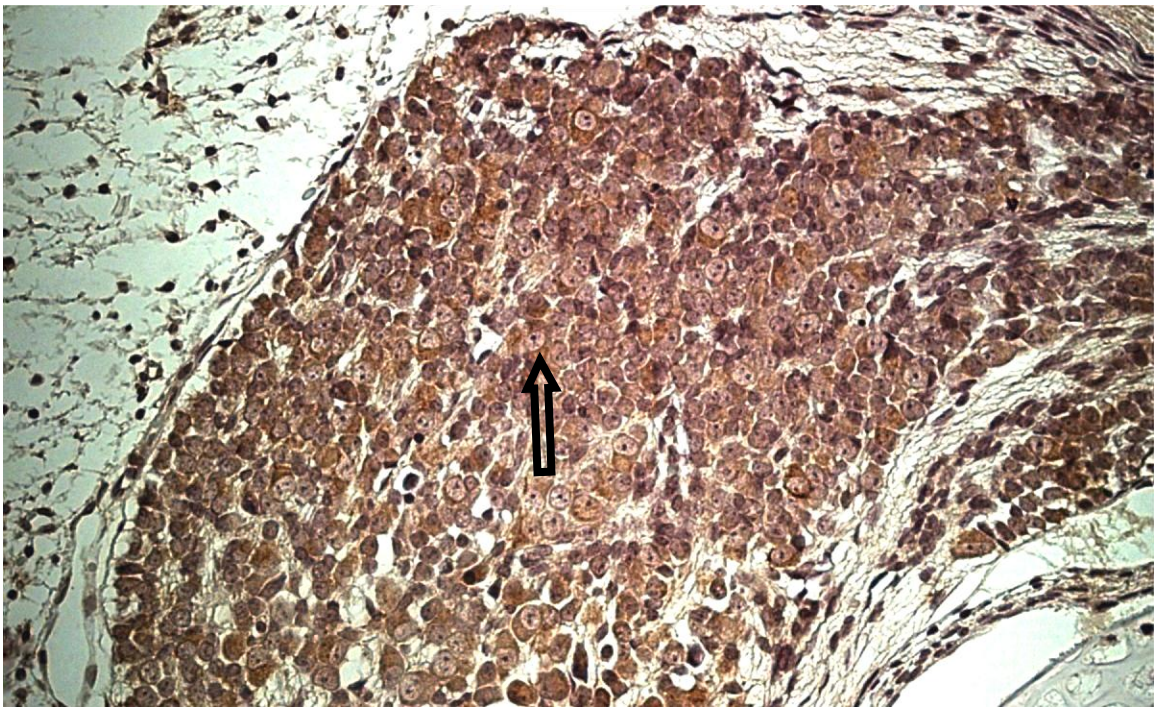
3.74. attēls. Daudz HGF pozitīvo šūnu embrija ādas epitēlijā (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. HGF IMH x250.



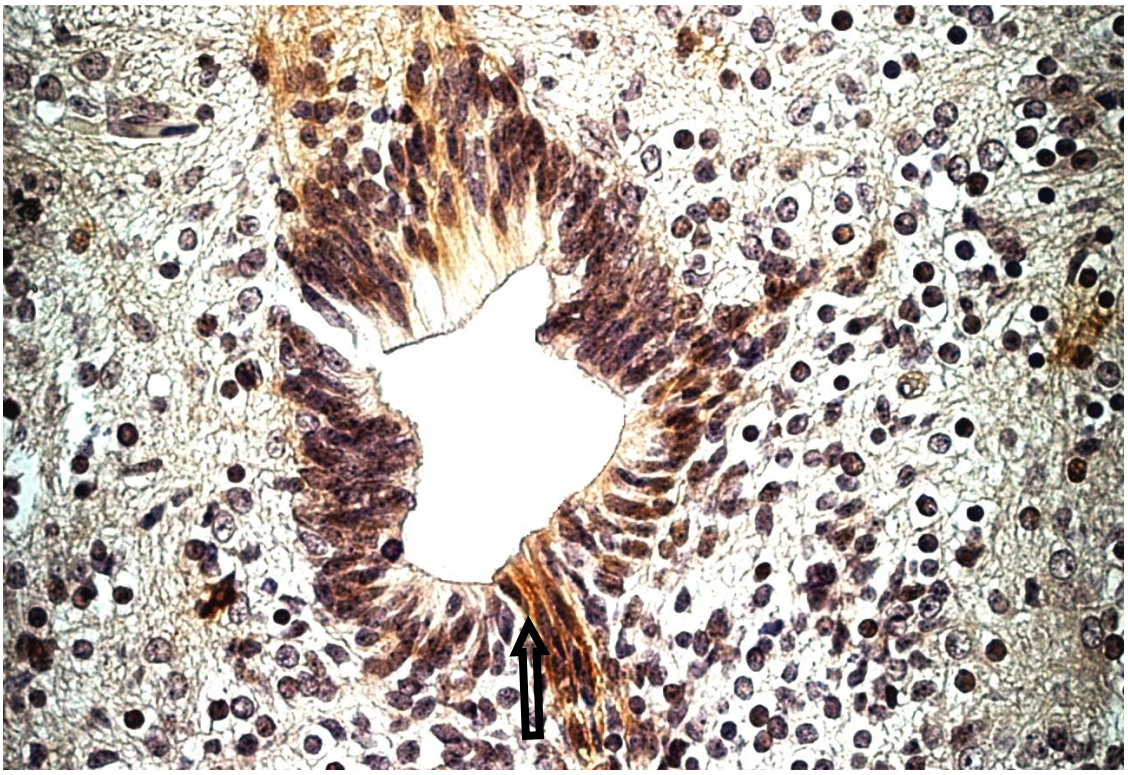
3.75. attēls. Vidējs HGF pozitīvo šūnu daudzums embrija aknās (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. HGF IMH x250.



