

3 / 2014



## Учредители

ЦКБ РАН

ФНКЦ детской гематологии,  
онкологии и иммунологии  
им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ

Московское общество  
акушеров-гинекологов

Центр восстановительной  
медицины

На первой странице обложки:

Шарль ван Лоо (1705-1765)  
*Жанна-Антуанетта Пуассон (1721-1764),  
маркиза де Помпадур, в образе Прекрасной  
Садовницы*

Журнал зарегистрирован Федеральной  
службой по надзору в сфере связи,  
информационных технологий и массовых  
коммуникаций  
Свидетельство о регистрации  
ФС 77-51757 от 8 ноября 2012 года

Журнал является рецензируемым изданием

Компьютерная верстка – Семионов В.И.

Адрес редакции:  
117593 Москва,  
Литовский бульвар, 1а

Телефон: (495) 659-65-23  
Факс: (495) 659-64-93

E-mail: [info@ag-info.ru](mailto:info@ag-info.ru)  
[www.ag-info.ru](http://www.ag-info.ru)

## Главный редактор

Жаров Е.В. (Москва)

## Заместители

Алехин А.И. (Москва),

Зуев В.М. (Москва)

Петриковский Б.М. (Нью-Йорк),

Румянцев С.А. (Москва),

Смолянинов А.Б. (Санкт-Петербург)

## Ответственный секретарь

Арутюнян Н.А.

## Редакционная коллегия

Ашрафян Л.А., Бабиченко И.И.

Васильев А.В., Кутакова Ю.Ю., Макацария А.Д.,

Никитин И.Г., Пушкарь Д.Ю., Серов В.Н.

## Редакционный совет

Борзов Е.В. (Москва), Гончаров Н.Г. (Москва), Гридчик А.А. (Москва),

Кожин А.А. (Ростов-на-Дону), Курцер М.А. (Москва),

Манухин И.Б. (Москва), Медведева П.И. (Нью-Йорк),

Охупкин М.Б. (Ярославль), Пекарев О.Г. (Москва),

Румянцев А.Г. (Москва), Салов И.А. (Саратов),

Серебренникова К.Г. (Москва), Тихомиров А.А., (Москва),

Ткаченко Л.В. (Волгоград), Фаткуллин И.Ф. (Казань),

Чижова Г.В. (Хабаровск), Цхай В.Б. (Новосибирск)

## Обзорная информация

- Петриковский Б.М., Жаров Е.В.,  
Медведева П.И., Смолянинов А.Б.**  
Может ли биопсия пуповины стать  
альтернативным источником стволовых клеток? .....3

## Акушерство

- Куликов С.А.**  
Состояние эндотелий-зависимых  
сосудистых реакций у беременных с гестозом .....6

- Павлов А.В.**  
Особенности функциональной активности  
периферических нейтрофилов и продуцируемых  
ими медиаторов при невынашивании  
беременности поздних сроков .....13

- Можяева Т.А.**  
Значение моноцитарно/макрофагальных  
клеток в патогенезе невынашивания  
беременности ранних сроков .....19

- Барановская Ю.П.**  
Клинико-иммунологические факторы  
формирования плацентарной недостаточности .....25

## Гинекология

- Романова С.В.**  
Значение факторов врожденного иммунитета  
в патогенезе наружного генитального  
эндометриоза I–II стадии у пациенток  
с бесплодием и обоснование использования  
препарата глюкозаминилмурамилдипептида  
в комплексной терапии данной патологии .....30

- Лицова А.О.**  
Роль естественных киллеров в патогенезе  
быстрого роста миомы матки, влияние  
агонистов гонадотропных рилизинг-гормонов  
на их содержание и функциональное состояние .....36

- Линченко Н.А.**  
Факторы риска возникновения  
истмико-цервикальной недостаточности  
и способы её коррекции .....43

## Reviews

- Petrikovsky B.M., Zharov E.V.,  
Medvedeva P.I., Smolyaninov A.B.**  
Can a biopsy of the umbilical cord to become an alterna-  
tive source of stem cells?.....3

## Obstetrics

- Kulikov S.A.**  
State of endothelium-dependent vascular reactions  
in pregnant women with gestosis .....6

- Pavlov A.V.**  
Characteristics of functional activity of peripheral  
neutrophils and produced their mediators  
for miscarriage late .....13

- Mozhayeva T.A.**  
Monocyte/value-stimulating factor  
of macrophage cells in the pathogenesis of early  
sorts of miscarriage .....19

- Baranovskaia Y.P.**  
Clinico-immunological factors of formation  
of placental insufficiency .....25

## Gynecology

- Romanova S.V.**  
Value factors of innate immunity in the pathogenesis  
of external genital endometriosis stage I–II in  
patients with infertility and justification f  
or the use of GMDP entrapped in the treatment  
of this pathology .....30

- Litsova A.O.**  
The role of natural killer cells in the pathogenesis  
of uterine fibroid growth, influence agonists  
gonadotropin hormones on releasing their  
content and functional status .....36

- Linchenko N.A.**  
Risk factors of cervical incompetence  
and the ways of its correction .....43

Петриковский Б.М.<sup>1</sup>, Жаров Е.В.<sup>2</sup>, Медведева П.И.<sup>1</sup>, Смолянинов А.В.<sup>3</sup>**Может ли биопсия пуповины стать альтернативным источником стволовых клеток?**<sup>1</sup> «NY Downtown Hospital» (Нью-Йорк, США)<sup>2</sup> Центральная клиническая больница Российской академии наук (Москва)<sup>3</sup> Покровский банк стволовых клеток (Санкт-Петербург)

*Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются мультипотентными стволовыми клетками. Основными свойствами МСК является их способность к самовоспроизводству и дифференцировке в различные мезенхимальные клеточные линии. Источниками МСК могут служить костный мозг, периферическая кровь, пуповинная кровь плацента, жировая ткань, пульпа, и даже печень и легкие плода. В настоящее время наиболее широко используемым источником МСК является костный мозг. В течение последних лет идет активный поиск альтернативных источников стволовых клеток, одним из предложенных вариантов являются клетки матрикса пуповины. В качестве методики забора авторами решено опробовать пункционную биопсию пуповины. Полученные нами данные показывают, что пункционная биопсия пульсирующей пуповины, произведенная после рождения плода, в большинстве случаев может быть выполнена безопасно, с минимальным повреждением пуповины. Авторы делают заключение, что при наличии соответствующего инструментария, наращивании опыта и дальнейшем исследовании данного вопроса, биопсия пуповины может стать процедурой, позволяющей проводить забор стволовых клеток.*

*Ключевые слова:* мезенхимальные стволовые клетки, костный мозг, пуповина, Вартонов студень.

Petrikovsky B.M.<sup>1</sup>, Zharov E.V.<sup>2</sup>, Medvedeva P.I.<sup>1</sup>, Smolyaninov A.V.<sup>3</sup>**Can a biopsy of the umbilical cord to become an alternative source of stem cells?**<sup>1</sup> «NY Downtown Hospital» (New York, USA)<sup>2</sup> Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)<sup>3</sup> Pokrovsky Stem Cell Bank, St.Peterburg

*Wharton jelly is a promising source of mesenchymal stem cells. Umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSC) have gene expression profile more similar to that of embryonic stem cells. Unlike bone marrow mesenchymal stem cells UC-MSC can differentiate into three germ layers. UC-MSCs have shown the immunomodulatory properties. Group of authors have performed the trial research of umbilical cord punch biopsy as a method of stem cells harvesting. The technique has shown to be safe and efficient.*

*Key words:* mesenchymal stem cells, bone marrow, umbilical cord, Whartonov JEL.

**М**езенхимальные стволовые клетки (МСК) являются мультипотентными стволовыми клетками. Основными свойствами МСК является их способность к самовоспроизводству и дифференцировке в различные мезенхимальные клеточные линии. Источниками МСК могут служить костный мозг, периферическая кровь, пуповинная кровь плацента, жировая ткань, пульпа, и даже печень и легкие плода. В настоящее время наиболее широко используемым источником МСК является костный мозг. Исследуются возможности лечения аутологичными костномозговыми стволовыми клетками (СК-КМ) различных патологий: инфарктах миокарда [1], циррозе печени [2], болезни Крона [3] и в тканевой инженерии костной ткани [4]. К сожалению, забор клеток костного мозга имеет ряд недостатков, среди которых главными стоит отметить инвазивность процедуры и качество получаемых клеток: с возрастом снижается не только количество СК-КМ, но и их способность к росту, самовоспроизводству и дифференцировке [5]. Наиболее интересными с точки зрения тканевой инженерии являются, безусловно, эмбриональные стволовые клетки (ЭСК). Они характеризуются высокой скоростью самовоспро-

изведения, а так же плюрипотентностью (т.е. возможностью дифференцировки во все три герминальных слоя) как *in vivo*, так и *in vitro*. Однако, существует два важных ограничения: во-первых, это этическая проблема получения и использования ЭСК, а во-вторых – сложности «управления» дифференцировкой этих клеток, заключающиеся в риске формирования тератомы [6].

В течение последних лет идет активный поиск альтернативных источников стволовых клеток, одним из предложенных вариантов являются клетки матрикса пуповины. В пуповину входят две пупочные артерии и одна пупочная вена. Эти сосудистые образования окружены матриксом, так называемым Вартоновым студнем, покрытым амниотическим эпителием. Вартонов студень представляет собой желеобразную ткань, состоящую из воды, желатина (частично гидролизованного коллагена), липидов, белков и ферментов. Вартонов студень является богатым источником стволовых клеток, специфичных фетальных белков, жирных кислот, фосфолипидов. Основной функцией студня является защита кровеносных сосудов пуповины. Вартонов студень образован кислыми мукополисахаридами (35%), желатином (25%), солями гиалуроновой кислоты (15%), спе-

цифичными фетальными белками и ферментами (желатиназа, А-металлопротеиназа, желатиназа В). Он также содержит небольшое количество фосфолипидов и гликолипидов. Свое название он получил в честь английского врача и анатома Томаса Вартона, который первым описал это образование в статье «Аденография, или Описание желез всего тела», опубликованной в 1656 году.

Наличие фибробласт-подобных клеток в Вартоновом студне было впервые описано McElreavey и коллегами в 1991 г. [7] Исследования гемопоэтических стволовых клеток пуповинной крови ясно показывали, что в крови недоношенного плода имеются мезенхимальные стволовые клетки. Длительное время оставался открытым вопрос, куда мигрируют эти клетки с прогрессированием беременности. Только в 2003 г. Mitchell и Weiss [8] и смогли выделить клетки матрикса из Вартонова студня и продемонстрировать наличие МСК-подобных клеток в субэндотелиальном слое пупочной вены. До настоящего времени пуповина утилизировалась после родов, таким образом, забор МСК из пуповины после родов является этически приемлемым. Так же как и МСК, полученные из других источников, пуповинные обладают способностью к самоподдержанию и

мультипотентной дифференцировке. Различные авторы показали возможность дифференцировки МСК пуповинного матрикса в адипоциты, остеоциты, хондроциты, нейроны и гепатоциты [9]. Крайне важно отметить, что экспрессия генов в МСКП ближе к таковой в ЭСК, а скорость клеточного деления превышает таковую у СК-КМ [10, 11].

Одним из наиболее интересных и до настоящего времени мало изученных свойств пуповинных МСК является их иммунорегуляторная активность. Во-первых, сами МСК характеризуются слабыми иммуногенными свойствами, связанными с отсутствием экспрессии HLA-DR и низкой экспрессией молекул I класса главного комплекса гистосовместимости [12]. Кроме того, на поверхности МСК не экспрессируются маркеры CD80 и CD86, являющимися ко-стимуляторными молекулами, активирующими Т-лимфоциты [13]. Эти факты позволяют предположить, что МСК не вызывают острое отторжение при трансплантации и их можно использовать для аллогенной клеточной терапии. Кроме того, МСК пуповины обладают иммуносупрессивными свойствами, показанными как *in vivo*, так и *in vitro*. Этот эффект обусловлен наличием сигнальных молекул и межклеточными контактами. Среди факторов, экспрессируемых МСК пуповины, имеющими иммуносупрессивные свойства следует отметить PGE<sub>2</sub>, галектин-1, HLA-G5 и индоламин 2,3-диоксигеназу (IDO). [14] Последний фермент активируется INF- $\gamma$  и катализирует реакцию образования кинуренина из триптофана. Снижение концентрации триптофана в среде подавляет пролиферацию Т-лимфоцитов. Che и соавторы опубликовали данные, показывающие, что мезенхимальные стволовые клетки ингибируют пролиферацию В-лимфоцитов и выработку антител [15].

Также как и СК-КМ, МСК пуповины рассматриваются как кандидаты для проведения аутологичной и аллогенной терапии. Перспективными направлениями является лечение детского церебрального паралича и гипоксических повреждений головного мозга [12].

Несмотря на многочисленные достоинства стволовые клетки Вартонова студня обладают одним важным недостатком: получаемое из одного образца количество стволовых клеток довольно мало [16]. Исходя из этого, терапия с использованием стволовых клеток

Вартонова студня более успешна, если в качестве реципиента выступает новорожденный или ребенок, так как этим группам пациентов требуется меньшее количество стволовых клеток [17].

В ходе проводимых исследований возник вопрос о возможности забора образцов ткани Вартонова студня в различные сроки гестации. В качестве методики забора авторами решено опробовать пункционную биопсию пуповины. При доказанной безопасности данного метода и обсуждения этичности процедуры возможно рассмотрение вопроса о проведении забора матрикса пуповины во время прогрессирующей беременности, что должно повысить качество и количество получаемых мезенхимальных стволовых клеток. Потенциально биопсию можно проводить с помощью фетальных кожных биопсийных щипцов, которые строго ограничивают глубину инвазии несколькими миллиметрами.

#### Материалы и методы

В исследование было включено 50 пациенток. Роды происходили через естественные пути или путем операции кесарево сечение. У 25 пациенток срок гестации соответствовал доношенной беременности (37–41 нед.), у 25 роды произошли преждевременно (срок гестации составил 25–36 недель).

Критериями исключения являлись планируемый забор пуповинной крови, наличие хориоамнионита и других инфекционных заболеваний. После рождения плода в третьем периоде родов биопсийными щипцами производилась биопсия пуповины. Полученный материал помещался в сбалансированный солевой раствор Эрла. Отбор клеток проводился путем лизиса тканей и последующего флуоресцентного сортирования. В задачи данной публикации входила оценка валидности пункционной биопсии пуповины как метода забора стволовых клеток. Подробное описание методик выделения и культивирования клеток представлено в работе Сап и соавт [18].

Мы оценивали объем биопсийного образца и длительность кровотечения в области произведенной биопсии. Количество попыток проведения биопсии было ограничено двумя.

#### Результаты

Забор материала был успешно произведен во всех 25 случаях доношенной беременности. Размер биопсийного об-

разца варьировал от 1,3 до 3,5 кв. мм. В 9 из указанных 25 случаях потребовалось проведение повторной биопсии для получения образца достаточного объема.

Длительность кровотечения составила 5–45 сек, во всех случаях гемостаз наступал спонтанно. Повреждение сосудов пуповины отмечалось в трех случаях.

При преждевременных родах (общее число наблюдений – 25) успешный забор образца удалось осуществить в 17 случаях, причем срок гестации на момент родов во всех успешных наблюдениях составил более 28 недель.

Длительность кровотечения варьировала в пределах от 7 до 50 сек, так же как и в группе пациенток с доношенной беременностью, во всех случаях гемостаз наступал спонтанно.

#### Обсуждение

Российская группа ученых впервые провела исследование, посвященное изучению альтернативных источников мезенхимальных стволовых клеток, в частности, пуповины [19]. Было показано, что в ткани пуповины содержится большое количество мезенхимальных стволовых клеток, которые могут быть культивированы. Эти данные особенно ценны, так как подтверждают сложившееся представление о том, что не только костный мозг может являться источником стволовых клеток [20]. Забор костномозговых мезенхимальных стволовых клеток является болезненной инвазивной процедурой, и, к сожалению, концентрация искомым клеток в аспирате мала, уменьшаясь пропорционально возрасту донора. По сравнению с костномозговыми стволовые клетки пуповины дольше сохраняют способность к самовоспроизводству, характеризуются более коротким временем деления и большей плюрипотентностью [21].

Морфология, иммунофенотипический анализ и способность дифференцироваться позволяют категоризовать стромальные клетки Вартонова студня как мезенхимальные стволовые клетки, согласно критериям Международного Общества клеточной терапии [22]. Пуповинные стволовые клетки обладают фибробласт-подобной морфологией и характеризуются высокой пролиферативной активностью и мультипотентной дифференциальной способностью [20, 23]. Частота колониеобразующих еди-

ниц данных клеток составляет 1–333 [24]. Вартонов студень обладает иммуномодулирующими свойствами и регулирует активность Т- и В-лимфоцитов. Биопсия пуповины при доказанной безопасности является многообещающей техникой получения стволовых клеток [25, 26].

Полученные нами данные показывают, что пункционная биопсия пульсирующей пуповины, произведенная после рождения плода, в большинстве случаев может быть выполнена безопасно, с минимальным повреждением пуповины. Авторы делают заключение, что при наличии соответствующего инструментария, наращивании опыта и дальнейшем исследовании данного вопроса, биопсия пуповины может стать процедурой, позволяющей проводить забор стволовых клеток.

### Литература

1. Clifford DM1, Fisher SA, Brunskill SJ et al. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Feb 15;2:CD006536
2. Saito T, Tomita K, Haga H et al. Bone marrow cell-based regenerative therapy for liver cirrhosis. *World J Methodol*. 2013 Dec 26;3(4):65–9
3. Duijvestein M, Vos AC, Roelofs H, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cell treatment for refractory luminal Crohn's disease: results of a phase I study. *Gut*. 2010 Dec;59(12):1662–9.
4. Goodman SB. Cell-based therapies for regenerating bone. *Minerva Ortop Traumatol*. 2013 Apr 1;64(2):107–113.
5. Mueller SM, Glowacki J. Age-related decline in the osteogenic potential of human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *J Cell Biochem*. 2001;82(4):583–90.
6. Rong Z, Fu X, Wang M, Xu Y. A scalable approach to prevent teratoma formation of human embryonic stem cells. *J Biol Chem*. 2012 Sep 21;287(39):32338–45.
7. McElreavey KD, Irvine AI, Ennis KT, McLean WH. Isolation, culture and characterisation of fibroblast-like cells derived from the Wharton's jelly portion of human umbilical cord. *Biochem Soc Trans*. 1991 Feb;19(1):29S.
8. Mitchell KE, Weiss ML, Mitchell BM et al. Matrix cells from Wharton's jelly form neurons and glia. *Stem Cells*. 2003;21:50–60.
9. Huang P, Lin LM, Wu XY, et al. Differentiation of human umbilical cord Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells into germ-like cells in vitro. *J Cell Biochem*. 2010;109:747–754.
10. Fong CY, Chak LL, Biswas A et al. Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells. *Stem Cell Rev*. 2011;7:1–16.
11. Kim JW, Kim SY, Park SY et al. Mesenchymal progenitor cells in the human umbilical cord. *Ann Hematol*. 2004;83:733–738.
12. Nagamura-Inoue T, He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: Their advantages and potential clinical utility. *World J Stem Cells*. 2014 Apr 26;6(2):195–202.
13. Friedman R, Betancur M, Boissel L, et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells: adjuvants for human cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:1477–1486.
14. Wang D, Chen K, Du WT et al. CD14+ monocytes promote the immunosuppressive effect of human umbilical cord matrix stem cells. *Exp Cell Res*. 2010;316:2414–2423.
15. Che N, Li X, Zhou S, Liu R et al. Umbilical cord mesenchymal stem cells suppress B-cell proliferation and differentiation. *Cell Immunol*. 2012;274(1–2):46–53.
16. Migliaccio AR1, Adamson JW, Stevens CE et al. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood*. 2000 Oct 15;96(8):2717–22.
17. Gluckman EI, Rocha V, Arcese W et al. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. *Exp Hematol*. 2004 Apr;32(4):397–407.
18. Can A, Karahuseyinoglu S. Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells. *Stem Cells*. 2007 Nov;25(11):2886–95.
19. Romanov YA, Svintsitskaya VA, Smirnov VN. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*. 2003;21(1):105–10.
20. Batsali AK1, Kastrinaki MC, Papadaki HA, Pontikoglou C. Mesenchymal stem cells derived from Wharton's Jelly of the umbilical cord: biological properties and emerging clinical applications. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2013 Mar;8(2):144–55.
21. Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells*. 2008 Mar;26(3):591–9.
22. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006;8(4):315–7.
23. Petrikovsky BM. Wharton's Jelly peptides and skin aging. *Neonatal Intensive Care*. 2013; 26, 25–9
24. Sarugaser R, Lickorish D, Baksh D et al. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors. *Stem Cells*. 2005 Feb;23(2):220–9.
25. Petrikovsky BM, Karsdon J. Stem Cells – From Jelly to gold. Editorial. *Neonatal Intensive care*. 2011, 24, 1–25.
26. Petrikovsky BM. Wharton's Jelly protein as a stimulant of skin stem cells. *Proceedings of Tenth Anti-aging Medicine World Congress*. Monaco. 2012; 29, 151–4.

### Сведения об авторах:

Жаров Е.В., доктор медицинских наук, профессор, Центральная клиническая больница Российской академии наук (Москва)  
Москва, Литовский бул., 1а, тел. +7 (499) 400-47-33. E-mail: ckb@ckbran.ru

Смолянинов А.Б., доктор медицинских наук, профессор, Покровский банк стволовых клеток (Санкт-Петербург)  
199106 Санкт-Петербург, Большой пр-кт, 85. Тел.: 8 (812) 336-50-02. E-mail: medcenter@stemcellbank.spb.ru

### About the authors:

Petrikovsky B.M., Professor, «NY Downtown Hospital» (New York, USA)

170 William Street, New York, NY 10038 Tel.: 212-312-5000.



Куликов С.А.

## Состояние эндотелий-зависимых сосудистых реакций у беременных с гестозом

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава Российской Федерации

*Гестоз представляет собой симптомокомплекс полиорганной и полистемной недостаточности, которая клинически проявляется не ранее 20-й недели беременности. Эндотелиальная дисфункция является неспецифическим патогенетическим механизмом развития патологического течения беременности и характеризуется изменением уровня продукции эндотелиальных факторов по сравнению с физиологически протекающей беременностью. Цель исследования - изучить состояние эндотелий-зависимых сосудистых реакций при беременности, осложненной гестозом, на основании чего разработать новый способ прогнозирования перинатальной патологии. Установлено, что эндотелий-зависимые сосудистые реакции с использованием функциональной пробы с ишемией/реперфузией у небеременных и беременных (с наличием и отсутствием гестоза) женщин характеризуется снижением оксигенации тканей предплечья на фоне ишемии и последующей разнонаправленной индивидуальной реакцией в ранней фазе реперфузии (снижение, отсутствие изменения, повышение). В поздней фазе реперфузии оксигенация тканей у женщин вновь снижается, при этом у беременных была ниже таковой у небеременных.*

*Ключевые слова:* гестоз, эндотелин 1, эндотелий-зависимые сосудистые реакции, оксигенация.

Kulikov S.A.

## State of endothelium-dependent vascular reactions in pregnant women with gestosis

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

*Gestosis is a symptom of multiple organ failure, which polistemnoj and clinically manifested no earlier than 20-th week of pregnancy. Endothelial dysfunction is a nonspecific pathogenetic mechanism of pathological pregnancy development and changes in the level of production is characterized by endothelial factors compared to physiologically flowing pregnancy. The purpose of the study is to examine the State of endothelium-dependent vascular reactions in pregnancy complicated with gestosis, and develop a new way of predicting perinatal pathology. The endothelium-dependent vascular responses using functional tests with ischemia/reperfusion in non-pregnant and pregnant women (with the presence and absence of gestosis) of women is characterized by reduced tissue oxygenation forearm against ischemia and subsequent multi-directional individual response in the early phase of reperfusion (decrease, no change, improvement). In the late phase of reperfusion oxygenation of tissues reduces again in women, and in pregnant women was lower than that of non-pregnant.*

*Key words:* gestosis, endothelin 1, endothelium-dependent vascular responses, oxygenation.

**Г**естоз представляет собой симптомокомплекс полиорганной и полистемной недостаточности, которая клинически проявляется не ранее 20-й недели беременности. По данным различных авторов, гестоз наблюдается у 1,4–42% беременных, при этом тяжелые формы развиваются у 8–10% женщин [Кулаков В.И. и соавт., 2006; Сидорова И.С. и соавт., 2008; Савельева Г.М. и соавт., 2009; Иванец Т.Ю. и соавт., 2011; Ahmed A., 2003]. Материнская летальность при данном осложнении беременности остается высокой и колеблется от 17,7% в 2001г. до 12,7% в 2005г. (данные Росстата).

При существующих множественных теориях развития гестоза (около 40), данное осложнение называют «болезнью теорий». Гестоз гетерогенен, его патогенез может отличаться у женщин с различными заболеваниями и практически здоровых, при многоплодной и одноплодной беременности, при наличии этого осложнения в анамнезе.

Эндотелиальная дисфункция является неспецифическим патогенетическим механизмом развития патологического течения беременности и характеризуется изменением уровня продукции эндотелиальных факторов по сравнению с физиологически протекающей беременностью.

В настоящее время интенсивно изучаются причины эндотелиопатии при гестозе. Последовательность их участия в развитии гестоза остается неясной до настоящего времени. Можно считать установленным, что дисфункция эндотелия тесно связана с двумя факторами: нарушением миграции цитотрофобласта и исходным снижением кровотока в маточных сосудах.

Интерес к оксиду азота (NO) возрос с того момента, когда вырабатываемый моносом эндотелия сосудов фактор релаксации, наличие которого предположили R. Furchgott и J. Zawadsky [1980], был идентифицирован R. Palmer и соавт. как оксид азота. NO выполняет

паракринную регуляцию в эндотелиальных и гладкомышечных клетках. Данные об изменении продукции оксида азота при гестозе противоречивы.

Немаловажная роль в патогенезе гестоза принадлежит и генетической предрасположенности к дисфункции эндотелия. Выявлена связь полиморфизма гена NO – синтазы и наследственной предрасположенности к гестозу.

Прижизненное изучение функционального состояния сосудистого эндотелия при физиологической беременности и гестозе крайне затруднено.

Поэтому использованный нами комплексный подход с оценкой механистичности эндотелия сосудов, основных вазоактивных факторов эндотелиального происхождения и особенностей микроциркуляции, открывает новые возможности в понимании патогенетических механизмов гестоза.

Цель исследования: изучить состояние эндотелий – зависимых сосудистых реакций при беременности, осложнен-

ной гестозом, на основании чего разработать новый способ прогнозирования перинатальной патологии.

Задачи исследования:

1. Дать сравнительную оценку факторов риска развития гестоза.
2. Установить закономерности реакции сосудов микроциркуляторного русла у женщин на пробу с ишемией/реперфузией и введение экзогенного донатора оксида азота и выявить их особенности при беременности, осложненной и неосложненной гестозом.
3. Определить функциональное состояние эндотелия у женщин с гестозом различной степени тяжести на основании комплекса лабораторных исследований (определение уровня эндотелина-1, нитратов и нитритов, десквамированных эндотелиоцитов в периферической крови).
4. Разработать новый способ прогнозирования здоровья новорожденных у женщин с гестозом.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе акушерской клиники Федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения и социального развития России.

Всего было обследовано 90 беременных женщин в III триместре беременности. Среди пациенток выделены были выделены основная группа – 60 женщин с гестозом различной степени тяжести (15 женщин с гестозом легкой степени составили первую подгруппу, 15 женщин с гестозом средней степени тяжести составили вторую подгруппу, 30 женщин с тяжелой формой гестоза составили третью подгруппу) и первая контрольная группа – 30 женщин без признаков гестоза. Дополнительную контрольную группу составили 43 здоровые небеременные женщины репродуктивного возраста, находящиеся во второй фазе менструального цикла. Степень тяжести гестоза определяли по балльной шкале Гоека в модификации Г.М.Савельевой (1996).

Проводилось общеклиническое обследование, в том числе общепринятое лабораторное и биохимическое обследование. Состояние матки, плаценты и внутриутробного плода оценивались по данным ультразвукового сканирования

аппаратом «Aloka 2000» и «Aloka 4000» (Япония).

Оценка внутриутробного состояния плода проводилась по данным кардиотокографии при помощи фетального монитора Sonicade Team Care – 1200, фирмы OXFORD (Англия) с компьютерным анализом по критериям Dawes/Redman.

В качестве метода оценки эндотелийзависимого механизма регуляции просвета сосудов использовалась функциональная проба с ишемией/реперфузией и фармакологическая проба с нитроглицерином. Обследование производилось при помощи неинвазивного спектрофотометрического комплекса для контроля объемного капиллярного кровенаполнения мягких биологических тканей «Спектротест» (производитель ФГУ «НПП «Циклон-Тест»). Измерения выполнялись в области нижней трети внутренней поверхности предплечья.

Метод определения количества десквамированных эндотелиоцитов в крови основан на изоляции клеток эндотелия вместе с тромбоцитами с последующим осаждением тромбоцитов с помощью аденозиндифосфата. Кровь из локтевой вены брали в количестве 5 мл, в качестве стабилизатора добавляли 3,8% лимоннокислый натрий в соотношении 1:9. Для получения богатой тромбоцитами плазмы сразу после взятия кровь центрифугировали 10 мин. при 200 g. Затем 1мл. плазмы смешивали с 0,2 мл. натриевой соли аденозиндифосфата в концентрации 1 мг/мл. Полученную смесь механически перемешивали в течение 10 мин. акуратным встряхиванием пробирок, после чего вновь центрифугировали в прежнем режиме для удаления агрегатов тромбоцитов. Свободный от тромбоцитов супернатант переносили в другую емкость и центрифугировали при 200 g в течение 15 мин. для осаждения эндотелиальных клеток. Затем надосадочную плазму акуратно удаляли, а полученный осадок суспендировали в 0,1% мл. 0,9% раствора NaCl и перемешивали стеклянной палочкой. Готовой суспензией заполняли камеру Горяева. Количество клеток эндотелия подсчитывали в двух сетках камеры методом фазово-контрастной микроскопии. Учитывая соотношение между количеством клеток в сетке и объемом камеры Горяева, объема полученной суспензии и объема

плазмы, при подсчете количества эндотелиальных клеток результат умножали на  $10^4$  /л.

Определение эндотелина I производилось методом иммуоферментного анализа набором фирмы DIOMEDICA (Австрия).

Содержание суммарных нитрит- и нитрат ионов в периферической крови до и после обследования оценивали путем восстановления нитратов в нитриты в присутствии хлорида ванадия (VCL3) по методу Miranda K.M. et al (2001) на приборе Salar PV 1251C.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась с использованием персонального компьютера с набором стандартных программ в системе Windows XP 2000. Материалы исследования обрабатывались методом вариационной статистики. Для оценки различий показателей использовался параметрический критерий Стьюдента и непараметрические критерии.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Группы практически не отличались между собой по среднему возрасту, который составил  $27,4 \pm 0,87$  лет в основной группе и  $29,5 \pm 0,849$  лет в первой контрольной группе. Подавляющее большинство женщин были в возрасте от 26 до 30 лет: в основной группе – 33,3%, в первой контрольной группе – 36,7%. В основной группе женщины старшего репродуктивного возраста встречались в 21,7% случаев (36 лет и более), при этом относительный риск развития гестоза в данной возрастной группе в 1,138 [95% ДИ 1,062–1,802;  $p=0,036$ ] раза выше, в основном за счет 2 подгруппы где было больше женщин в возрасте 36 и более лет – 33,3%, по сравнению с первой контрольной группой женщин ( $p<0,05$  по сравнению с контрольной группой).

Оценивая семейное положение обследованных женщин, выявлено, что в основной и в первой контрольной группах чаще встречались женщины в зарегистрированном браке – 80 и 93,3% соответственно ( $p>0,05$ ). В контрольной группе 6,7% беременных находились в незарегистрированном браке, женщин, чья беременность протекала вне брака, не было. В основной группе у 15% пациенток беременность протекала вне брака ( $p<0,05$  по сравнению с контрольной группой), относительный риск разви-

тия гестоза у таких женщин составил 1,588 [95% ДИ 1,344–1,877;  $p=0,0127$ ]. Особенно много таких женщин было при гестозе средней степени тяжести – 26,7% и тяжелом гестозе – 23,3% ( $p<0,01$  по сравнению с группой контроля в обоих случаях). Развитие гестоза у них может быть связано с повышенным психо-эмоциональным напряжением в связи с неустойчивым социальным положением.