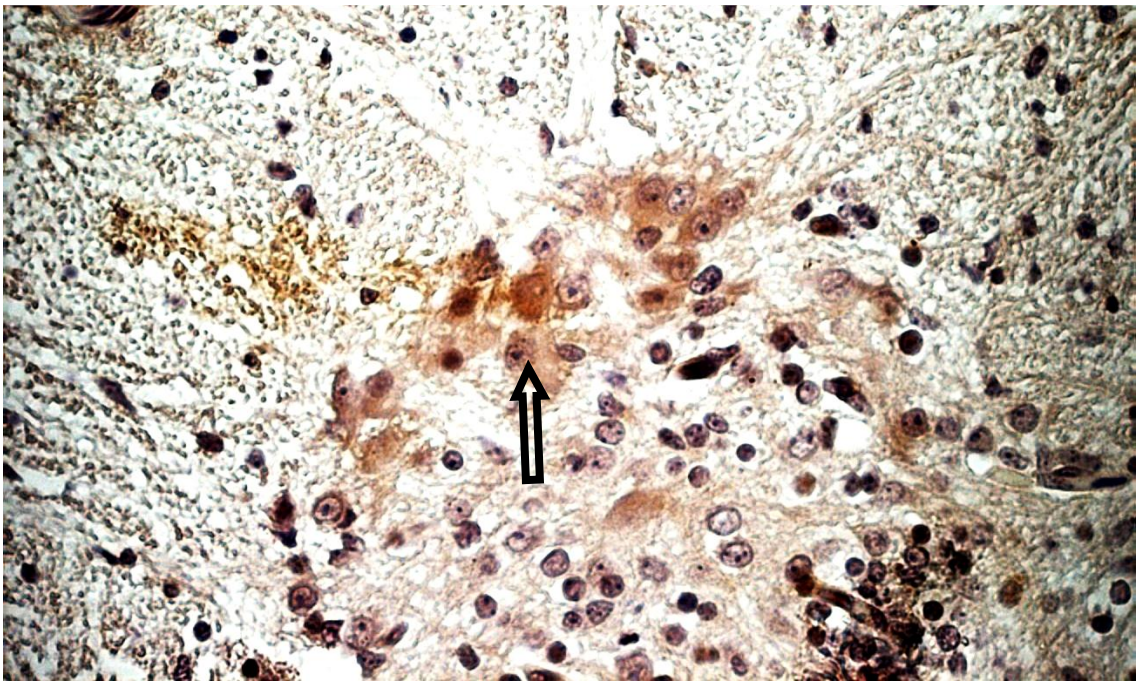
3.76. attēls. Embrija spinālajos ganglijos, CNS apvalkos un nervu caurulītes ependimas, apmetņa un marginālajā zonā redzams daudz sinaptofizīna pozitīvo šūnu. Embrija attīstības laiks atbilst 12. embrionālās attīstības nedēļai. Sinaptofizīns IMH x100.



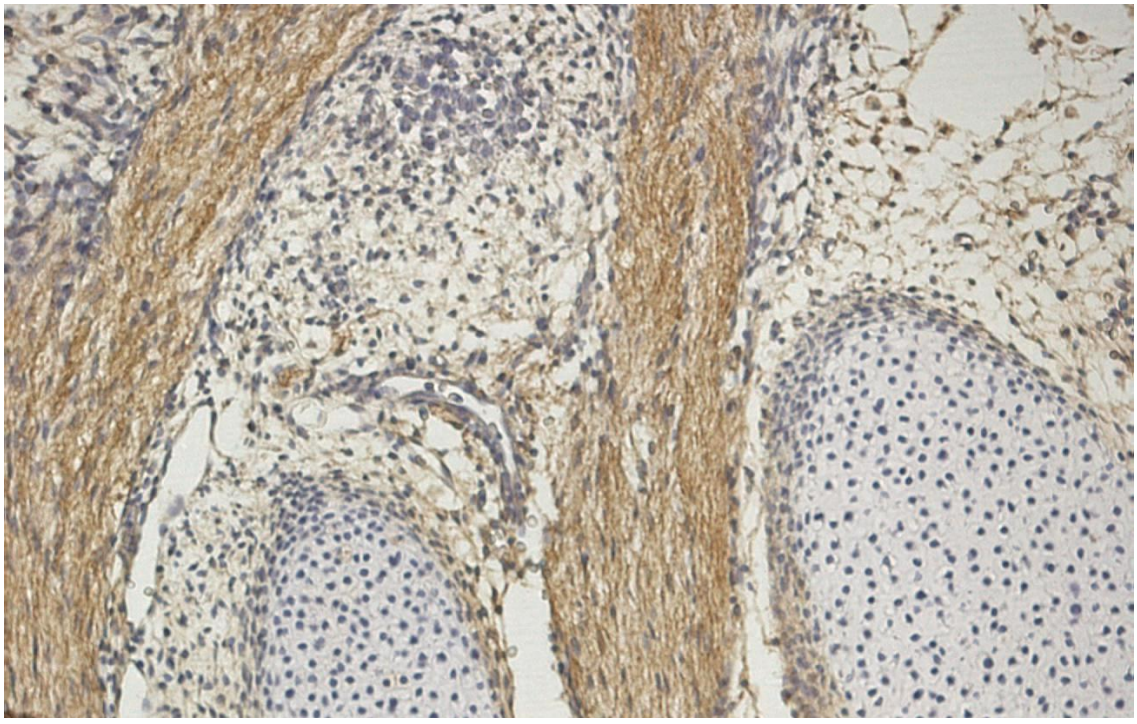
3.77. attēls. Vidējs hromogranīna A un B pozitīvo šūnu (bultiņa) daudzums redzams embrija spinālajos ganglijos. Embrija attīstības laiks atbilst 12. embrionālās attīstības nedēļai. Hromogranīns A un B IMH x400.