Анализируя данные акушерско-гинекологического анамнеза выявлено, что в первой группе контроля не имели гинекологической патологии 33,3% женщин, в основной группе этот показатель составил 16,7% ( $p>0,05$ ). Операции на органах репродуктивной системы отмечены у 18,3% женщин основной группы и в группе контроля – у 6,6% ( $p>0,05$ ). Миома матки выявлена в 6,7% случаев в основной группе женщин, в группе контроля данного заболевания не установлено ( $p>0,05$ ). У женщин с гестозом кисты яичников встречались в 13,3% наблюдений, при отсутствии гестоза в 3,3% ( $p>0,05$ ).

Соматических здоровых в первой контрольной группе было 46,7% женщин, тогда как в основной группе только 5% ( $p<0,01$ ), причем в 1 и 2 подгруппах не имели экстрагенитальную патологию 6,7% пациенток ( $p<0,01$  по сравнению с первой контрольной группой в обоих случаях), а в 3 подгруппе – 3,3% женщин ( $p<0,001$  по сравнению с первой контрольной группой).

Обращает на себя внимание высокая частота встречаемости артериальной гипертензии у пациенток основной группы (53,3%) по сравнению с первой контрольной группой женщин (0%) ( $p<0,01$ ), относительный риск развития гестоза 2,071 [95% ДИ 1,587–2,704;  $p<0,0001$ ]. У пациенток с гестозом легкой степени тяжести эта патология встречалась в 60% случаев, средней степени тяжести в 40% случаев, при тяжелой форме гестоза в 56,7% случаев ( $p<0,001$  по сравнению с первой группой контроля во всех случаях). Артериальная гипертензия – одна из ведущих причин осложнений беременности, родов и повышения перинатальной смертности. Это обстоятельство служит основанием включения этих женщин в группу высокого риска. В настоящее время артериальная гипертензия диагностируется у 5–30% беременных.

Ожирением чаще страдали женщины основной группы по сравнению с контрольной группой – 20% и 0% соответственно ( $p<0,01$ ), относительный риск развития гестоза при данном состоянии 1,556 [95% ДИ 1,326–1,824;  $p=0,037$ ]. У женщин основной группы достоверно чаще встречалась НЦД по гипертоническому типу (33,3 и 13,3% соответственно,  $p<0,05$  по сравнению с группой контроля).

Наличие двух и более экстрагенитальных заболеваний достоверно чаще отмечено у женщин основной группы – 55%, по сравнению с группой контроля – 6,7% ( $p<0,001$ ), относительный риск развития гестоза при наличии двух и более заболеваний 1,921 [95% ДИ 1,45–2,544;  $p<0,0001$ ], причем максимальное количество таких женщин было в 1 подгруппе – 73,3% ( $p<0,001$ ).

Роль экстрагенитальной патологии в развитии гестоза освещена, список соматической патологии в этих работах весьма широк. Гестоз чаще развивается при гипертонической болезни, ожирении, и реже при заболеваниях почек. Гестоз развивается с одинаковой частотой (85%) при ожирении, гипертонической болезни и эндокринопатиях, реже (74%) при почечной патологии и всегда (100%) при наличии у беременных нескольких экстрагенитальных заболеваний.

Наличие хронической соматической патологии ослабляет адаптационные возможности организма женщины, что может приводить к развитию гестоза. Развивающийся на фоне экстрагенитальной патологии гестоз отличается более ранним началом клинических проявлений, как правило, более тяжелым течением и резистентностью к терапии, что также нашло подтверждение в нашем исследовании. При этом в первую очередь патогенетические механизмы затрагивают те системы, нарушения в которых были и до беременности, отводя им превалирующую роль в клинической картине гестоза.

По нашим данным факторы риска развития гестоза являются: артериальная гипертензия (ОР 2,071); наличие двух и более соматических заболеваний у женщин (ОР 1,921); ожирение (ОР 1,625); беременность вне брака (ОР 1,588); возраст старше 36 лет (ОР 1,1383), выявление которых с ранних сроков беременности позволит сформировать группу повышенного риска раз-

вития в последующем гестоза, которой должно быть уделено повышенное внимание при наблюдении.

Анализ течения беременности обследованных женщин показал, что простудные заболевания во втором триместре беременности чаще перенесли женщины из группы контроля по сравнению с основной группой – 20 и 5% соответственно ( $p<0,05$ ).

В группе женщин с тяжелым гестозом чаще встречалась угроза прерывания беременности в первом триместре по сравнению с группой женщин с гестозом средней степени тяжести ( $p<0,05$ ). В других группах различий не установлено ( $p>0,05$ ).

Фетоплацентарная недостаточность достоверно чаще осложняла течение гестационного процесса в группе с гестозом по сравнению с группой контроля – 33,3 и 0% соответственно ( $p<0,001$ ). Следует отметить, что по мере утяжеления гестоза частота этой патологии возрастала: при легком гестозе – 26,7%, при гестозе средней степени тяжести – 40% и при тяжелом гестозе – 46,7% ( $p<0,001$  во всех подгруппах по сравнению с группой женщин с контролем).

Признаки ВУИ плода по данным УЗИ в основной группе выявлены достоверно чаще по сравнению с контрольной – 23,3 и 0% соответственно ( $p<0,01$ ). По мере утяжеления гестоза частота этой патологии возрастала: при легком гестозе – 13,3%, при гестозе средней степени тяжести – 20% и при тяжелом гестозе – 30%.

Развитие симптомокомплекса «инфекция и плацентарная недостаточность» отягощает течение гестационного процесса, неблагоприятно сказывается на внутриутробном развитии плода и вносит свой негативный вклад в показатели перинатальной заболеваемости. Также многие авторы считают, что плацентарная недостаточность наиболее часто встречается при такой патологии беременности, как гестоз [Кулаков В.И. и соавт., 1996; Савельева Г.М., 2004].

Анализ характера развившегося гестоза у беременных основной группы был проведен в зависимости от степени его тяжести, которая определялась по балльной шкале Гоека в модификации Г.М. Савельевой.

Наличие двух симптомов из классической триады Цангемейстера (отеки +



артериальная гипертензия) в клинике гестоза чаще встречалась у беременных первой подгруппы по сравнению с третьей подгруппой – 20 и 0% соответственно ( $p < 0,05$ ).

Полная триада симптомов, характеризующаяся сочетанием отеков, протеинурии и артериальной гипертензии, достоверно чаще встречалась при среднетяжелом и тяжелом течении гестоза – 100 и 96,7% соответственно ( $p < 0,05$  по сравнению с 1 подгруппой в обоих случаях). У 13,3% женщин третьей подгруппы гестоз развился во II триместре беременности ( $p > 0,05$  по сравнению с гестозом легкой и средней степени).

Развитие тяжелых форм гестоза характеризовалось ранним началом, длительным течением и более выраженными клиническими проявлениями, что совпадает с данными большинства авторов [Кулаков В.И., 1996; Иванян А.Н., 1998; Шифман, Е.М., 2000; Савельева Г.М., 2005; Сидорова И. С. и соавт., 2006].

В группе женщин с неосложненной гестозом беременностью у всех пациенток беременность завершилась своевременными родами (100%), в группе с гестозом – у 43,3% ( $p < 0,001$  по сравнению с группой контроля). В 1 подгруппе 100% родов были своевременными, во 2 подгруппе этот показатель составил 60% ( $p < 0,001$  по сравнению с контролем), в 3 подгруппе – 6,7% ( $p < 0,001$  по сравнению с контролем).

У четырех пациенток с тяжелым гестозом роды были преждевременные до 30 недель беременности, что составило – 13,3% ( $p < 0,05$  по сравнению с группой женщин с неосложненным течением беременности;  $p > 0,05$  по сравнению с I и II подгруппами). Преждевременные роды в 30–35 недель беременности отмечены в группе женщин со среднетяжелым гестозом в 20% случаев, с тяжелым течением гестоза в 63,3% ( $p < 0,001$  по сравнению с группой контроля и 1 подгруппой и  $p < 0,01$  по сравнению со 2 подгруппой). В 20% случаев в группе женщин с гестозом средней степени тяжести и в 16,7% случаев в группе женщин с тяжелым гестозом роды произошли в сроке беременности 36 недель ( $p < 0,05$  по сравнению с группой женщин контроля в обоих случаях).

Следы осложнений родов несвоевременное излитие околоплодных вод достоверно чаще встречалось у жен-

щин 2 подгруппы – 40% по сравнению с 3 подгруппой – 13,3% ( $p < 0,05$ ). По частоте развития аномалий родовой деятельности достоверных различий между женщинами основной и контрольной группами не было, что, возможно, было следствием меньшего количества самопроизвольных родов в основной группе.

Частота оперативных родов в группе женщин контроля составила 23,3%, в основной группе – 68,3%, причем максимальное количество женщин родоразрешено путем операции кесарева сечения в 3 подгруппе – 93,3% ( $p < 0,001$  по сравнению с группой контроля, 1 и 2 подгруппами), что в основном было обусловлено неэффективностью лечения больных тяжелой формой гестоза.

Таким образом, наличие гестоза, особенно его тяжелых форм, приводит к увеличению количества преждевременных и оперативных родов.

Осложнение беременности гестозом сказывалось на состоянии здоровья детей в раннем неонатальном периоде. В основной группе 16,7% детей родились без перинатальной патологии, в контрольной группе женщин – 66,7% ( $p < 0,001$ ). Причем, количество здоровых детей напрямую зависело от степени тяжести гестоза. Так, в группе женщин с гестозом легкой и средней степени тяжести таких детей было по – 5% ( $p < 0,05$  по сравнению группой контроля), в группе с тяжелым гестозом здоровых детей не было ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем).

В основной группе с признаками СЗРП родилось 26,7% детей ( $p < 0,01$  по сравнению с контролем). При этом в 1 подгруппе таких детей было меньше всего – 13,3%, во 2 подгруппе – 26,7% ( $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля) и больше всего в 3 подгруппе – 33,3% ( $p < 0,001$  по сравнению с контролем). Относительный риск рождения детей с подобной патологией при гестозе составил 1,682 [95% ДИ 1,393–2,03;  $p < 0,001$ ].

Церебральная ишемия I степени встречалась в группе контроля в 16,7% случаев, а при гестозе этот показатель составил 8,3% ( $p > 0,05$ ).

Церебральная ишемия II степени в основной группе диагностирована в 51,7% случаев ( $p < 0,001$  по сравнению с группой контроля), в группе контроля детей с данной патологией не было. Максимальное количество родившихся

детей с церебральной ишемией II степени было в 3 подгруппе – 80% ( $p < 0,001$  по сравнению с группой женщин контроля и 1 подгруппой;  $p < 0,01$  по сравнению со 2 подгруппой), во 2 подгруппе количество таких детей было 33,3% ( $p < 0,01$  по сравнению с группой женщин контроля), а в 1 подгруппе – 13,3% ( $p < 0,05$  по сравнению с группой женщин контроля). При этом относительный риск рождения детей с подобной патологией при гестозе составил 2,034 [95% ДИ 1,569–2,637;  $p < 0,001$ ].

Церебральная ишемия 3 степени была диагностирована лишь у одного ребенка из 3 подгруппы – 3,3%.

Внутрижелудочковые кровоизлияния I и II степени достоверно чаще встречались в основной группе: у 26,7% детей ( $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой) и у 15% соответственно ( $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля), причем максимальное количество детей с этой патологией было выявлено в группе женщин, чья беременность осложнилась тяжелым гестозом – 43,3 и 23,3% соответственно ( $p < 0,01$  по сравнению с группой женщин контроля, и  $p < 0,05$  по сравнению с 1 подгруппой). При этом относительный риск рождения детей с ВЖК I степени при гестозе составил 1,682 [95% ДИ 1,393–2,03;  $p < 0,001$ ], а с ВЖК II степени 1,588 [95% ДИ 1,344–1,877;  $p < 0,05$ ].

Респираторный дистресс II ст. имел место только у детей основной группы (23,3%  $p < 0,01$  по сравнению с контролем), причем в 1 подгруппе этой патологии не установлено, во второй подгруппе частота составила 6,7%, а в 3 подгруппе – 43,3% ( $p < 0,05$  по сравнению с группой контроля,  $p < 0,01$  по сравнению с 1 подгруппой и  $p < 0,05$  по сравнению со 2 подгруппой). При этом относительный риск рождения детей с подобной патологией при гестозе составил 1,652 [95% ДИ 1,378–1,981;  $p < 0,05$ ]. Респираторный дистресс III ст. имел место только у детей от матерей с гестозом средней и тяжелой степени в – 13,3% ( $p < 0,05$  по сравнению с контролем) и 6,7% соответственно ( $p > 0,05$  по сравнению с группами гестоза различной степени тяжести и группой контроля).

Конъюгационная желтуха у новорожденных, рожденных от матерей с гестозом, выявлена в 26,7% случаев, в группе контроля таких детей было 23,3% ( $p > 0,05$ ).

У новорождённых основной группы чаще встречались клинические признаки внутриутробной инфекции по сравнению с группой с неосложненной гестозом беременностью – 23,3 и 0% соответственно ( $p < 0,05$ ), причем максимальное количество этой патологии выявлено в 3 подгруппе – 30% ( $p < 0,01$  по сравнению с группой женщин с неосложненным течением беременности).

Таким образом, наличие у матери гестоза, особенно его среднетяжелых и тяжелых форм увеличивает перинатальную заболеваемость, что согласуется с мнением ведущих ученых [Кулаков В.И. и соавт., 1998; Серов В.Н. и соавт., 2001; Савельева Г.М., 2004].

Для оценки вазорегулирующей функции сосудистого эндотелия у больных гипертонической болезнью, атеросклерозом, сахарным диабетом и другими заболеваниями, имеющими в своем патогенезе эндотелиальную дисфункцию, исследуют реакции плечевой артерии на пробу с ишемией – реперфузией. В литературе сведений о состоянии эндотелийзависимой вазодилатации на уровне резистивных сосудов при беременности практически нет.

Главной составляющей патогенеза гестоза является нарушение функции клеток эндотелия. В связи этим сосудистые проблемы и их индикатор – артериальное давление становятся ведущими в клинической картине гестоза. Доказано, что гипертоническая болезнь сопровождается нарушением эндотелийзависимой вазодилатации. Изучение механизмов формирования артериальной гипертензии при беременности, и в первую очередь ЭЗВД, является весьма актуальным и заслуживает самого пристального внимания.

В качестве метода оценки эндотелийзависимого механизма регуляции просвета сосудов использовалась функциональная проба с ишемией/реперфузией и фармакологическая проба с нитроглицерином.

Проводя обследование женщин, нами установлены общие закономерности изменения оксигенации тканей предплечья при проведении функциональной пробы. У всех испытуемых, как у не беременных, так и у беременных, установлена примерно одинаковая оксигенация тканей предплечья в состоянии покоя. На фоне ишемии в общих группах испытуемых происходило снижение оксигенации тканей

предплечья ( $p < 0,001$  во всех случаях по сравнению с исходными данными). В фазе ранней реперфузии выявлено повышение уровня оксигенации тканей предплечья до исходных цифр. Однако в группе женщин с тяжелым гестозом показатели оксигенации тканей предплечья сразу после ишемии были ниже, чем в группе небеременных женщин ( $p < 0,05$ ).

В фазу поздней реперфузии у обследованных женщин в общих группах отмечено повторное снижение оксигенации тканей предплечья до значения ниже исходного ( $p < 0,01$  во всех случаях). При этом показатели оксигенации тканей предплечья в фазе поздней реперфузии у беременных женщин были ниже, чем у небеременных ( $p < 0,05$ ). В группе женщин с гестозом это снижение показателя было более выражено и максимально в группе с тяжелым гестозом.

Анализируя полученные результаты методом вариационного анализа через доверительный интервал, мы разделили всех обследованных на три подгруппы в зависимости от индивидуального типа реакции на пробу с ишемией/реперфузией.

У женщин, составивших I подгруппу, выявлено снижение индивидуальных уровней оксигенации тканей предплечья в фазе ранней реперфузии относительно исходного значения данного показателя. Частота встречаемости данного типа реакции микрососудов в группе женщин с тяжелым гестозом является преобладающей (76,7%), по сравнению с группой женщин с неосложненным течением беременности (36,7%  $p < 0,05$ ) и гестозом легкой и средней степени тяжести (56,7%). Показатели оксигенации тканей у женщин с тяжелым гестозом в фазу ранней реперфузии были ниже, чем небеременных женщин ( $p < 0,05$ ).

У женщин, составивших II подгруппу, изменений оксигенации тканей предплечья в фазу реперфузии после проведения окклюзионной пробы не зарегистрировано.

При тяжелом гестозе данный тип реакции микрососудов встречался у 10% женщин и у 6,7% женщин при гестозе легкой и средней степени тяжести, что было реже, чем при неосложненной беременности (33,3%) ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Показатели оксигенации тканей в данной подгруппе в фазе ранней

реперфузии у женщин с неосложненным течением беременности были ниже, чем у небеременных ( $p < 0,05$ ).

У женщин, составивших III подгруппу, зарегистрирован прирост уровня оксигенации тканей предплечья в фазе ранней реперфузии после проведенной окклюзионной пробы. Данный тип реакции микрососудов встречался при тяжелом гестозе у 13,3% женщин, у женщин с неосложненным течением беременности в 30% случаев и у женщин с гестозом легкой и средней степени тяжести в 36,7% случаев. Уровень оксигенации тканей предплечья в фазу ранней реперфузии при тяжелом гестозе был меньше по сравнению со всеми группами обследованных ( $p < 0,05$ ).

Ввиду высокой частоты встречаемости артериальной гипертензии при гестозе (53,3%) нами проведен дополнительный анализ полученных данных, при котором все женщины основной группы были разделены по наличию и отсутствию артериальной гипертензии на две подгруппы. При анализе изменения уровня оксигенации тканей предплечья при проведении обследования установлена одинаковая реакция оксигенации тканей на проведенную окклюзионную пробу у женщин выделенных подгрупп. В фазе ранней реперфузии у женщин обеих подгрупп происходило восстановление оксигенации тканей предплечья до исходных цифр и в фазе поздней реперфузии отмечено дальнейшее снижение оксигенации тканей причем ниже исходного значения ( $p < 0,001$ ). При разделении всех женщин на три типа (ранее описанные) реакции микрососудов на ишемию установлена одинаковая частота их встречаемости: снижение (71,4% без артериальной гипертензии и 62,5% с артериальной гипертензией), без изменения (7,2% без артериальной гипертензии и 12,5% с артериальной гипертензией), прирост (21,4% без артериальной гипертензии и 25% с артериальной гипертензией).

Известно, что эндотелий обладает уникальной способностью реагировать на различные гуморальные изменения окружающей среды продукцией сосудосуживающих и сосудорасширяющих факторов, баланс которых и определяет тонус гладкомышечных клеток, являясь весьма важным в регуляции сосудистого тонуса и АД.

На фоне проведения фармакологической пробы с нитроглицерином как у небеременных, так и у беременных с неосложненным гестозом течением беременности, изменений оксигенации тканей предплечья не установлено. Считается, что изменение тонуса сосудов, которое осуществляется с помощью эндогенного NO, плохо поддается «стимуляции» экзогенно введенным NO, в частности, нитросодержащими препаратами, которые способны лишь частично заменить этот фактор при наличии дисфункции эндотелия.

При различном течении беременности наблюдаются неоднородные изменения ЭЗВД, поэтому мы посчитали необходимым определить у этих женщин содержание ЭТ-1и уровень стабильных метаболитов NO в плазме крови.

При определении уровня эндотелина I в плазме крови обследованных установлено, что его уровень у небеременных женщин до обследования составил  $0,62 \pm 0,1$  фмоль/л, при этом индивидуальные показатели колебались от 0,02 до 2,03 фмоль/л. У беременных женщин относительно небеременных установлено повышение данного показателя ( $p < 0,01$ ). Наибольшее значение эндотелина I установлено в группе женщин с тяжелым гестозом ( $3,01 \pm 0,51$  фмоль/л), что было выше, чем у небеременных ( $p < 0,001$ ) и женщин с неосложненным течением беременности ( $p < 0,01$ ).

Ряд авторов также отмечают аналогичные изменения содержания эндотелина I при гестозе [Leszezynska-Gorzela B. et al., 1997; Pouta A. et al., 1997; Rust O.A. et al., 1997; Orbak Z. et al., 1998]. Некоторые исследователи считают, что уровень эндотелина I у беременных с гестозом может служить индикатором для оценки тяжести гестоза [Bussen S. Et al., 1999]. Установлено, что за счет патологических процессов в сосудах плаценты при гестозе повышается уровень эндотелина-1. Возрастают содержание ЭТ-1 у беременных с тяжелым гестозом являлось свидетельством наличия у них эндотелиальной дисфункции.

Более высокий уровень ЭТ-1 в плазме у беременных с тяжелым гестозом по отношению к здоровым беременным (путем воздействия на рецепторы типа ET-A) мог быть одной из причин, повышающих чувствительность гладких мышц сосудов к катехоламинам, вызывающих вазоконстрикцию.

При определении уровня суммарных нитритов и нитратов у небеременных и у беременных установлены выраженные колебания их индивидуальных показателей до и после проведения пробы. Средние значения суммарных нитритов не отличались между собой как в общих группах испытуемых, так и между подгруппами по типу реакции на ишемию. Однако установлено, что значение суммарных нитритов и нитратов до обследования при тяжелом гестозе были максимальны по сравнению со всеми группами обследованных женщин ( $p < 0,05$ ) и составило  $102,88 \pm 27,93$  мкмоль/л до обследования и  $112,63 \pm 28,88$  мкмоль/л, что было выше, чем при гестозе легкой и средней степени тяжести.

Молекула NO образуется из L-аргинина под влиянием NO-синтазы (NOS). Принято считать, что эндотелиальная NO-синтаза определяет васкулярный гомеостаз – дилатационный контроль сосудов, защиту интимы от адгезии моноцитов и предотвращение пролиферации гладких мышц сосудов. Гестоз – это клиническое проявление эндотелиальной дисфункции, которая и определяет течение данной патологии. В результате повреждения эндотелиальных клеток возникает недостаточность эндотелиальной NO-синтазы и как следствие снижение уровня NO. В тромбоцитах при гестозе также диагностировано снижение активности NO-синтазы. Низкое содержание NO в крови пациентов с гестозом описано в ряде работ зарубежных авторов как один из патофизиологических механизмов развития гестоза [Bernardi F. et al. 2008; Dikensoy E. et al. 2009; Matsubara K. et al 2010]. По другим данным концентрация NO в крови пациенток с гестозом выше, чем у здоровых женщин, что, по-видимому, свидетельствует о развитии компенсаторных механизмов, направленных на усиление сосудорасширяющего эффекта NO и как следствие увеличение кровоснабжения плода [Алимхаджиева М.А.2009; Teran E. et al., 2009; Nashizawa H. et al., 2009].

Оценивая изменение количества десквамированных эндотелиоцитов в периферической крови у беременных женщин до и после проведения пробы нами не установлены различия показателя между группами обследованных ( $p > 0,05$ ). При гестозе выявлено сниже-

ние количества клеток после проведенного обследования, особенно выраженное в группе женщин с тяжелым гестозом и составило  $21,73 \pm 4,39 \times 10^4$ /л клеток до обследования и  $5,53 \pm 0,84 \times 10^4$ /л клеток после проведенного обследования ( $p < 0,01$ ). Данных в литературе об изменении количества десквамированных эндотелиоцитов при приведении окклюзионной пробы у беременных с гестозом не найдено.

При анализе лабораторных показателей в группах женщин с артериальной гипертензией и без нее установлено снижение количества десквамированных эндотелиоцитов после окклюзионной пробы ( $p < 0,01$ ). Межгрупповых различий этих показателей не выявлено.

Проведен анализ зависимости состояния новорожденных от типа реакции микрососудов на пробу с ишемией/реперфузией у матерей с гестозом. Установлено, что у детей родившихся у женщин с приростом уровня оксигенации тканей предплечья в фазе ранней реперфузии, значительно выше частота перинатальной патологии (церебральная ишемия, внутрижелудочковые кровоизлияния, респираторный дистресс синдром, врожденная пневмония, конъюгационная желтуха). Это позволило предложить способ прогнозирования развития перинатальной патологии у новорожденных от матерей с гестозом. Прогностическая ценность положительного результата 95%.

Таким образом, в результате проведенного исследования, выявленные нами изменения реакции микрососудов на окклюзионную пробу свидетельствуют об эндотелиальной дисфункции у женщин с гестозом (преобладающим типом реакции микрососудов предплечья на ишемию является снижение оксигенации тканей в фазе ранней реперфузии). Это подтверждается результатами лабораторных исследований (повышение уровня эндотелина I в периферической крови, причем максимальные цифры данного показателя установлены у женщин с тяжелым гестозом по сравнению с небеременными и женщинами с неосложненным гестозом беременностью). Установленные типы реакции микрососудов на ишемию не зависели от наличия или отсутствия артериальной гипертензии у обследованных женщин.



**Выводы**

1. Наиболее значимыми факторами риска развития гестоза являются: артериальная гипертензия (ОР 2,071); наличие двух и более соматических заболеваний у женщин (ОР 1,921); ожирение (ОР 1,625); беременность вне брака (ОР 1,588); возраст старше 36 лет (ОР 1,1383).

2. Эндотелий-зависимые сосудистые реакции с использованием функциональной пробы с ишемией/реперфузией у небеременных и беременных (с наличием и отсутствием гестоза) женщин характеризуется снижением оксигенации тканей предплечья на фоне ишемии и последующей разнонаправленной индивидуальной реакцией в ранней фазе реперфузии (снижение, отсутствие изменения, повышение). В поздней фазе реперфузии оксигенация тканей у женщин вновь снижается, при этом у беременных была ниже таковой у небеременных.

3. Индивидуальные показатели оксигенации тканей в условиях ранней реперфузии у небеременных и беременных женщин при отсутствии у них гестоза меняются с одинаковой частотой: у 39,5 и 36,7% (соответственно) они снижаются, у 37,5 и 30% – повышаются относительно исходного до пробы значения, у 23,3 и 33,3% не меняются.

У женщин с гестозом в большинстве случаев оксигенация тканей в фазе ранней реперфузии снижается.

4. У беременных женщин увеличивается содержание эндотелина I в периферической крови. У женщин с тяжелым гестозом уровень эндотелина I возрастает в 2,5 раза по сравнению с женщинами с неосложненным течением беременности. Установлены выраженные индивидуальные колебания суммарных нитритов у женщин с неосложненной и осложненной гестозом беременностью.

5. Преобладающим типом реакции микрососудов на прием нитроглицерина, как у небеременных, так и у женщин с неосложненным течением беременности, является отсутствие изменений оксигенации тканей предплечья.

6. Установлено прогностическое значение реакции микрососудов на пробу с ишемией/реперфузией для перинатальной патологии у новорожденных от беременных с гестозом. При увеличении оксигенации тканей предплечья в фазе реперфузии относительно исходного значения прогнозируется развитие перинатальной патологии у новорожденного. Прогностическая ценность положительного результата 95,0%.

**Практические рекомендации**

Акушерско-гинекологической практике предлагается у беременных с гестозом для прогнозирования перинатальной патологии проведение окклюзионной пробы в III триместре гестации. Обследование производится при помощи неинвазивного спектрофотометрического комплекса для контроля объема капиллярного кровенаполнения мягких биологических тканей «Спектротест» (производитель ФГУ «НПП «Циклон-Тест»). Измерение выполняется в области нижней трети внутренней поверхности предплечья.

Запись показателей осуществляется в положении сидя, предплечье располагается на уровне сердца. Перед закреплением датчика женщине надевается на плечо манжетка от стандартного тонометра без нагнетания давления. Запись показателей осуществляется с помощью базового теста в течение 180 секунд с целью регистрации исходного уровня тканевой оксигенации тканей предплечья. Затем в области плеча с помощью манжетки тонометра созда-

ется дополнительное положительное давление больше систолического на 40–50 мм рт. ст. При непрерывной записи показателей артериальная окклюзия поддерживается в течение 180 секунд. По истечении этого времени давление в манжетке резко сбрасывается, а запись продолжается еще в течение 180 секунд. Общее время регистрации показателей составляет 540 секунд. При увеличении оксигенации тканей предплечья в фазе ранней реперфузии относительно исходного значения прогнозируется развитие перинатальной патологии.

**Литература**

- Куликов С.А., Посисеева Л.В., Назаров С.Б., Ситникова О.Г., Клычева М.М. Состояние нитрэргических механизмов регуляции функции эндотелия у беременных с тяжелым гестозом // Врач-аспирант, научно-практический журнал – Воронеж, 2011. – № 3.4(46) с. 617 – 621.
- Куликов С.А., Посисеева Л.В., Назаров С.Б., Ситникова О.Г. Характеристика нитрэргических механизмов регуляции функции эндотелия у беременных с тяжелым гестозом // Бюллетень Федерального центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – СПб, 2010. – № 6. – С. 56–57.
- Куликов С.А., Посисеева Л.В., Назаров С.Б. Характеристика нитрэргических механизмов регуляции функции эндотелия у женщин при физиологической беременности / Тезисы IV Регионального научного форума «Мать и дитя». – Екатеринбург. – 2010. – С. 167–168.

**Список сокращений**

- NO – оксид азота  
ЭТ – 1 – эндотелин 1  
ЭЗВД – эндотелий зависимая вазодилатации

**Сведения об авторах:**

Куликов С.А., кандидат мед. наук, «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России

153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

**About the authors:**

Kulikov S.A., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.



Павлов А.В.

## Особенности функциональной активности периферических нейтрофилов и продуцируемых ими медиаторов при невынашивании беременности поздних сроков

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Гордкова Минздрава Российской Федерации

Сложность решения проблемы преждевременных родов обусловлена многочисленностью причин, несовершенством методов диагностики и лечения. Поскольку обследование и лечение женщин в большинстве случаев приходится осуществлять во время беременности, это не позволяет выявить и устранить имеющиеся патологические состояния. Цель исследования - уточнить медико-биологические факторы риска, установить особенности функциональной активности периферических нейтрофилов при невынашивании беременности поздних сроков, на основании чего разработать новые критерии прогнозирования исхода беременности у женщин с данной патологией. Установлено, что для женщин с угрозой прерывания беременности и женщин с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22-33 недели по сравнению с контрольной группой характерно повышение уровня периферических нейтрофилов, внутриклеточно продуцирующих IL-1 $\beta$  и IL-8, экспрессирующих CD62L молекулы, увеличение сывороточного содержания дефензинов- $\alpha$ .

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, преждевременный разрыв плодных оболочек, IL, CD62L, TLR.

Pavlov A.V.

## Characteristics of functional activity of peripheral neutrophils and produced their mediators for miscarriage late

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

The complexity of the solution to the problem of premature birth due to the multiplicity of causes, imperfection of methods of diagnostics and treatment. Because the examination and treatment of women in most cases have to be done during pregnancy, it is not possible to identify and address existing pathological conditions. The purpose of the study is to clarify the medical and biological risk factors, set the features of functional activity of peripheral neutrophils for miscarriage late, on the basis of which to develop new criteria to predict the outcome of pregnancy in women with this pathology. Found that for women with threatened abortion and women with premature rupture of membranes at 22-33 weeks as compared with the control group is characterized by increased levels of peripheral neutrophils, intracellularly producing IL-1 $\beta$  and IL-8, overexpressing CD62L molecules, increasing the serum content of  $\alpha$ -defensins.

**Key words:** miscarriage, premature rupture of membranes, IL, CD62L, TLR.

**Н**евынашивание беременности находится в центре внимания современной науки о репродукции человека. Проблема преждевременных родов является одной из ведущих в области охраны здоровья матери и ребенка и имеет первостепенное значение для формирования здорового поколения людей с самого раннего периода их жизни. Не менее значителен психо-социальный аспект преждевременных родов, так как рождение неполноценного ребенка или его смерть становятся тяжелой психической травмой, приводят к заметному снижению жизненной активности и часто к отказам от последующих беременностей. Частота прерывания беременности в 3 триместре составляет до 30% в структуре невынашивания. Преждевременный разрыв плодных оболочек сопровождается от 25 до 38% преждевременных родов.

Сложность решения проблемы преждевременных родов обусловлена много-

численностью причин, несовершенством методов диагностики и лечения. Поскольку обследование и лечение женщин в большинстве случаев приходится осуществлять во время беременности, это не позволяет выявить и устранить имеющиеся патологические состояния.

В настоящее время в связи с широким развитием возможностей иммунологии репродукции изучение иммунологических аспектов беременности и ее прерывания стало одним из самых актуальных и перспективных, и все больше исследователей приходят к выводу о значительной роли скоординированной работы врожденной и адаптивной систем иммунитета в развитии недонашивания.

Большинство факторов врожденного иммунитета имеют несомненное значение в поздние сроки гестационного процесса, однако остаются до конца не изученными до настоящего времени. Изучение их особенностей позволит уточнить системные иммунные механизмы, опре-

деляющие развитие невынашивания беременности в поздние сроки, преждевременный разрыв плодных оболочек и преждевременные роды, на основании которых возможна разработка новых прогностических критериев исхода беременности, что имеет большое значение для практического акушерства.