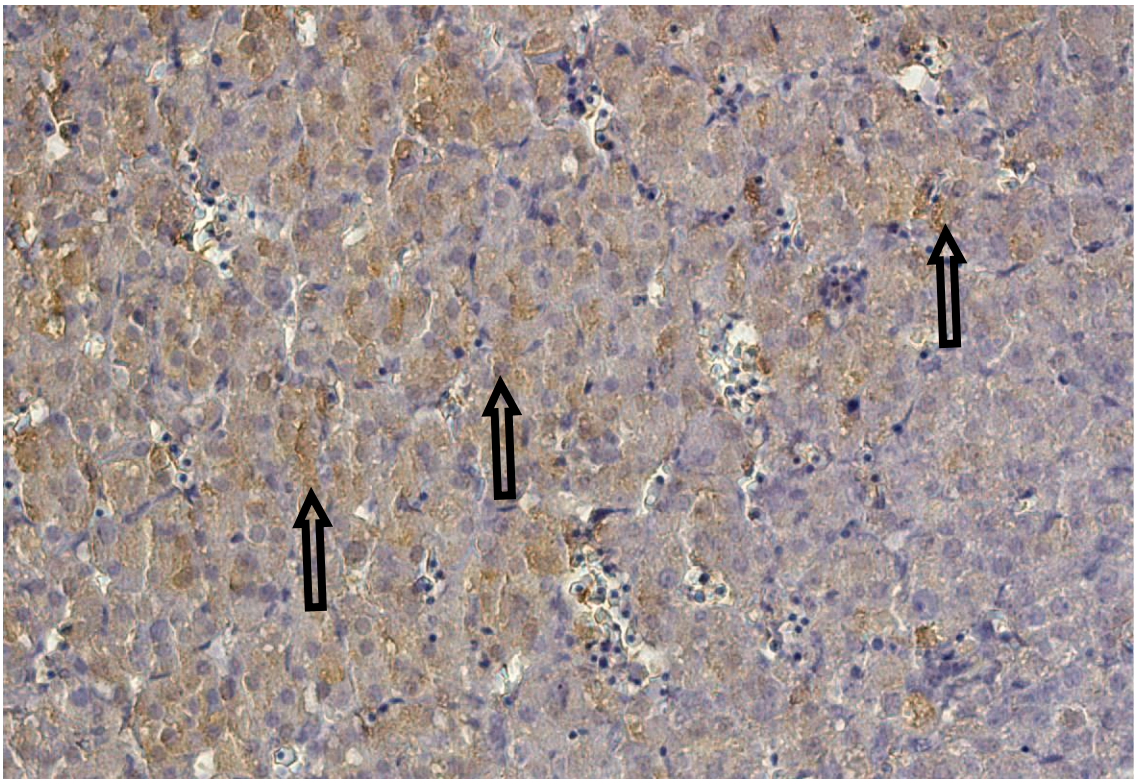
3.78. attēls. Daudz GFAP pozitīvās šūnas (bultiņa) lokalizējas embrija nervu caurulītes ependimas slānī. Embrija attīstības laiks atbilst 12. embrionālās attīstības nedēļai. GFAP IMH x400.



3.79. attēls. Attēlā redzami embrija nervu caurulītes apmetņa zonas GFAP pozitīvie motorie neironi (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 12. embrionālās attīstības nedēļai. GFAP IMH x400.



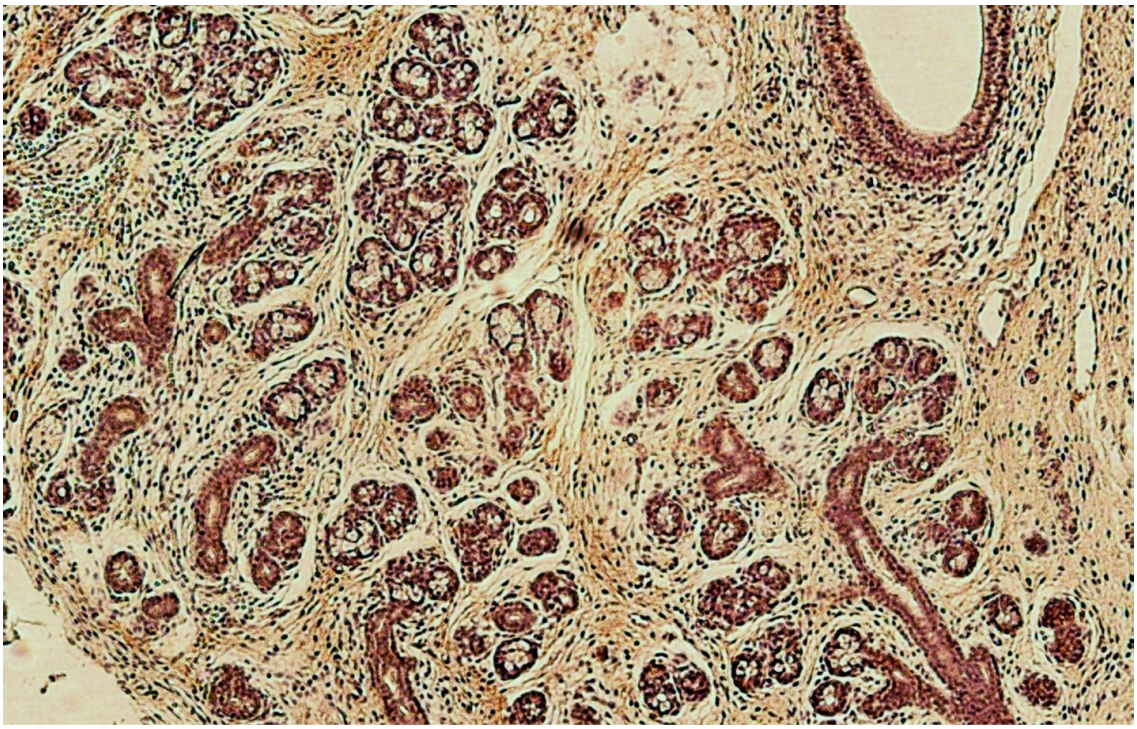
3.80. attēls. PGP 9.5 pozitīvas nervu šķiedras lielā daudzumā novēro embrija audos. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. PGP 9.5 IMH x250.



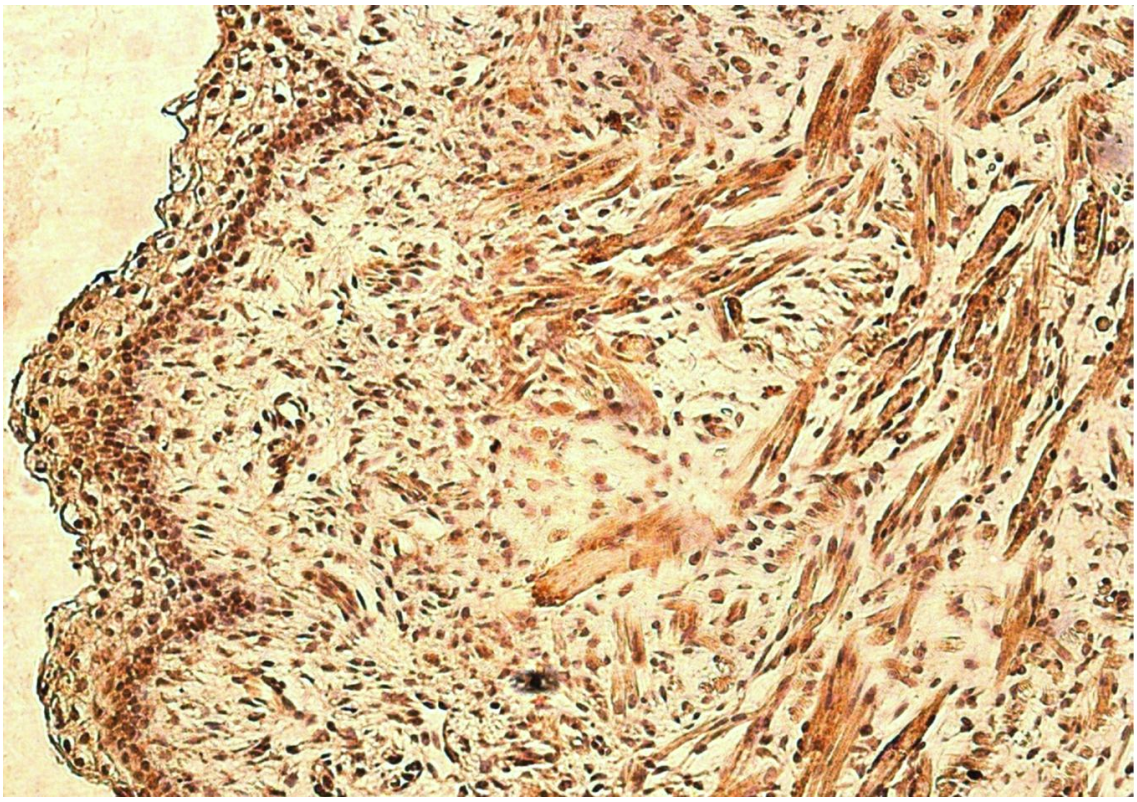
3.81. attēls. Atsevišķas šūnas embrija aknās ekspresē PGP 9.5 (bultiņas). Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. PGP 9.5 IMH x250.

3.82. attēls. Embrija ādas epitēlijs (bultiņa) visos slāņos demonstrē daudz CK13 pozitīvo šūnu. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. CK 13 IMH x100.

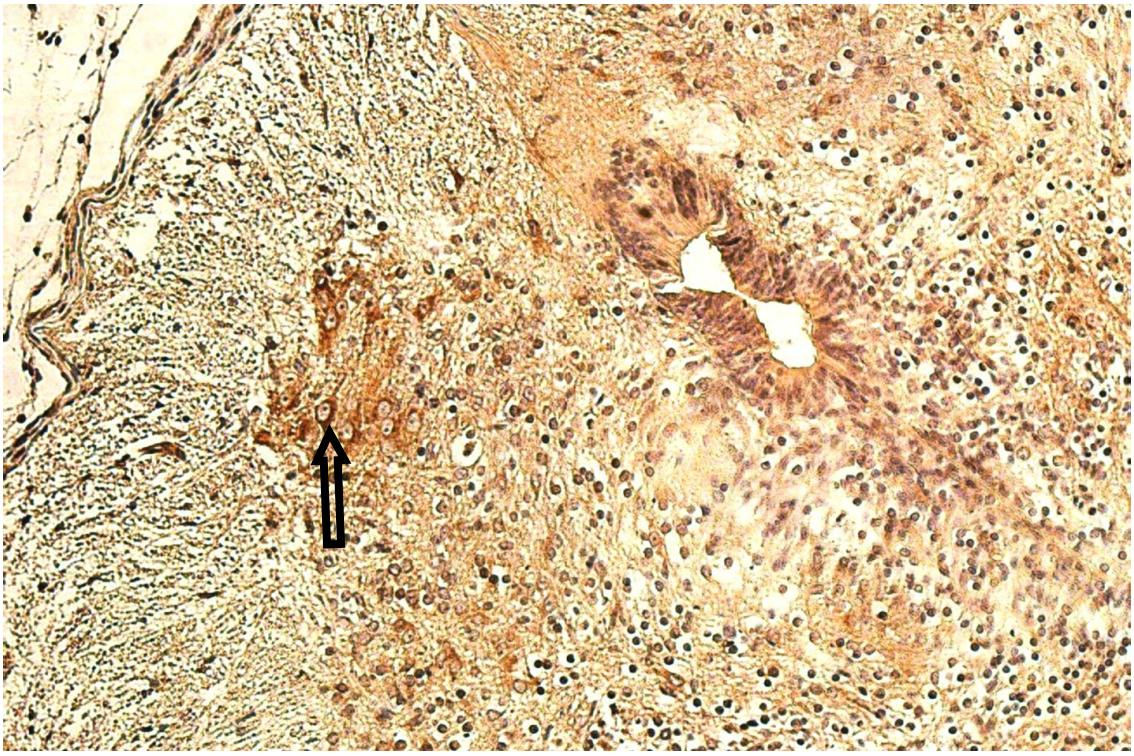
3.83. attēls. Embrija mēles epitēlijs ar daudz Msx2 pozitīvām šūnām. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Msx2 IMH x250.



3.84. attēls. Embrija zemmēles siekalu dziedzera epitēlijā redzamas daudz Msx2 pozitīvās šūnas. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Msx2 IMH x250.