Цель исследования: уточнить медико-биологические факторы риска, установить особенности функциональной активности периферических нейтрофилов при невынашивании беременности поздних сроков, на основании чего разработать новые критерии прогнозирования исхода беременности у женщин с данной патологией.

### Задачи исследования

1. Дать оценку состояния репродуктивного и соматического здоровья, уровня инфицированности женщин с угрозой невынашивания в поздние сроки и при преждевременном разрыве

плодных оболочек, течения беременности и родов, состояния новорожденного; определить медико-биологические факторы риска развития данных осложнений беременности.

2. Установить особенности внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  и IL-8 нейтрофилами периферической крови, экспрессии ими CD62L молекул, мРНК TLR9 и MMP9, сывороточного содержания кальпротектина и дефензинов- $\alpha$  у женщин с угрозой невынашивания беременности и при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–33 недели.

3. Определить особенности функциональной активности нейтрофилов на системном уровне у женщин с угрозой невынашивания и преждевременным разрывом плодных оболочек в зависимости от срока (22–27 и 28–33 недели) и исхода беременности.

4. Разработать новые критерии прогнозирования исхода беременности у женщин с угрозой невынашивания в 22–33 недели.

#### Материал и методы исследования

Обследовано 160 беременных женщин в сроке гестации 22–33 недели. Исход беременности прослежен у всех беременных. Были сформированы следующие клинические группы:

– первая группа (контрольная) – женщины с нормально протекающей беременностью в сроке 22–33 недели – 50 человек;

– вторая группа – женщины с угрозой прерывания беременности в сроке 22–33 недели – 50 человек;

– третья группа – женщины с преждевременным разрывом плодных оболочек в сроке 22–33 недели – 60 человек.

Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь и плацента.

#### Методы исследования

Клинические методы (сбор анамнеза, наружное и внутреннее акушерское исследование, полное клинико-лабораторное обследование);

Функциональные методы (ультразвуковое исследование, кардиотокография).

Иммунологические методы: выделение обогащенных популяций нейтрофилов из периферической крови осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в двойном градиенте плотности фиколл-урографина

( $d=1,078$ ,  $d=1,114$ ). Поверхностный фенотип и внутриклеточный синтез цитокинов нейтрофилами определяли с помощью моноклональных антител (мАТ) методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan. В качестве флуорохромной метки использовали флуоресцеин изотиоционат (FITC). В исследовании использовали конъюгированные с FITC анти-CD62L антитела. Внутриклеточную продукцию цитокинов оценивали с помощью мАТ: конъюгированные с FITC анти-human-IL-1 $\beta$  и анти-human-IL-8 антитела (CALTAG Laboratories, USA). При оценке внутриклеточной продукции цитокинов нейтрофилами периферической крови предварительно проводили процедуру пермеабилитации клеточной мембраны с использованием коммерческого набора FIX&PERM cell permeabilization kit (CALTAG Laboratories, Burlingame, CA, USA). Для количественного определения экспрессии мРНК MMP9 и TLR9 нейтрофилами периферической крови использовали количественный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в масштабе реального времени. Содержание кальпротектина и дефензинов- $\alpha$  в сыворотке крови определяли методом ELISA на микропланшетном ридере Multiscan EX. В сыворотке периферической венозной крови методом ИФА на микропланшетном ридере Multiscan EX Labsystems (Финляндия) с использованием коммерческих систем ЗАО «Вектор-Бест» определяли уровень IgM и IgG антител к HSV, CMV, Chlamydia Trachomatis, IgA и IgG антител к Ureaplasma Urealyticum, Mycoplasma Hominis.

Патоморфологические методы: обзорная гистология, окраска гематоксилином и эозином.

Математическая обработка полученных результатов исследования проводилась по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов данных на нормальность распределения. Описание выборки производилось с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C25–C75). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивалась по непараметрическому критерию U (Манна-Уитни) и по t-критерию ( $M \pm m$ ). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0.», «Microsoft Office 2007», «GenStat», «MedCalc» и «Open Epi».

#### Результаты исследования и их обсуждение

Возраст обследованных беременных колебался от 16 до 40 лет. Группы практически не отличались по среднему возрасту, который составил  $28,04 \pm 0,79$  года в первой группе;  $28,28 \pm 0,86$  – во второй и  $29,24 \pm 1,37$  – в третьей группе. Подавляющее большинство женщин были в возрасте от 21 до 30 лет: в первой группе – 60%, во второй – 52% и в третьей – 50%. Следует отметить, что наибольшее количество женщин в возрасте до 20 лет было во второй группе (32% против 8%; скорректированное ОШ 5,41; 95% ДИ 1,66–17,64,  $p < 0,01$ ). Во второй и третьей группах достоверно чаще по сравнению с контролем женщины были не работающими ( $p < 0,001$ ). Характер становления менструальной функции в группах наблюдения особенностей не имел. При проведении ретроспективной оценки гинекологического анамнеза обследуемых женщин установлено, что частота гинекологических заболеваний у женщин второй и третьей группы была достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$  в обоих случаях). Среди них достоверно чаще отмечены воспалительные процессы гениталий (кольпит, аднексит, эндометрит) (34,0% против 14%; скорректированное ОШ 3,16; 95% ДИ 1,17–8,51 во второй группе и 35% против 14,0%; скорректированное ОШ 3,3; 95% ДИ 1,26–8,62 в третьей группе,  $p < 0,01$  в обоих случаях), эктопия шейки матки (48% против 20%, скорректированное ОШ 3,69; 95% ДИ 1,52–8,97,  $p < 0,05$  во второй группе и 56,7% против 20%, скорректированное ОШ 5,2; 95% ДИ 2,21–12,37 в третьей группе,  $p < 0,01$ ). Нарушения менструальной функции достоверно чаще выявлены у женщин второй группы по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). Анализ данных о предшествующих беременностях показал, что искусственные аборты у женщин второй и третьей групп отмечены достоверно чаще, чем в контрольной группе (26% против 6%; скорректированное ОШ 5,5; 95% ДИ 1,46–20,75 во второй и 53,3% против 6%; скорректированное ОШ 17,9; 95% ДИ 5,01–63,9 в третьей группе,  $p < 0,01$ ). У женщин с ПРПО в анамнезе чаще имели место самопроизвольные выкидыши (23,3% против 2%; скорректированное ОШ 14,91; 95% ДИ 1,88–118,0,  $p < 0,01$ ).

Первобеременными во второй группе были 14% пациенток (скорректированное ОШ 3,14; 95% ДИ 1,29–7,65,

$p < 0,01$ ), в третьей – 15% женщин, что достоверно ниже, чем в контрольной группе (56%) ( $p < 0,01$  в обоих случаях). Женщины с ПРПО чаще были повторнородящими по сравнению со второй группой ( $p < 0,05$ ).

Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что группу повышенного риска по невынашиванию беременности составляют молодые женщины с наличием в анамнезе воспалительных заболеваний, самопроизвольных выкидышей и медицинских аборт. На фоне хронического воспалительного процесса гениталий происходят изменения в системе иммунитета, что может приводить к нарушению процесса плацентации, инвазии и развития хориона и, в конечном итоге, к прерыванию беременности.

В структуре экстрагенитальной патологии у 100% обследованных всех групп в анамнезе имели место инфекционные заболевания детского возраста (корь, краснуха, скарлатина, ветряная оспа) ( $p > 0,05$  во всех случаях). Каждая женщина перенесла в своей жизни острую респираторно-вирусную инфекцию. Пациентки второй группы достоверно чаще имели в анамнезе хронический тонзиллит ( $p < 0,05$ ), хронический бронхит ( $p < 0,05$ ), хронический пиелонефрит (30% против 10%; скорректированное ОШ 4,23; 95% ДИ 1,41–12,7,  $p < 0,01$ ). В третьей группе по сравнению с контролем было больше пациенток, перенесших пневмонию, хронический пиелонефрит (26,7% против 10%; скорректированное ОШ 3,0; 95% ДИ 1,005–8,95,  $p < 0,05$ ), его обострение при беременности ( $p < 0,05$  во всех случаях).

В структуре осложнений во время беременности у пациенток второй (88%) и третьей (55% против 0%; скорректированное ОШ 38,5; 95% ДИ 4,92 – 301,2,  $p < 0,01$ ) групп преобладала угроза прерывания, начиная с первого триместра ( $p < 0,01$  в обоих случаях). Обращает на себя внимание высокая частота острых респираторных заболеваний в первом триместре у женщин второй группы (28% против 8%; скорректированное ОШ 4,47; 95% ДИ 1,35–14,7,  $p < 0,01$ ). Беременность у женщин с угрозой прерывания во втором триместре чаще протекала на фоне анемии ( $p < 0,05$ ).

В контрольной группе у всех женщин беременность завершилась своевременными родами. У пациенток с угрозой прерывания в 44% случаев бере-

менность завершилась преждевременными родами ( $p < 0,01$ ). В третьей группе у 18,3% женщин беременность завершилась поздним самопроизвольным выкидышем, у 73,3% женщин – преждевременными родами в сроке 28–33 недель ( $p < 0,01$  во всех случаях). В данной группе в 80% случаев диагностирован длительный безводный промежуток, среднее значение которого составило  $140,64 \pm 31,28$  часов ( $p < 0,01$ ).

Средняя масса новорожденных во второй группе составила  $2695,4 \pm 107,3$  г, в третьей –  $1680,6 \pm 63,8$  г ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно). Средняя масса доношенных новорожденных во второй группе составила  $3072,0 \pm 137,8$  г, что достоверно меньше, чем в первой группе ( $p < 0,05$ ). Перинатальные поражения ЦНС гипоксического генеза были выявлены у 38% детей второй группы, что достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ) и у 86,7% детей третьей группы, что достоверно выше, чем в первой и второй группах ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). У детей второй и третьей группы достоверно чаще диагностировалась церебральная ишемия 2 степени ( $p < 0,01$ ). Церебральная ишемия 3 степени выявлена в 21,6% случаев в третьей группе. В контрольной группе и в группе женщин с угрозой прерывания данное заболевание не отмечалось ( $p < 0,05$  в обоих случаях). Перинатальные поражения ЦНС геморрагического генеза были выявлены у 20% детей второй группы, что достоверно чаще, чем в контрольной группе ( $p < 0,01$ ) и у 63,3% детей третьей группы, что достоверно выше, чем в первой и второй группах ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно). У детей третьей группы в 31,7% случаев выявлено внутриутробное инфицирование, что достоверно выше, чем в первой и второй группах ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$  соответственно).

Неблагоприятное влияние инфекционного фактора на течение гестационного процесса и состояние плода хорошо изучено и связано с реализацией патогенных свойств возбудителей инфекций в организме матери и плода. Так ряд возбудителей способны оказывать тератогенное действие, прямое цитотоксическое действие на клетки (лимфоциты), вызывать изменения в системе гемостаза, тем самым, приводя к прерыванию беременности. Считается, что персистирующая вирусная и бактериальная инфекция являются основными

факторами, приводящими к прерыванию беременности.

При обследовании женщин на наличие урогенитальной инфекции методом ИФА установлено, что пациентки всех обследуемых групп имели высокий уровень инфицированности с преобладанием вирусно-бактериального инфицирования (57,1, 47,3 и 60% соответственно). Частота выявления активной инфекции *Ureaplasma Urealyticum* у пациенток второй и третьей групп была достоверно выше, чем в контрольной (20,9 против 4,7%; скорректированное ОШ 5,33; 95% ДИ 1,18–45,9 и 24% против 4,7%; скорректированное ОШ 5,71; 95% ДИ 1,02–51,7,  $p < 0,05$ ). Частота выявления активной инфекции *Mycoplasma Hominis* у женщин в третьей группе была достоверно выше по сравнению с таковой в контроле (24% против 4,7%; скорректированное ОШ 5,71; 95% ДИ 1,02–51,7,  $p < 0,05$ ).

При патоморфологическом обследовании плацент от женщин с угрозой прерывания беременности в 22–33 недели диагностировано воспаление базальной децидуальной оболочки последа и стромы ворсин смешанной вирусно-бактериальной этиологии ( $p < 0,05$ ). Характерной особенностью воспаления явился васкулит стволочных ворсин с сужением просвета магистральных сосудов.

В плацентах женщин с ПРПО наряду с пролиферативным воспалением диагностирован экссудативный хориоамнионит, плацентарный хорионит и субхориальный интервиллузит. В плодных оболочках выявлена картина хориоамнионита и париетального децидуита ( $p < 0,05$ ), что патогенетически связано с восходящим инфицированием.

Выявление причин преждевременных родов очень важно в каждом конкретном наблюдении, поэтому во многих странах мира применяется стратегия выделения факторов риска с учетом биологических и медицинских факторов в разных категориях беременных женщин. При оценке риска развития угрозы прерывания беременности в 22–33 недели нами установлено, что наиболее значимыми факторами риска развития данного осложнения беременности являются: медицинский аборт в анамнезе (ОШ-5,5), возраст пациенток до 20 лет (ОШ-5,41), активная уреаплазменная инфекция (ОШ-5,33), ОРЗ во время беременности (ОШ-4,47), хронический пиелонефрит (ОШ-4,23), эктопия шейки



матки (ОШ-3,69), воспалительные заболевания генитального тракта (ОШ-3,16), первая беременность (ОШ-3,14).

Риск развития ПРПО повышается в 38 раз у женщин с угрозой невынашивания, в 17,9 раз у женщин, имеющих в анамнезе 2 и более медицинских аборта, в 14,9 раз – самопроизвольные выкидыши. Также риск ПРПО увеличивается у женщин с эктопией шейки матки – в 5,2 раза, с воспалительными заболеваниями генитального тракта – в 3,3 раза, у повторнородящих – в 2,6 раза.

В настоящее время большое значение имеет исследование иммунного статуса беременных. Установлено, что материнская иммунная система находится не в супрессивном, как считалось ранее, а в активированном состоянии. С целью уточнения иммунных механизмов развития угрозы невынашивания и преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–33 недели беременности было проведено исследование функциональной активности нейтрофилов на системном уровне.

При анализе характера внутриклеточной продукции нейтрофилами периферической крови IL-1 $\beta$  нами было установлено, что угроза невынашивания в сроке 22–33 недели и преждевременный разрыв плодных оболочек в этом сроке сопровождаются усилением продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ ) нейтрофилами (74,15 и 70,45% соответственно по сравнению с контролем,  $p < 0,0001$  в обоих случаях), что является признаком, свидетельствующим об активации периферических нейтрофилов при данных осложнениях беременности. Можно предположить, что выявленная усиленная внутриклеточная продукция IL-1 обусловлена наличием урогенитальных инфекций, которые по литературным данным могут выступать в роли триггера воспалительного ответа. Анализ относительного содержания в периферической крови беременных женщин нейтрофилов, экспрессирующих внутриклеточно IL-8, показал, что при угрозе невынашивания и при преждевременном разрыве плодных оболочек в сроке 22–33 недели уровень IL-8+ нейтрофилов был значительно повышен (77,45 и 76,95% соответственно по сравнению с таковым в контроле,  $p < 0,0001$  в обоих случаях). Полученные данные могут свидетельствовать о том, что, являясь сильным хемоаттрактантом, IL-8 участвует в индукции направленного хемотаксиса нейтрофилов.

При анализе относительного содержания IL-1 + и IL-8+ нейтрофилов на системном уровне нами не выявлено зависимости данных параметров от срока (22–27 и 28–33 недели) беременности у женщин с угрозой невынашивания и при преждевременном разрыве плодных оболочек.

При оценке характера экспрессии CD62L молекул на поверхности периферических нейтрофилов нами было установлено, что угроза невынашивания беременности в 22–33 недели и ПРПО в эти же сроки сопровождались повышением количества CD62L+ нейтрофилов в периферической крови беременных женщин (62,8 и 66,8% соответственно, по сравнению с показателями контроля,  $p < 0,001$  в обоих случаях). При анализе относительного содержания периферических CD62L+ нейтрофилов нами не выявлено зависимости данного показателя от срока беременности (22–27 и 28–33 недель) у женщин второй и третьей групп ( $p > 0,05$  в обоих случаях).

Как известно, CD62L молекулы относятся к группе L- селектинов. Находясь на поверхности клеточной мембраны, этот гликопротеин обеспечивает клеточную адгезию к активированному сосудистому эндотелию в начальной фазе воспаления и выходу клеток из сосудистого русла в ткань. По-видимому, выявленное нами выраженное усиление экспрессии CD62L молекул на поверхности периферических нейтрофилов, у женщин с угрозой невынашивания беременности и при ПРПО по сравнению с таковым в группе женщин с не осложненной беременностью, может быть одним из механизмов, определяющих усиленную миграцию нейтрофилов в ткань шейки матки, плодные оболочки, плацентарную зону непосредственно перед развязыванием родовой деятельности.