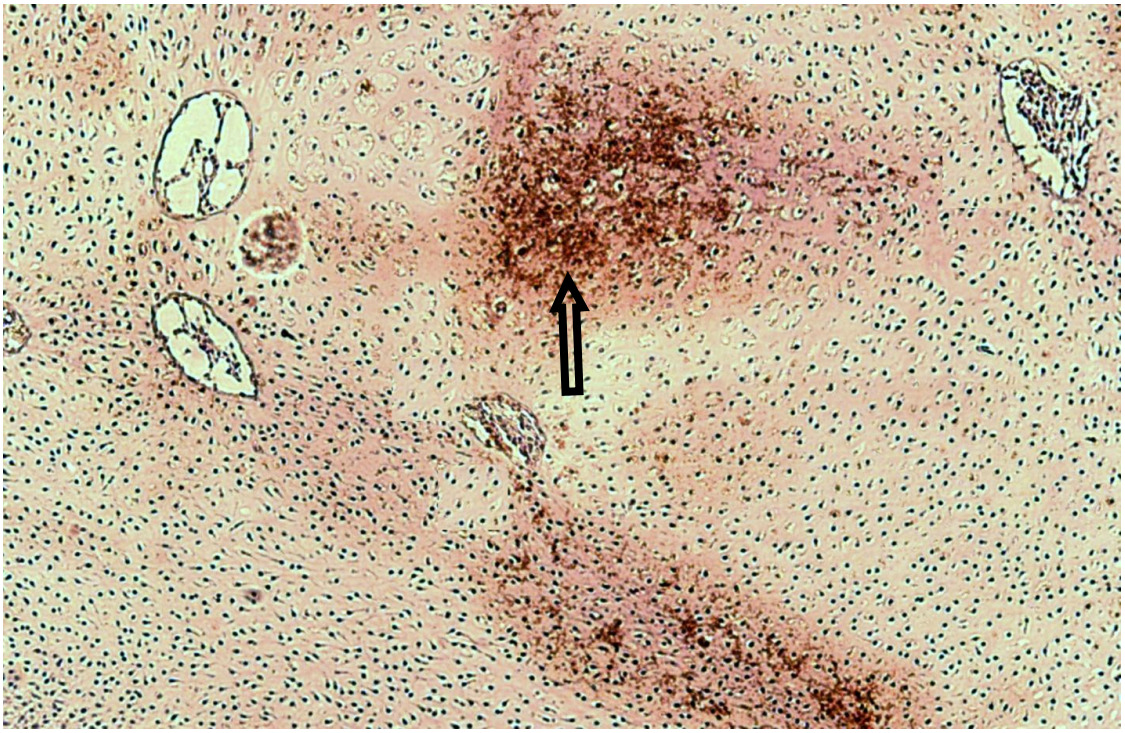


3.85. attēls. Embrija mēlē daudz BARX1 pozitīvo epiteliocītu un muskuļšiedru. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. BARX1 IMH x250.

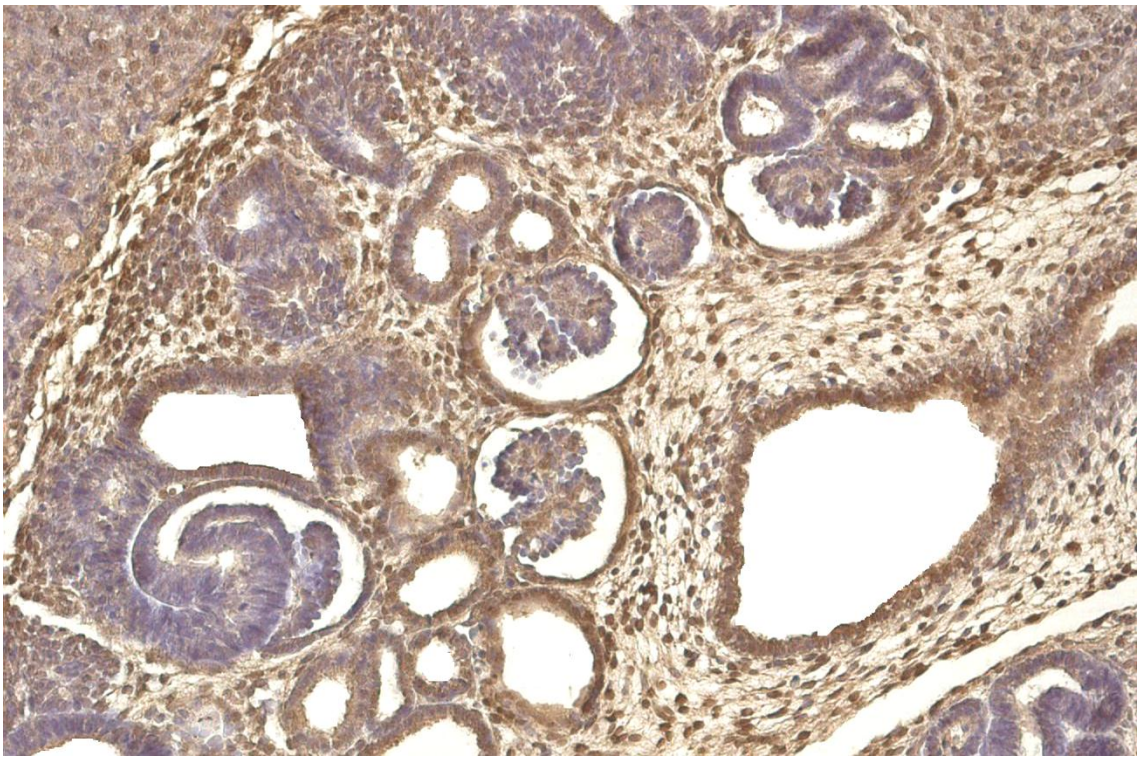


3.86. attēls. BARX1 iezīmē daudzus nervu caurulītes motoros neironus (bultiņa) un ependimocītus. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. BARX1 IMH x400.

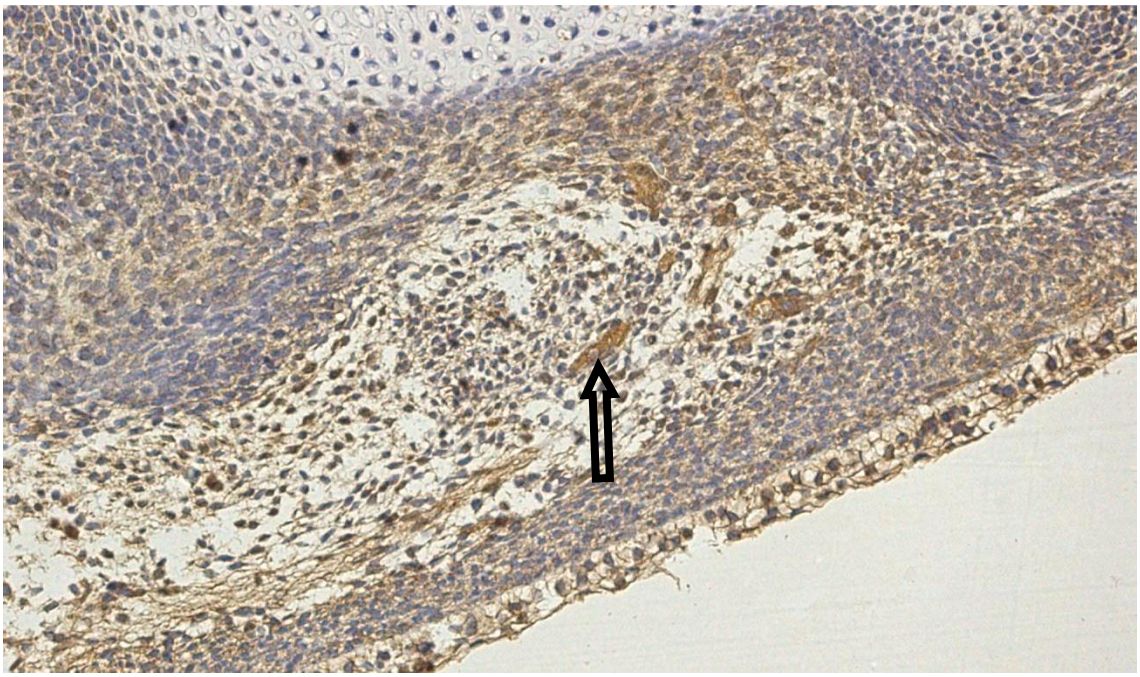
3.87. attēls. Daudz BARX1 pozitīvo šūnu lokalizējas asinsvadu sienā (bultiņa) sklerogēnajā mezenhīmā, perihondrā un skrimšļa proliferācijas zonās. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. BARX1 IMH x100.



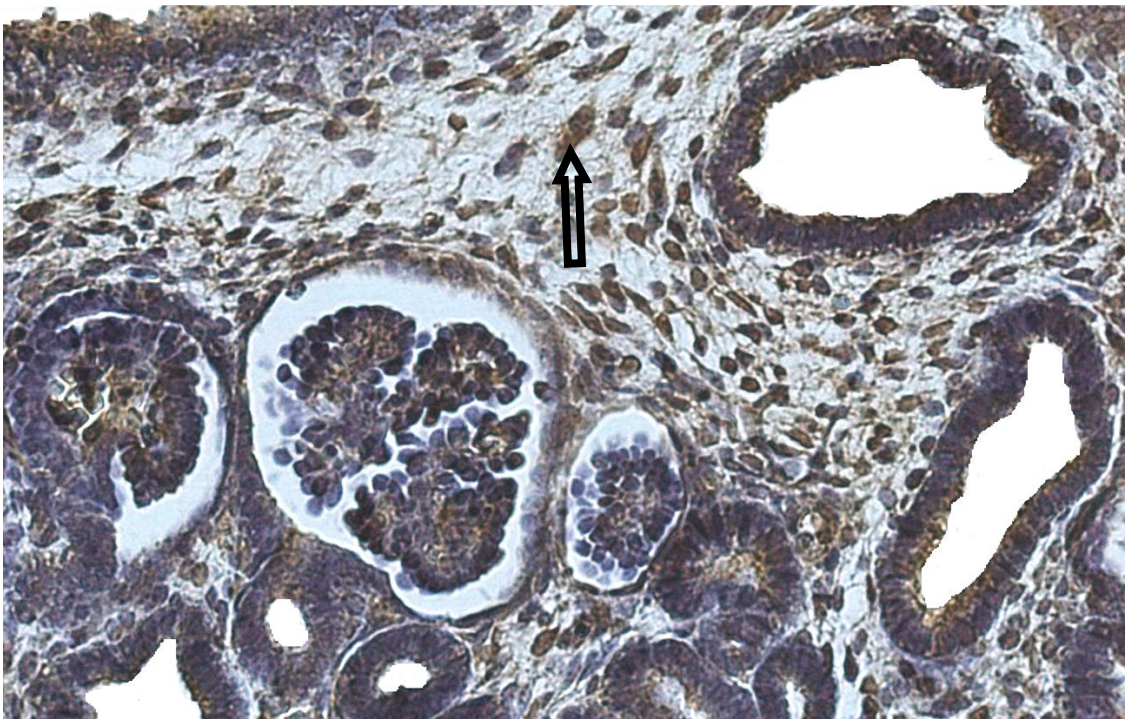
3.88. attēls. Msx2 gēnu produktu lielā daudzumā ekspresē hondrocīti (bultiņa) un skrimšļa proliferācijas zonas šūnas. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Msx2 IMH x250.



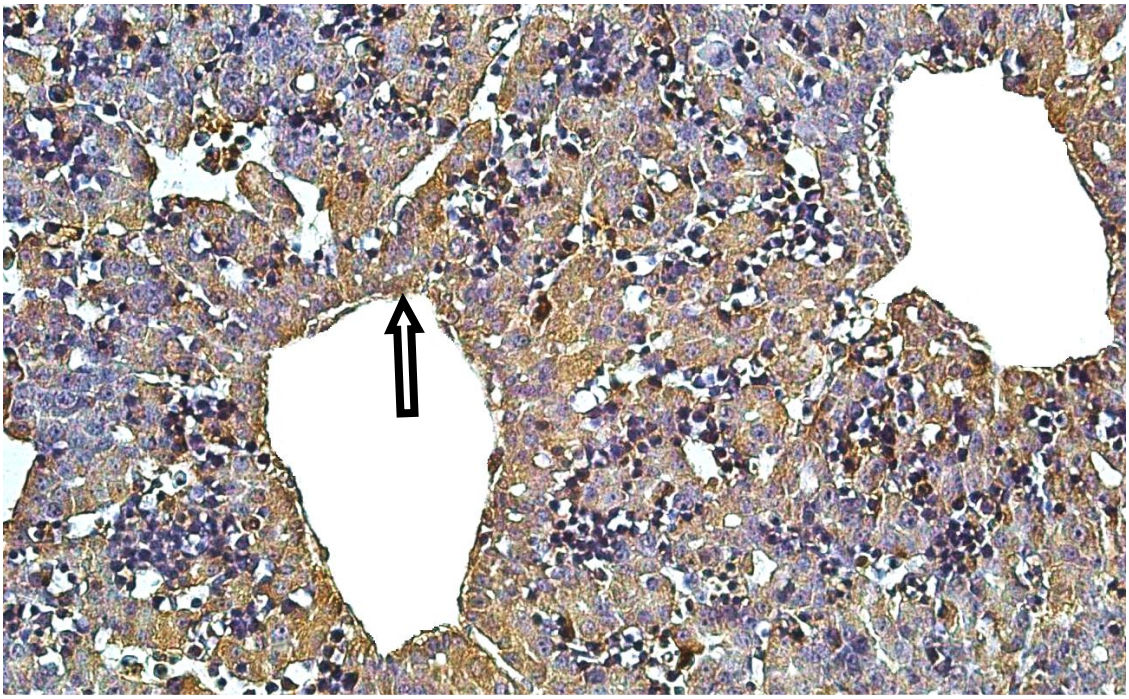
3.89. attēls. Embrija *metanephros* redzams vidējs apoptotisko šūnu daudzums. Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. *TUNEL* x250.