Учитывая выявленные нами значительные изменения в экспрессии функциональных молекул на поверхности периферических нейтрофилов при угрозе невынашивания беременности и при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–33 недели, мы оценили также характер экспрессии нейтрофилами матриксной металлопротеиназы-9 (ММР9) у данных групп женщин. Выбор именно этих молекул, относящихся к классу протеолитических ферментов, был продиктован тем, что ММР9 участвует в тканевом ремоделировании шейки матки. При исследовании уровня экс-

прессии мРНК ММР9 периферическими нейтрофилами у женщин с угрозой невынашивания беременности в 22–33 недели было установлено значительное повышение данного показателя по сравнению с показателями контрольной группы ( $M \pm m = 72,74 \pm 34,25$  и  $3,32 \pm 3,01$  копий пар  $\times 10^3$ /мкл соответственно,  $p < 0,05$ ). Причем, при анализе этого параметра в зависимости от срока гестации установлен достоверно более высокий его уровень в сроке 22–27 недель ( $Me = 22,29$  копий пар  $\times 10^3$ /мкл), чем в контроле ( $p < 0,02$ ). С увеличением срока гестации (28–33 недели) уровень экспрессии мРНК ММР9 периферическими нейтрофилами снижался ( $Me = 6,32$  копий пар  $\times 10^3$ /мкл) и не имел достоверных отличий от показателей контрольной группы и группы женщин с угрозой прерывания в 22–27 недель. По-видимому, это можно объяснить тем, что по мере увеличения срока беременности усиливается хоминг нейтрофилов, экспрессирующих мРНК ММР9, из сосудистого русла в ткани шейки матки.

Показатели экспрессии мРНК ММР9 нейтрофилами периферической крови женщин с ПРПО в 22–33 недели беременности не определялись, вероятно, за счет усиленного направленного процесса хоминга клонов в плодные оболочки, способствующего не только непосредственному разрушению структурных компонентов межклеточного матрикса, но и опосредованно вызывающего больший приток фагоцитов в дегидратированную ткань, дегрануляция которых приводит к увеличению концентрации деструктивных веществ на локальном уровне.

Известно, что в защите организма от патогенов принимают участие две системы иммунологической защиты – реакции врожденного (естественного) и приобретенного (адаптивного) иммунитета. На начальном этапе взаимодействия фагоцитов с патогенами происходит распознавание молекулярных паттернов на поверхности микроорганизмов с помощью паттерн-распознающих рецепторов, прежде всего Toll-like Receptors (TLRs). Выявлено достоверное увеличение экспрессии мРНК TLR9 периферическими нейтрофилами женщин с угрозой невынашивания в 22–33 недели беременности по сравнению с показателями контрольной группы ( $0,65 \pm 0,25$  копий пар  $\times 10^3$ /мкл,  $p < 0,01$ ), в основном за счет поздних сроков



(28–33 недели). Полученные данные могут свидетельствовать о процессах гиперактивации системы врожденного иммунитета, которые носят адекватный компенсаторный характер, что сдерживает развитие мощной воспалительной реакции и способствует пролонгированию беременности. По данным литературы [Witkin S.S., 2011] подобная гиперактивация TLR избирательно направлена на борьбу с микробными инфекционными агентами, не опосредуя процесса фагоцитоза, но запуская синтез цитокинов и усиливая переваривающую способность фагоцитов.

Показатели экспрессии мРНК TLR9 нейтрофилами на системном уровне женщин с ПРПО в 22–33 недели беременности не определялись, вероятно, за счет усиления миграции нейтрофилов и макрофагальных субпопуляций в ткани шейки матки, плодные оболочки, плацентарную зону.

Показано, что связывание патогенов с TLR инициирует секрецию противомикробных пептидов. Обеспечивая «мгновенный иммунитет», противомикробные пептиды являются, с одной стороны, естественными эндогенными антибиотиками, а с другой – сигнальными молекулами, вовлеченными в процессы активации клеток иммунной системы. Было изучено содержание  $\alpha$ -дефензинов в сыворотке крови у женщин при угрозе невынашивания в 22–33 недели. Установлено, что концентрация этого белка в данной группе была достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы ( $722,05 \pm 67,92$  и  $405,04 \pm 45,94$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о выраженной противомикробной защите. Проведенная нами оценка особенностей содержания дефензинов- $\alpha$  в сыворотке крови беременных женщин с ПРПО в 22–33 недели показала, что концентрация этого показателя была также достоверно выше, чем у пациенток контрольной группы ( $868,44 \pm 99,14$  и  $405,04 \pm 45,94$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ), что ассоциируется с наличием активной инфекции *Ureaplasma Urealyticum* и *Mycoplasma Hominis* в данной клинической группе и связано, по-видимому, с активацией TLR9.

Известно, что нейтрофилы периферической крови являются короткоживущими клетками, поэтому мы не наблюдали одновременного повышения ими экспрессии мРНК TLR9 ввиду их

направленной миграции в ткани. Кроме того, повышение содержания дефензинов- $\alpha$  на системном уровне у женщин с ПРПО было более выражено в сроке 22–27 недель, чем в 28–33 недели ( $1009,1 \pm 104,4$  и  $272,06 \pm 63,8$  пг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ), что свидетельствует о выраженности иммунологических изменений на более ранних сроках гестации с вовлечением других иммунных механизмов.

Для дополнительной оценки процессов противомикробной иммунной защиты при невынашивании беременности поздних сроков нами было оценено сывороточное содержание кальпротектина, являющегося одним из наиболее распространенных цитоплазматических протеинов нейтрофилов, обладающего выраженным бактерицидным и фунгицидным действием и секретирующимся в больших количествах при активации нейтрофилов в местах воспаления. Выявлено, что сывороточное содержание кальпротектина у женщин с угрозой невынашивания в 22–33 недели было достоверно ниже по сравнению с таковым в контрольной группе ( $3,1 \pm 0,49$  и  $6,22 \pm 1,32$  мкг/мл соответственно,  $p < 0,05$ ). Очевидно, что при данной акушерской патологии активация нейтрофилов не сопровождалась адекватным усилением продукции кальпротектина, что может обуславливать нарушение формирования противoinфекционного ответа и приводить к развитию клинических признаков угрозы невынашивания беременности.

Мы не установили достоверных отличий в концентрации кальпротектина в сыворотке крови у женщин с ПРПО в 22–33 недели. Однако, наличие положительной корреляционной связи между уровнем  $\alpha$ -дефензинов и кальпротектина может свидетельствовать об однонаправленной реализации биологических эффектов данных протеинов.

Проведенный корреляционный анализ не выявил функциональных связей между показателями активности периферических нейтрофилов в контрольной группе. При угрозе невынашивания беременности в 22–33 недели было выявлено 4 положительные корреляционные связи: IL-1 $\beta$ + – IL-8+, IL-8+ – CD62L+, CD62L+ – мРНК TLR9, дефензины- $\alpha$  – кальпротектин. При преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–33 недели было выявлено 3 функциональные связи: IL-1 $\beta$ + – IL-8+, IL-8+

– CD62L+, дефензины- $\alpha$  – кальпротектин. Характер связей в группах менялся в зависимости от срока и исхода беременности, наличия признаков угрозы прерывания.

При ретроспективной оценке иммунологических показателей на системном уровне у женщин с угрозой невынашивания в зависимости от исхода беременности установлено, что имело место изменение только относительного содержания CD62L+ нейтрофилов. В группе женщин, беременность которых завершилась родами в срок, относительное содержание CD62L+ нейтрофилов составило 57,9%; в группе женщин, беременность которых завершилась преждевременными родами – 70%, что достоверно выше, чем в контрольной группе ( $p < 0,001$  в обоих случаях). Нами выявлено, что относительное содержание CD62L+ позитивных нейтрофилов в группе женщин, беременность которых завершилась преждевременными родами, было достоверно выше по сравнению с группой женщин, беременность которых завершилась родами в срок ( $p < 0,05$ ). На основании полученных данных был разработан способ прогнозирования исхода беременности при угрозе невынашивания в 22–33 недели по относительному содержанию CD62L+ нейтрофилов периферической крови. При его значении равно или более 65% прогнозируют преждевременные роды (приоритетная справка № 2011139011 от 26.09.2011г).

Резюмируя результаты проведенного исследования, можно заключить, что развитие угрозы прерывания в 22–33 недели беременности и ПРПО в эти же сроки ассоциировано с активацией факторов врожденного иммунитета на системном уровне при наличии инфекционного фактора.

Проведенные исследования позволили охарактеризовать функциональную активность нейтрофилов периферической крови, цитокин-, TLR- опосредованные механизмы формирования угрозы невынашивания в поздние сроки, роль противомикробных пептидов в данном осложнении беременности. Выявленная активация системы врожденного иммунитета, которая носит адекватный компенсаторный характер, сдерживает развитие мощной воспалительной реакции и способствует пролонгированию беременности. И, напротив, полученные данные о гиперактива-

ции факторов врожденного иммунитета или неадекватном иммунном ответе могут обуславливать нарушение формирования противоинфекционного ответа и приводить к развитию клинических признаков угрозы невынашивания беременности и преждевременному разрыву плодных оболочек.

#### Выводы

1. Медико-биологическими факторами риска, влияющими на развитие угрозы невынашивания в сроке 22–33 недели беременности являются медицинский аборт в анамнезе (ОШ-5,5), возраст пациенток до 20 лет (ОШ-5,4), активная уреоплазменная инфекция (ОШ-5,3), ОРЗ во время беременности (ОШ-4,4); хронический пиелонефрит (ОШ-4,2), эктопия шейки матки (ОШ-3,6), воспалительные заболевания генитального тракта (ОШ-3,1), первая беременность (ОШ-3,1).

2. К медико-биологическим факторам, определяющим риск развития преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–33 недели беременности, относятся угроза невынашивания (ОШ-38,5), два и более аборта в анамнезе (ОШ-17,9), самопроизвольные выкидыши в анамнезе (ОШ-14,9), активная уреоплазменная (ОШ-5,7) и микоплазменная инфекция (ОШ-5,7); эктопия шейки матки (ОШ-5,2), воспалительные процессы гениталий (ОШ-3,3), хронический пиелонефрит (ОШ-3,0).

3. Для женщин с угрозой прерывания беременности и женщин с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–33 недели по сравнению с контрольной группой характерно повышение уровня периферических нейтрофилов, внутриклеточно продуцирующих IL-1 $\beta$  и IL-8, экспрессирующих CD62L молекулы, увеличение сывороточного содержания дефензинов- $\alpha$ . Только для угрозы прерывания беременности характерно повышение мРНК TLR9, MMP-9, снижение сывороточного уровня кальпротектина, для ПРПО – отсутствие экспрессии мРНК TLR9, MMP9 и изменений в уровне кальпротектина.

#### Сведения об авторах:

*Павлов А.В.*, кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России  
153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

#### About the authors:

*Pavlov A.V.*, Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.

4. При угрозе прерывания беременности в 22–27 недель в отличие от показателей женщин контрольной группы отмечается усиление экспрессии периферическими нейтрофилами мРНК MMP9, а в 28–33 недели – мРНК TLR9. При преждевременном разрыве плодных оболочек отличия от показателей женщин с нормально протекающей беременностью отсутствуют.

5. Беременность, закончившаяся преждевременными родами при наличии угрозы прерывания в 22–33 недели, ассоциируется с высоким содержанием CD62L+ нейтрофилов в периферической крови. Повышение относительного содержания CD62L позитивных нейтрофилов периферической крови пациенток с угрозой прерывания в 22–33 недели беременности более 65% позволяет прогнозировать преждевременные роды с точностью 90%.

6. Характер корреляционных связей между показателями функциональной активности нейтрофилов различен при угрозе прерывания беременности и преждевременном разрыве плодных оболочек и зависит от срока и исхода беременности.

#### Практические рекомендации

1. В группу риска на развитие угрозы невынашивания беременности в поздние сроки следует относить первобеременных женщин в возрасте до 20 лет, страдающих хроническим пиелонефритом, эктопией шейки матки, имеющих медицинский аборт и воспалительные заболевания гениталий в анамнезе, с активной уреоплазменной инфекцией и перенесших ОРЗ во время беременности.

2. В группу риска на развитие преждевременного разрыва плодных оболочек в сроке 22–33 недели беременности необходимо относить женщин в возрасте до 20 лет, страдающих хроническим пиелонефритом, эктопией шейки матки, имеющих два и более аборта, самопроизвольные выкидыши и воспалительные заболевания генитального тракта в анамнезе, с активной уреоплазменной и микоплазменной

инфекцией, перенесших угрозу невынашивания во время беременности.

3. Для прогнозирования исхода беременности у женщин с угрозой невынашивания в 22–33 недели следует определять относительное содержание CD62L+ нейтрофилов в периферической крови. При значении содержания CD62L позитивных нейтрофилов равном или более 65% прогнозируют развитие преждевременных родов.

#### Литература

1. Павлов А.В., Панова И.А., Крошкина Н.В. Взаимосвязь сывороточного содержания кальпротектина с особенностями функционального состояния нейтрофилов периферической крови у женщин с угрозой прерывания беременности поздних сроков. – Российский иммунологический журнал – 2010, – Т.4(13), №4. – С. 408.
2. Панова И.А., Павлов А.В. Особенности экспрессии CD62L молекул и внутриклеточной продукции провоспалительных цитокинов нейтрофилами периферической крови женщин с преждевременным разрывом плодных оболочек // «Вестник Уральской медицинской академической науки» – 2010. – №2/1(29). – С.184–185.
3. Павлов А.В., Сотникова Н.Ю., Крошкина Н.В., Панова И.А. Взаимосвязь уровня экспрессии мРНК TLR9 нейтрофилами периферической крови с исходом беременности у женщин с угрозой невынашивания поздних сроков // Медицинская иммунология. – Т.13, №4–5. – 2011. – С.435.

#### Список условных сокращений

- мРНК – матриксная рибонуклеиновая кислота  
 ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек  
 MMP – матриксная металлопротеиназа  
 IL – интерлейкин  
 TLR – толл-подобный рецептор  
 CD62L – L-селектин  
 CD – молекулы дифференцировки лимфоидных клеток  
 ОШ – скорректированное отношение шансов

Можаева Т.А.

## Значение моноцитарно/макрофагальных клеток в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава Российской Федерации

Проблема невынашивания беременности продолжает занимать одно из первых мест среди важнейших задач практического акушерства и гинекологии и имеет большое медицинское и социальное значение. В последнее время прослеживается выраженный интерес к изучению роли инфекционных и иммунологических факторов в патогенезе невынашивания беременности. Персистенция в организме матери условно-патогенной инфекции приводит к нарушениям в иммунной системе на местном и локальном уровнях, что характеризуется угнетением Т-клеточного звена иммунитета и повышенным синтезом провоспалительных цитокинов, что служит препятствием для создания в предимплантационный период локальной иммуносупрессии, необходимой для формирования защитного барьера и предотвращения репродуктивных потерь. Целью исследования явилось изучение экспрессии Toll-like рецептора 9 моноцитарно/макрофагальными клетками периферической крови и лейкоцитарного инфильтрата децидуальной ткани, а также продукции ими провоспалительных цитокинов выявить новые патогенетические механизмы угрозы невынашивания и самопроизвольного прерывания беременности в ранние сроки и разработать критерии прогнозирования дальнейших осложнений беременности. Установлено, что при угрозе невынашивания беременности преимущественно инфекционного генеза в первом триместре снижена экспрессия мРНК TLR9 моноцитами. При самопроизвольном выкидыше в первом триместре снижена экспрессия мРНК TLR9 макрофагами децидуальной ткани. При привычном невынашивании отмечается более низкий, чем при спорадическом, уровень экспрессии мРНК TLR9 моноцитами и макрофагами децидуальной ткани.

**Ключевые слова:** невынашивание беременности, IL, TLR, мРНК.

Mozhayeva T.A.