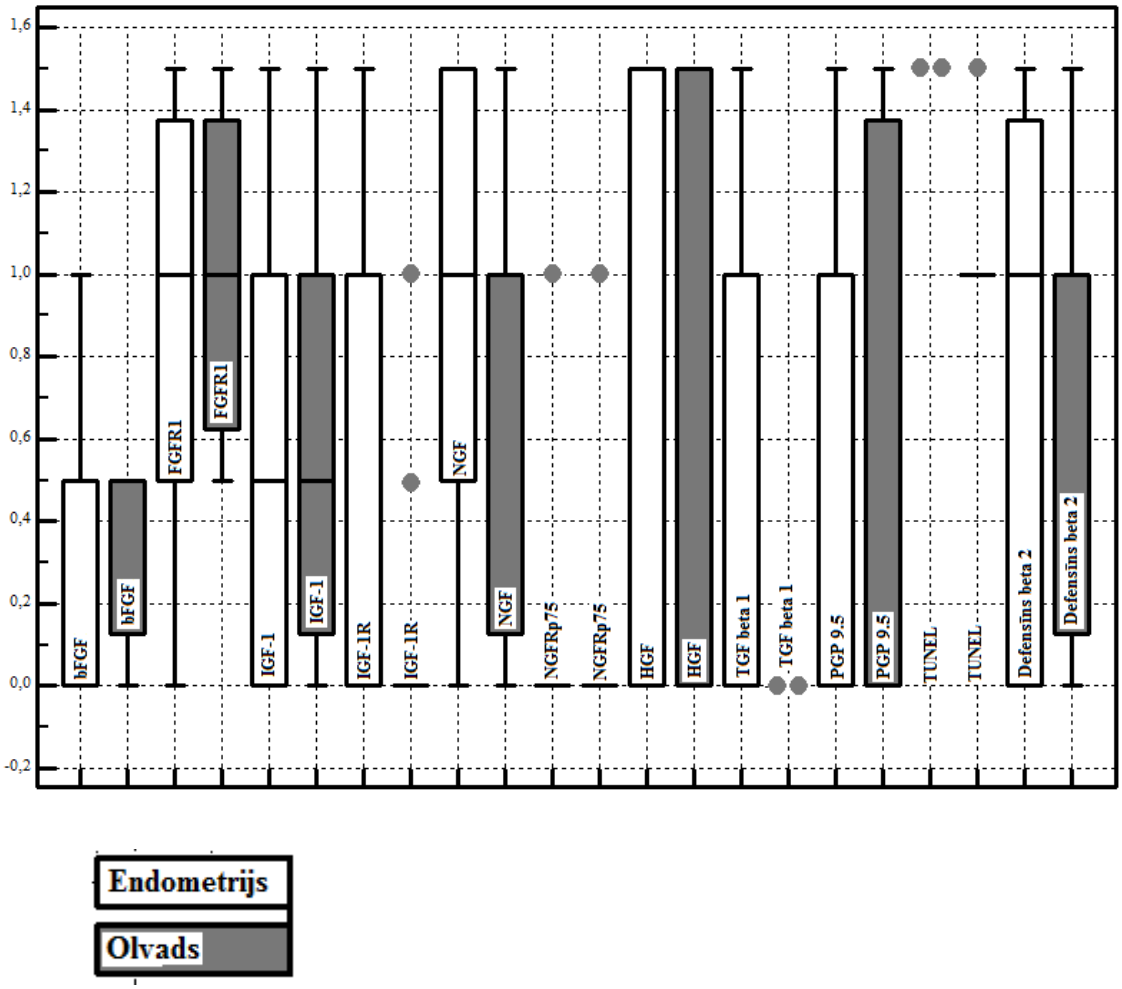
3.90. attēls. Embrija ādas epitēlijā, perihondrā un mezenhīmā (bultiņa) vidējā daudzumā lokalizējas kaspāzes 6 pozitīvās šūnas. Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Kaspāze 6 IMH x100.



3.91. attēls. Vidējs cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu daudzums embrija *metanephros* epitēlijā un stromā (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 8. embrionālās attīstības nedēļai. Cilvēka defensīns beta 2 IMH x400.



3.92. attēls. Embrija aknās ap centrālām vēnām redzams vidējs daudzums perēkļveidā lokalizētu cilvēka defensīna beta 2 pozitīvo šūnu (bultiņa). Embrija attīstības laiks atbilst 5./6. embrionālās attīstības nedēļai. Cilvēka defensīns beta 2 IMH x250.



3.93. attēls.

Grafikā atspoguļota augšanas faktoru relatīva daudzuma sadale audos.