## Monocyte/interleukin-1-stimulating factor of macrophage cells in the pathogenesis of early sorts of miscarriage

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

Problem pregnancy loss continues to be one of the first places among the most important tasks of practical obstetrics and Gynecology and is of great medical and social importance. Recently, there is a pronounced interest in the study of the role of the infectious and immunologic factors in the pathogenesis of pregnancy loss. Persistence in the body of the mother of conditionally pathogenic infection leads to the immune system locally and the local levels, which is characterized by inhibition of t-cell immunity and increased the synthesis of proinflammatory cytokines, that constitute an obstacle to the creation of the predimplantation barrier between the local immunosuppression required to form a protective barrier and prevent reproductive losses. The aim of the study was to examine the expression of Toll-like receptor 9 monocyte/peripheral blood cells macrophages and leukocyte infiltration decidual tissue, as well as the production of proinflammatory cytokines reveal new pathogenetic mechanisms of the threat of miscarriage and spontaneous termination of pregnancy in the early stages and develop criteria for prediction of further complications of pregnancy. It is established that the risk of miscarriage is predominantly an infectious origin in the first trimester reduced mRNA expression of TLR9 endings. In spontaneous miscarriage in the first trimester reduced mRNA expression of TLR9 decidual tissue macrophages. When a habitual miscarriage lower than sporadic, mRNA expression level of TLR9 endings and decidual tissue macrophages.

**Key words:** miscarriage, IL, TLR, mRNA.

Проблема невынашивания беременности продолжает занимать одно из первых мест среди важнейших задач практического акушерства и гинекологии и имеет большое медицинское и социальное значение. Несмотря на постоянный поиск причин развития невынашивания беременности и совершенствование лечебно-профилактических мероприятий, частота встречаемости данной патологии достигает 55%.

Прерывание беременности и последующее выскабливание стенок полости матки являются причинами воспалительных заболеваний гениталий и спайочного процесса, что приводит к риску невынашивания последующих беремен-

ностей и бесплодию. По мере увеличения числа спонтанных выкидышей резко возрастает риск прерывания будущих беременностей. Установлено, что риск потери повторной беременности после двух предшествующих самопроизвольных прерываний составляет 36–38%, а вероятность третьего самопроизвольного выкидыша достигает 40–45%.

Самым сложным периодом беременности является первый триместр, на который приходятся основные критические этапы. Воздействие негативных факторов извне или нарушения на любом из уровней женского организма в этот период чаще всего приводят к прерыванию развития плодного яйца.

В последнее время прослеживается выраженный интерес к изучению роли инфекционных и иммунологических факторов в патогенезе невынашивания беременности. Установлено, что сочетанная урогенитальная инфекция, часто протекающая в субклинической форме – одна из важных причин как спорадической, так и привычной потери беременности. Персистенция в организме матери условно-патогенной инфекции приводит к нарушениям в иммунной системе на местном и локальном уровнях, что характеризуется угнетением Т-клеточного звена иммунитета и повышенным синтезом провоспалительных цитокинов, что служит препятствием для создания в предимплантационный пери-

од локальной иммуносупрессии, необходимой для формирования защитного барьера и предотвращения репродуктивных потерь.

В иммунологии репродукции все больше внимания уделяется роли врожденного иммунитета в механизмах поддержания беременности. Клетки врожденного иммунитета при нормальной беременности необходимы для обеспечения успешной имплантации и для разрешения инфекции в зоне контакта «мать – плод». Как известно, для успешной инвазии трофобласта и трансформации материнских спиральных артерий требуется, чтобы эндометрий беременной женщины (децидуальная оболочка) принимал полу-аллогенный трофобласт, сохраняя при этом защитные силы организма против инфекционных агентов. Полагают, что децидуальный слой является основным компонентом врожденного иммунного ответа при беременности. Однако характер экспрессии Toll-like рецепторов клетками децидуальной оболочки при физиологической и патологически протекающей беременности остается практически не изученным.

Цель исследования: на основании изучения экспрессии Toll-like рецептора 9 моноцитарно/макрофагальными клетками периферической крови и лейкоцитарного инфильтрата децидуальной ткани, а также продукции ими провоспалительных цитокинов выявить новые патогенетические механизмы угрозы невынашивания и самопроизвольного прерывания беременности в ранние сроки и разработать критерии прогнозирования дальнейших осложнений беременности.

#### Задачи исследования

1. Уточнить факторы риска различных исходов беременности при угрозе ее прерывания в ранние сроки.

2. Изучить экспрессию мРНК TLR9 моноцитами и децидуальными макрофагами при угрозе прерывания беременности, самопроизвольном спорадическом и привычном выкидыше ранних сроков на системном и локальном уровне.

3. Выявить особенности внутриклеточной продукции провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-12 клетками моноцитарно/макрофагального ряда на системном и локальном уровне, а также сывороточного содержания ИЛ-18 при угрозе невынашивания беременности и

самопроизвольном спорадическом и привычном выкидыше ранних сроков.

4. Разработать новые клинико-иммунологические критерии прогнозирования плацентарной недостаточности при угрозе невынашивания беременности в первом триместре.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе клиники ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава РФ, ОБУЗ «Городская клиническая больница №8» г. Иваново и женской консультации №3 г. Иваново. Исследования проводились в лабораториях ФГБУ «Ив НИИ М и Д им. В.Н. Городкова» Минздрава РФ: клинической иммунологии и патоморфологии и электронной микроскопии.

Было обследовано 127 беременных женщин в сроки 5–12 недель, в ходе исследования были сформированы следующие клинические группы: 80 беременных женщин с угрозой невынашивания ранних сроков (основная группа); 27 женщин без признаков угрозы невынашивания на момент осмотра, вставших на учет по беременности (контрольная группа 1); 20 женщин без признаков угрозы невынашивания на момент осмотра, поступивших на добровольное прерывание беременности путем медицинского аборта (контрольная группа 2). Критериями исключения явилось наличие у пациенток аномалий развития женской половой системы, выраженной эндокринной патологии и антифосфолипидного синдрома.

По исходам первого триместра беременные основной группы были разделены на подгруппы: 65 женщин, беременность которых пролонгировалась; 15 женщин, беременность которых закончилась самопроизвольным выкидышем до 12 недель. По количеству репродуктивных потерь в анамнезе женщины основной группы были разделены на подгруппы: 64 женщины без привычного невынашивания в анамнезе; 16 женщин с привычным невынашиванием в анамнезе.

Обследование женщин проводилось однократно. Материалом для исследования служили периферическая венозная кровь, которая забиралась в день поступления беременной женщины в стационар и децидуальная ткань при самопроизвольном выкидыше и медицинском аборте. Для оценки течения и исхода данной беременности проводился

ретроспективный анализ истории беременности и родов обследуемых женщин

*Клинические методы исследования* включали сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, лабораторные исследования (общий анализ крови и мочи, мазки на флору, степень чистоты), ультразвуковое исследование.

#### *Иммунологические методы исследования*

Внутриклеточную экспрессию цитокинов (IL-1 $\beta$  и IL-12) моноцитами/макрофагами определяли с помощью моноклональных антител (mAT), меченных FITC (CALTAG Laboratories, USA) методом проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, USA). При оценке внутриклеточной экспрессии цитокинов моноцитами / макрофагами предварительно проводили процедуру фиксации и пермеабелизации клеточной мембраны с использованием коммерческого набора Fixative Solution IO Test<sup>®</sup>3 10 x Concentrate (Beckman Coulter, USA). Анализ результатов проводили в программе «CELL Quest Pro» (Becton Dickinson, USA).

Для количественного определения экспрессии мРНК TLR9 моноцитами периферической крови и макрофагами децидуальной ткани использовали количественный метод полимеразной цепной реакции в масштабе реального времени на амплификаторе с оптической насадкой iCycler IQ BIO-RAD Laboratories, California, USA. Предварительно проводили выделение чистой популяции моноцитов / макрофагов из фракции МНК периферической крови / децидуальной ткани методом магнитной сепарации с использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-CD14 антителами (DynaBeads<sup>®</sup> CD14, Invitrogen By Life Technologies AS, Oslo, Norway) в соответствии с инструкцией фирмы-разработчика. Для определения экспрессии мРНК TLR9 и 2-микροглобулина, который использовали в качестве «гена домашнего хозяйства», проводили количественную ПЦР в реальном времени с использованием коммерческих наборов из ферментов, праймеров и зондов производства ООО «Синтол» (Москва, Россия).

Методом иммуноферментного анализа на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Финляндия) в сыворотке крови определяли концентрацию IL-18 с использованием коммерческой тест-системы (R&D, USA) и содержание IgM, IgA,



IgG антител к вирусу простого герпеса 1–2 типа (ВПГ), цитомегаловирусу (ЦМВ), Chlamydia Trachomatis, Ureaplasma Urealyticum и Mycoplasma Hominis с использованием коммерческих систем ЗАО «Вектор-Бест».

*Морфологическим методом исследования* (обзорная гистология) фрагментов слизистой оболочки матки и ворсинчатого хориона, полученных при выскабливании полости матки, оценивали особенности гравидарной перестройки сосудистого, стромального и железистого компонентов эндометрия, анализировали структуру инвазивного цитотрофобласта и элементов формирующегося ворсинчатого дерева.

Статистический анализ данных осуществлялся по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения (t-критерий Стьюдента или непараметрический U-критерий Манна-Уитни).

#### Результаты исследования и их обсуждение

Средний возраст женщин контрольной группы составил  $26,37 \pm 1,05$  года, основной группы –  $27,9 \pm 0,66$  года. Средний возраст беременных, у которых произошел самопроизвольный выкидыш, составил  $30,67 \pm 1,63$  года, а средний возраст женщин с привычным невынашиванием –  $31 \pm 1,12$  год, что достоверно выше ( $p < 0,05$  и  $p < 0,01$  соответственно), чем в группе контроля. При анализе менструальной функции выявлено, что достоверно чаще у беременных основной группы, чем у женщин группы контроля, имели место гиперполименорея (31,25%) и альгоменорея (51,25%). Болезненные и обильные менструации отмечаются у женщин с миомой матки, воспалительными заболеваниями гениталий, эндометриозом, что характерно для основной группы женщин и подтверждается данными нашего исследования. Самопроизвольные выкидыши ранних и поздних сроков имели место в анамнезе женщин основной группы достоверно чаще, чем у женщин контрольной группы (45% против 7,4%; ОР 1,486; 95% ДИ 1,225–1,802,  $p < 0,001$  и 13,75%,  $p < 0,05$  соответственно), причем в основном за счет беременных с привычным невынашиванием (100% против 7,4%; ОР 22,94; 95% ДИ 3,331–158;  $p < 0,001$  и 37,5% против 0%; ОР 3,7; 95% ДИ 2,179–6,282;  $p < 0,01$  соответственно). Наши данные согласуются с данными

литературы, что для женщин с угрозой прерывания в первом триместре характерен высокий процент самопроизвольных выкидышей в анамнезе (Скрябина В.В., 2013). Оперативные роды в анамнезе были только у женщин основной группы (15% против 0%; ОР 1,497; 95% ДИ 1,231–1,586;  $p < 0,05$ ), причем в основном это женщины с привычным невынашиванием (18,75% против 0%; ОР 3,077; 95% ДИ 1,969–4,809;  $p < 0,05$ ) и женщины с самопроизвольным выкидышем при данной беременности (26,7%,  $p < 0,01$ ). Вторичное трубно-перитонеальное бесплодие достоверно чаще встречалось в анамнезе женщин с привычным невынашиванием (18,75% против 0%; ОР 3,077; 95% ДИ 1,969 – 4,809;  $p < 0,05$ ), по поводу чего проводились лечебно-диагностические операции на придатках матки.

При анализе гинекологической патологии выявлена высокая частота встречаемости воспалительных заболеваний гениталий у беременных основной группы (37,5% против 11,1; ОР 1,345; 95% ДИ 1,111 – 1,629,  $p < 0,02$ ). При этом хронический эндометрит и/или аднексит у беременных с угрозой невынашивания в первом триместре является значимым фактором риска для развития привычного невынашивания (37,5% против 11,1; ОР 2,267; 95% ДИ 1,13 – 4,547;  $p < 0,05$ ). Высокая частота воспалительных заболеваний гениталий может быть следствием как первичного инфицирования половым путем, так и результатом неоднократных инструментальных вмешательств при индуцированных и самопроизвольных выкидышах, оперативного родоразрешения и лечебных мероприятий по поводу бесплодия. Межмышечно-подбрюшинная миома матки была выявлена только у женщин основной группы (11,25%). Причем межмышечно-подбрюшинная миома матки у беременных с самопроизвольным выкидышем диагностировалась в 26,7% случаев, что достоверно чаще, как по сравнению с женщинами группы контроля ( $p < 0,01$ ), так и по сравнению с женщинами из основной группы, беременность которых пролонгировалась (7,7%; ОР 2,869; 95% ДИ 1,154–7,129;  $p < 0,05$ ). Кроме того, межмышечно-подбрюшинная миома была выявлена достоверно чаще у женщин с привычным невынашиванием (18,75% против 0%; ОР 3,077; 95% ДИ 1,969–4,809;  $p < 0,05$ ). Выявленные осо-

бенности подтверждаются данными литературы о том, что угроза невынашивания беременности в результате деформации полости матки и недостаточности развития децидуальной ткани, возникает у 15 – 30% беременных с миомой.

Из экстрагенитальных заболеваний у беременных основной группы достоверно чаще встречались инфекционно-воспалительные, такие как, частые острые респираторные заболевания (86,25% против 33,3%; ОР 2,332; 95% ДИ 1,454–3,74;  $p < 0,001$ ), частые детские инфекции (61,25% против 22,2%; ОР 1,594; 95% ДИ 1,173–1,904;  $p < 0,001$ ), воспалительные заболевания мочевыделительной системы (30% против 3,7%; ОР 1,406; 95% ДИ 1,189–1,663;  $p < 0,01$ ). Причем, хронический цистит и/или пиелонефрит достоверно чаще встречаются у женщин с самопроизвольным выкидышем при данной беременности (53,3% против 24,6%; ОР 2,667; 95% ДИ 1,09–6,523;  $p < 0,05$ ). Часто рецидивирующий назо-лабиальный герпес является статистически значимым заболеванием только для женщин с привычным невынашиванием (25% против 3,7%; ОР 2,533; 95% ДИ 1,334–4,81;  $p < 0,05$ ).

У женщин основной группы данная беременность достоверно чаще закончилась самопроизвольным выкидышем раннего срока, причем, за счет женщин с привычным невынашиванием (25%,  $p < 0,01$ ). У большинства женщин основной группы угроза невынашивания сохранялась в течение беременности. Достоверно чаще встречалась беременность, осложненная угрозой преждевременных родов (53,2%,  $p < 0,02$ ) и плацентарной недостаточностью (59,7%,  $p < 0,05$ ), также за счет женщин с привычным невынашиванием (81,8 и 90,9%,  $p < 0,01$  соответственно). При анализе течения родов достоверные отличия были выявлены только у женщин с привычным невынашиванием, для них была характерна более высокая частота преждевременных родов (27,3%,  $p < 0,05$ ) и операций кесарево сечение (63,6%,  $p < 0,05$ ), по причине акушерских осложнений в анамнезе и при данной беременности.

С целью уточнения роли инфекционного фактора в патогенезе невынашивания беременности ранних сроков всем женщинам было проведено определение в сыворотке крови маркеров урогенитального инфицирования. Достоверные отличия выявлены только у женщин с привычным невынашиванием,

в сыворотке крови которых чаще выявляются маркеры острого урогенитального инфицирования как по сравнению с женщинами группы контроля (68,75% против 22,2%; ОР 3,365; 95% ДИ 1,42 – 7,97;  $p < 0,01$ ), так и по сравнению с беременными без привычного невынашивания в анамнезе (68,75% против 35,5%,  $p < 0,02$ ).

Известно, что персистирующая инфекция в эндометрии вызывает морфофункциональные нарушения с развитием хронического эндометрита, что подтверждается результатами проведенного нами патоморфологического исследования abortивного материала женщин с самопроизвольным прерыванием данной беременности. Нами выявлено, что одной из причин самопроизвольного прерывания беременности ранних сроков у обследуемых женщин явилась первичная плацентарная недостаточность и эндометриальная недостаточность смешанной инфекционно-эндокринной этиологии. Причем, эндокринный фактор является, вероятнее всего, вторичным, так как нами были исключены выраженные формы эндокринной патологии у этих женщин.

Установлено, что у женщин с угрозой невынашивания достоверно чаще беременность осложнялась плацентарной недостаточностью. Для выявления факторов риска и разработки критериев раннего прогнозирования данной патологии были обследованы следующие подгруппы женщин: 37 беременных с развившейся плацентарной недостаточностью во втором и третьем триместрах и 25 беременных без плацентарной недостаточности.