Saīsinājumi:

bFGF - bāziskais fibroblastu augšanas faktors

FGFR1 - fibroblastu augšanas faktora 1 receptors

IGF-1 - insulīnam līdzīgais augšanas faktors 1

IGF-1R - insulīnam līdzīgā augšanas faktora 1 receptors

NGF - nervu augšanas faktors

NGFRp75 - nervu augšanas faktora receptors

HGF - hepatocītu augšanas faktors

TGF beta 1 - transformējošais augšanas faktors beta 1

TUNEL – TUNEL metodē noteiktas apoptotiskās šūnas

INFORMĀCIJA PAR PĒTĪJUMU UN PIEKRIŠANA DALĪBAI PĒTĪJUMĀ

Pēc Pasaules Veselības organizācijas datiem, apmēram 1 no 250 embrija ieligzdošanām (implantācijām), kas ir 7 implantācijas ik stundu visā pasaulē, notiek ārpus dzemdes. Visbiežāk ārpusdzemdes grūtniecību novēro olvados, vēdera dobumā (1,4%), olnīcā (0,2%) vai dzemdes kakliņā (0,2%). Nepareiza embrija ieligzdošanas izraisa paša embrija bojāeju un rada briesmas mātes reproduktīvai veselībai un pat dzīvībai. Ārpusdzemdes grūtniecība ir nozīmīgākais nāves iemesls grūtniecēm pirmajā trimestri, tas ir 9% no visām nāvēm, kas saistītas ar grūtniecību. Ārpusdzemdes grūtniecības ārstēšana prasa ķirurģisku iejaukšanos sievietes dzīvības saglabāšanai (klīnikā tiek ievestas arī neķirurģiskas ārstēšanas metodes, piemēram, ar metotreksātu, taču jāievēro noteiktie kritēriji, kas ne vienmēr ir realizējami), pēc operācijas var pasliktināties sievietes reproduktīvā veselība un spējas radīt pēcnācējus. Ja sieviete būs atkārtoti operēta sakarā ar ārpusdzemdes grūtniecību, iespēja palikt stāvoklī dabīgā ceļā var būt apšaubāma. Tādā gadījumā vienīgā cerība uz pēcnācējiem paliek uz ārpusdzemdes apaugļošanu, kas ir dārga procedūra un dod pozitīvu rezultātu tikai 20-30% gadījumos.

Zināmais ārpusdzemdes grūtniecības riska faktors ir iegurņa iekaisuma slimība: dzemdes piedēkļu iekaisums sievietei palielina tās risku četrās reizēs. Olvadu grūtniecības biežums palielinās ar piedēkļu iekaisumu paasinājumu skaitu (13% pēc pirmā paasinājuma, 35% pēc otrā un 75% pēc trešā), bet lielāki pacienšu daļai nav nekādi zināmi riska faktori (piedēkļu iekaisums, ķirurģiska iejaukšanās olvados, intrauterīna spirāle, vecums, smēķēšana) iestāšanās brīdī stacionārā. Pašlaik nav skaidrs, kādu faktoru ietekmē notiek embrija ieligzdošanās un vai tā ir atkarīga no mātes organisma mijiedarbības ar pašu embriju. Tādēļ nepieciešama embriju izpēte nepareizas ieligzdošanās gadījumā, jo tas dotu atbildes jautājumiem, kāpēc tas ir noticis un palīdzētu sievietei risināt reproduktīvās veselības problēmas, proti, radīt veselus pēcnācējus. Iegūstot bojā gājušos embrijus, būtu iespējams noteikt, kādā veidā notika ieligzdošanās, kādas vielas, kam būtu jāizdalās, ir vai nav izdalījušas, un kādi gēni, kam jāstrādā, ir vai nav funkcionējuši.

Pētījuma nozīme ir atrast tos faktorus, kurus izdala paši mātes un embrija audi, kas izraisa embriju pareizu vai nepareizu ieligzdošanos. Izpētot šos faktorus, būs iespēja prognozēt, kā pacientei notiks embrija ieligzdošanās, un būs iespējams noteikt tos

faktorus, kuru izdali varbūt varēs bloķēt vai veicināt pareizai embrija attīstībai un ieligzdošanai. Šim atradumam ir ļoti liela nozīme klīnikā, kas saistīta ar sievietes reproduktīvās veselības un, dažos gadījumos, dzīvības saglabāšanu.

Paciente_____(vārds, uzvārds),

personas kods:_____,

dzīves vietas adrese:_____,

Es,_____, piekrītu, ka Rīgas 1. Slimnīca vai SIA Medicīnas centrs „Elite", turpmāk tekstā klīnika, izmanto klīnikas zemāk norādītajām vajadzībām no manis paņemtos bojā gājušos embrijus, kuri ir paredzēti tālākai utilizācijai. Esmu informēta, ka klīnika tos izmantos zinātniskai izpētei, lai atklātu līdz šim nezināmu faktoru un citus iespējamas ārpusdzemdes grūtniecības iemeslus.

Esmu informēta un paturu savas tiesības atsaukt piekrišanu manu nederīgo embriju nodošanai izpētei, interesēties par pētījuma rezultātiem un saņemt informāciju, ja tas ir manu nākošo bērnu veselības interesēs.

Tāpat esmu informēta, ka atļaujas atsaukšanas gadījumā drīkstu saņemt sava embrija materiālu, t.i., ieguldināto audu gabaliņu parafīnā no Rīgas Stradiņa universitātes anatomijas un antropoloģijas institūta Morfoloģijas laboratorijas.

Apliecinu, ka parakstot šo piekrišanu, esmu pilnībā realizējusi savu izvēli un gribu, kā arī apliecinu, ka esmu saņēmusi no klīnikas pilnīgu informāciju par manu klīnikai nodotu embriju materiālu nederīgumu tālākai attīstībai.

Rīga, 200 . gada_____._____.

Paciente_____.

ANKETAS PARAUGS

Pacientes šifrs:

1. Vecums (gados)
2. Grūtniecība (skaits)
3. Dzemdības (cik, ja bija)
4. Aborti (cik, ja bija)
5. Dzimumpartneru skaits
6. Ārpusdzemdes grūtniecība anamnēzē
7. Piedēkļu iekaisums anamnēzē
8. Ja piedēkļu iekaisums ir anamnēzē, epizožu skaits
9. Ķirurģiskas piedēkļu operācijas
10. STS anamnēzē
11. Vai lieto intrauterīno spirāli pašlaik?
12. Vai lietoja intrauterīno spirāli agrāk?
13. Smēķēšana (apvilkt pareizu): nav, līdz 10 cigaretēm dienā, vairāk pār 10 cigaretēm dienā