Среди женщин с плацентарной недостаточностью достоверно чаще встречались женщины с привычным невынашиванием (27,03% против 0%; ОР 2; 95% ДИ 1,532–2,611,  $p < 0,01$ ). Их репродуктивный анамнез был осложнен трубно-перитонеальным бесплодием (13,51% против 0%; ОР 1,844; 95% ДИ 1,459–2,331;  $p < 0,05$ ) по поводу, которого проводились оперативные вмешательства на придатках матки. Воспалительные заболевания гениталий в анамнезе были выявлены у 40,54% беременных с плацентарной недостаточностью ( $p < 0,02$ ). Установлено, что хронические воспалительные заболевания гениталий нарушают процессы инвазии трофобласта и приводят к развитию плацентарной недостаточности. Из соматической

патологии у данных женщин чаще имели место хронические воспалительные заболевания дыхательной и мочевыделительной систем (29,7% против 7,4%; ОР 1,66; 95% ДИ 1,164–2,367,  $p < 0,05$  и 27% против 3,7%; ОР 1,785; 95% ДИ 1,291–2,466,  $p < 0,02$  соответственно) и часто рецидивирующий назо-лабиальный герпес (21,62% против 3,7%; ОР 1,686; 95% ДИ 1,199–2,37;  $p < 0,05$ ). При изучении инфекционного фона нами установлено, что у женщин с плацентарной недостаточностью достоверно чаще выявляются маркеры острого урогенитального инфицирования в крови (54% против 22,2%; ОР 1,719; 95% ДИ 1,14 – 2,594;  $p < 0,02$ ), чем у беременных контрольной группы.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод, что персистирующая в организме матери урогенитальная инфекция, является одной из причин привычного невынашивания, самопроизвольного прерывания беременности в ранние сроки, а при пролонгировании беременности – причиной развития плацентарной недостаточности.

Персистенция в организме матери условно-патогенной инфекции приводит к серьезным нарушениям в иммунной системе на местном и локальном уровнях, что характеризуется сдвигом соотношения в сторону преобладания Т-хелперов 1 класса и повышенному синтезу провоспалительных цитокинов. Данные изменения служат препятствием для создания локальной иммуносупрессии, необходимой для предотвращения репродуктивных потерь. Произойдет ли пенетрация микробных агентов в эпителий слизистой оболочки матки с развитием воспалительного процесса, во многом зависит от состояния иммунной системы и, в частности, врожденного звена иммунитета. Рецепторы системы врожденного звена иммунитета (TLRs) экспрессируются в разных отделах репродуктивного тракта. Внутриматочные эпителиальные клетки представлены в частности TLR9, который распознает метелированные повторы CpG ДНК бактерий и вирусов и запускает адекватный иммунный ответ, необходимый для элиминации урогенитальных патогенов. Это особенно важно, так как именно в эндометрии происходит имплантация и развитие эмбриона.

Установлено, что на системном уровне у женщин при угрозе невынашивания в первом триместре повышается

продукция IL-1 $\beta$  и IL-12 моноцитами ( $p = 0,000$ ) и сывороточное содержание IL-18 ( $p = 0,014$ ). Причем, наиболее выраженный противовоспалительный ответ наблюдается у женщин с привычным невынашиванием, проявляющийся более высоким, чем у женщин без привычного невынашивания в анамнезе, содержанием IL-18 в сыворотке крови ( $p = 0,011$ ). А также, у женщин с самопроизвольным выкидышем, по сравнению с женщинами с пролонгированной беременностью, что характеризуется более высоким содержанием IL-1 $\beta$  + моноцитов ( $p = 0,019$ ) и сывороточным IL-18 ( $p = 0,037$ ).

Таким образом, под действием урогенитальной инфекции происходит избыточный синтез провоспалительных цитокинов, что может приводить к нарушению развития хориона и отторжению плодного яйца. Кроме того, избыточная продукция провоспалительных цитокинов может приводить к активации процессов коагуляции, что также будет способствовать нарушению процессов имплантации.

При оценке экспрессии мРНК TLR9 моноцитами установлено, что у беременных с угрозой невынашивания в первом триместре показатель экспрессии мРНК TLR9 был достоверно ниже, чем в группе контроля ( $p = 0,000$ ). Более низкий уровень моноцитов, экспрессирующих мРНК TLR9, был характерен для женщин с привычным невынашиванием, по сравнению с идентичным показателем женщин без привычного невынашивания в анамнезе ( $p = 0,039$ ). Низкий уровень экспрессии мРНК TLR9 моноцитами женщин с угрозой невынашивания, по-видимому, приводит к снижению интенсивности сигнала от соответствующих патогенов, что влечет к нарушению их элиминации из организма с развитием острого и в последующем хронического воспаления эндометрия, а соответственно, к нарушению процессов имплантации во время беременности.

Как известно, в возникновении осложнений беременности главную роль играют нарушения на уровне плацентарного барьера, причем основные иммунологические реакции происходят в децидуальной оболочке. Установлена более высокая продукция IL-1 $\beta$  и IL-12 децидуальными макрофагами в подгруппе женщин с произошедшим самопроизвольным выкидышем ( $p = 0,016$  и

$p=0,011$ ). Причем, внутриклеточная продукция IL-1 $\beta$  децидуальными макрофагами была достоверно выше у беременных с привычным невынашиванием, по сравнению с женщинами со спорадическим невынашиванием ( $p=0,019$ ). Установлено, что уровень экспрессии мРНК TLR9 децидуальными макрофагами у женщин с самопроизвольным выкидышем был ниже, по сравнению с таковым у женщин группы контроля ( $p=0,014$ ). Более низкий показатель экспрессии мРНК TLR9 макрофагами децидуальной ткани был в подгруппе беременных с привычным невынашиванием по сравнению с подгруппой со спорадическим невынашиванием ( $p=0,03$ ). Выявленные особенности, вероятно, влекут за собой неспособность иммунной системы полностью элиминировать инфекционный агент, в результате возникает персистенция микроорганизма, которая характеризуется повышенной продукцией провоспалительных цитокинов. Установлено, что повышение синтеза сигнальных рецепторов TLR связано с влиянием на них прогестерона. Также известно, что у многих женщин с привычным невынашиванием беременности недостаточное действие прогестерона может быть вызвано нарушением рецепторного аппарата клеток эндометрия, ассоциированного с хроническим эндометритом и частыми выскабливаниями полости матки.

С целью раннего прогнозирования плацентарной недостаточности у женщин с угрозой невынашивания беременности в первом триместре нами был оценен уровень провоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Установлено, что для беременных с развившейся впоследствии плацентарной недостаточностью характерны повышение внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  моноцитами ( $p=0,047$ ) и повышение сывороточного содержания IL-18 ( $p=0,000$ ). Следует отметить, что сывороточное содержание IL-18 у этих женщин достоверно повышалось с увеличением степени нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока. В связи с этим, высокий уровень сывороточного содержания IL-18 у беременных был нами расценен как один из ключевых факторов, влияющий на развитие плацентарной недостаточности. Установлено, что цитокин IL-18 помимо провоспалительного действия оказывает ингибирующее действие на ангиогенез и самосто-

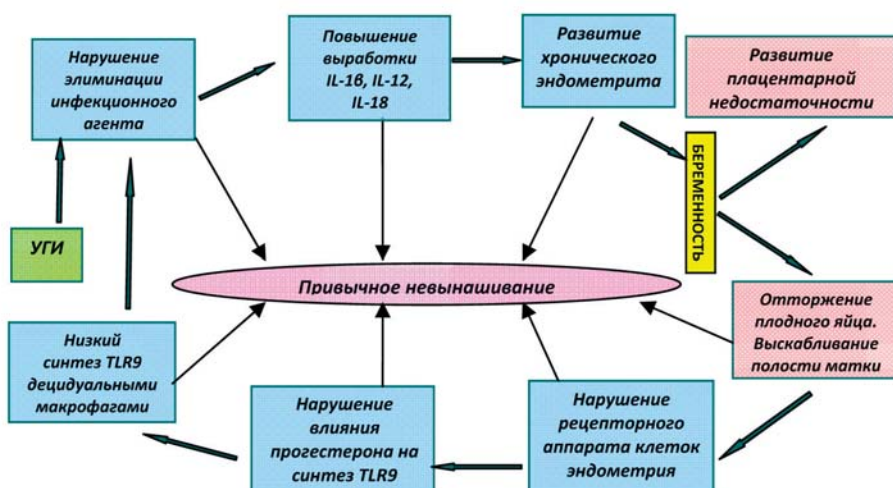


Рисунок 1. Схема патогенеза угрожающего невынашивания беременности преимущественно инфекционного генеза в первом триместре.

ятельно или опосредованно через IFN $\gamma$  стимулирует инициализацию процессов апоптоза. А, как известно, важным патогенетическим механизмом развития плацентарной недостаточности является слабая инвазия цитотрофобласта в плацентарное ложе матки и связанная с этим облитерационная патология спиральных артерий.

На основании полученных данных нами был разработан «Способ прогнозирования развития плацентарной недостаточности во второй половине беременности у женщин с угрозой невынашивания ранних сроков инфекционного генеза». У женщин первого триместра беременности с угрозой невынашивания инфекционного генеза при значении сывороточного содержания IL-18 более 100 пг/мл прогнозируется развитие плацентарной недостаточности во второй половине беременности с точностью 88,2%, чувствительностью 96% и специфичностью 80,8% (заявка на изобретение от 24.06.2014 регистрационный номер 2014125410).

Таким образом, можно сделать вывод, что развитие осложнений беременности, вероятно, ассоциировано с низкой экспрессией мРНК TLR9 макрофагами децидуальной ткани, что приводит к снижению противoinфекционной защиты с избыточной выработкой провоспалительных цитокинов и хронизацией воспалительного процесса. Если на этом фоне наступает беременность, то ее развитие может идти в двух направлениях: при пролонгировании – может развиваться плацентарная недостаточность, а при более глубоких нарушениях – гибель плодного яйца, приводящая к самопроизвольному выкидышу. По-

следующее выскабливание полости матки нарушает рецепторный аппарат эндометрия, тем самым снижается влияние прогестерона на экспрессию мРНК TLR9, что приводит к его низкому синтезу децидуальными макрофагами. Возникает «порочный круг», который влечет за собой осложнения процессов гестации с высокой частотой самопроизвольных прерываний и привычному невынашиванию (рисунок 1).

### Выводы

1. Общими медико-биологическими факторами риска угрозы прерывания беременности в первом триместре у женщин со спорадическим и привычным невынашиванием являются: самопроизвольные выкидыши ранних сроков (ОР=1,4; ОР=22,94), операции кесарево сечение (ОР=1,5; ОР=3,1), воспалительные заболевания матки и придатков (ОР=1,4; ОР=2,3), частые простудные заболевания (ОР=2,4; ОР=11,9), перенесенные детские инфекции (ОР=1,6; ОР=3,4), хронические воспалительные заболевания мочевыделительной системы (ОР=1,5; ОР=3,1). Дополнительными факторами риска угрозы прерывания беременности в первом триместре у женщин с привычным невынашиванием являются: самопроизвольные выкидыши поздних сроков (ОР=3,7), вторичное трубно-перитонеальное бесплодие (ОР=3,1), гинекологические операции (ОР=3,1), часто рецидивирующий нозолабиальный герпес (ОР=2,5), наличие межмышечно-подбрюшинной миомы матки (ОР=3,1) и маркеров острого урогенитального инфицирования (ОР=3,4). Факторами риска самопроизвольного выкидыша в первом триместре



у женщин с угрозой невынашивания беременности являются: межмышечно-подбрюшинная миома матки (ОР=2,9) и хронические воспалительные заболевания мочевыделительной системы (ОР=2,7).

2. При угрозе невынашивания беременности преимущественно инфекционного генеза в первом триместре снижена экспрессия мРНК TLR9 моноцитами. При самопроизвольном выкидыше в первом триместре снижена экспрессия мРНК TLR9 макрофагами децидуальной ткани. При привычном невынашивании отмечается более низкий, чем при спорадическом, уровень экспрессии мРНК TLR9 моноцитами и макрофагами децидуальной ткани.

3. Для женщин с угрозой невынашивания преимущественно инфекционного генеза в первом триместре беременности характерно повышение продукции IL-1 $\beta$  и IL-12 моноцитами, при завершении беременности самопроизвольным выкидышем в первом триместре – более высокая, чем при пролонгировании беременности, продукция IL-1 $\beta$  моноцитами. Для женщин с угрозой невынашивания беременности преимущественно инфекционного генеза в первом триместре характерно повышение сывороточного содержания IL-18, для самопроизвольного выкидыша и привычного невынашивания, по сравнению со спорадическим, характерен более высокий сывороточный уровень IL-18.

4. При самопроизвольном выкидыше преимущественно инфекционного генеза в первом триместре усилена продукция IL-1 $\beta$  и IL-12 децидуальными макрофагами, при привычном невынашивании отмечается более высокая, чем при спорадическом, продукция IL-1 $\beta$  макрофагами децидуальной ткани.

5. Медико-биологическими факторами риска плацентарной недостаточности при угрозе невынашивания беременности в первом триместре являются: привычное невынашивание (ОР=2), вто-

ричное трубно-перитонеальное бесплодие (ОР=1,8), гинекологические операции (ОР=1,9), хронические воспалительные заболевания дыхательной (ОР=1,7) и мочевыделительной (ОР=1,8) систем, часто рецидивирующий назо-лабиальный герпес (ОР=1,7) и наличие маркеров острого урогенитального инфицирования (ОР=1,7). Для этой группы женщин характерны повышенный уровень IL-1 $\beta$  моноцитов и сывороточного содержания IL-18, которое возрастает с увеличением степени нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока.

6. Высокое сывороточное содержание IL-18 (более 100 пг/мл) позволяет прогнозировать развитие плацентарной недостаточности во второй половине беременности у женщин с угрозой невынашивания в первом триместре с точностью 88,2%, чувствительностью 96% и специфичностью 80,8%.

#### Практические рекомендации

1. В группу риска развития самопроизвольного выкидыша при угрозе невынашивания беременности ранних сроков рекомендуется отнести женщин с наличием межмышечно-подбрюшинной миомы матки (ОР=2,9) и хронических воспалительных заболеваний мочевыделительной системы (ОР=2,7).

2. В группу риска развития плацентарной недостаточности при угрозе невынашивания беременности ранних сроков рекомендуется отнести женщин с наличием привычного невынашивания (ОР=2), вторичного трубно-перитонеального бесплодия (ОР=1,8), гинекологических операций (ОР=1,9), хронических воспалительных заболеваний дыхательной (ОР=1,7) и мочевыделительной (ОР=1,8) систем в анамнезе, часто рецидивирующего назо-лабиального герпеса (ОР=1,7) и маркеров острого урогенитального инфицирования (ОР=1,7).

3. Для прогнозирования развития плацентарной недостаточности во вто-

ром и третьем триместрах беременности у женщин с угрозой невынашивания в первом триместре рекомендуется определять сывороточное содержание IL-18, и при значениях которого 100 пг/мл и более, прогнозировать развитие плацентарной недостаточности во второй половине беременности с точностью 88,2%, чувствительностью 96% и специфичностью 80,8%.

#### Литература

1. Крошкина, Н.В. Особенности функционального состояния клеток макрофагального ряда у женщин с невынашиванием беременности ранних сроков / Н.В. Крошкина, А.И. Малышкина, Т.А. Можаяева // Вестник уральской медицинской академической науки. Тематический выпуск по аллергологии и иммунологии. – 2010. – № 2/1 (29). – С.154–155.
2. Малышкина, А.И. Особенности реакций врожденного иммунитета у женщин с угрозой прерывания беременности на ранних сроках / А.И. Малышкина, Т.А. Можаяева, Д.Н. Воронин // Российский иммунологический журнал. – 2010. – Т4 (13), № 4. – С.407–408.
3. Крошкина, Н.В. Характеристика синтеза tlr-9 фагоцитарными клетками при невынашивании беременности / Н.В. Крошкина, А.И. Малышкина, Т.А. Можаяева // Вестник Уральской медицинской академической науки – 2012. – № 4 (41). – С.127–128.
4. Можаяева, Т.А. Влияние инфекционного фактора на продукцию моноцитами IL-1 $\beta$  у женщин с угрозой прерывания беременности в I триместре // Сб. науч. тр. «Репродуктивное здоровье нового поколения»/ под ред. Малышкиной А.И. – Иваново: ОАО «Издательство «Иваново», 2010. – С.369.

#### Список условных сокращений

- TLR – толл-подобный рецептор  
 мРНК – матриксная рибонуклеиновая кислота  
 IL – интерлейкин

#### Сведения об авторах:

Можаяева Т.А., кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

#### About the authors:

Mozhayeva T.A., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.



Барановская Ю.П.

## Клинико-иммунологические факторы формирования плацентарной недостаточности

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава Российской Федерации

Плацентарная недостаточность - синдром, имеющий мультифакториальную этиологию, который обусловлен морфофункциональными изменениями и адаптационно-гомеостатическими реакциями плаценты и плода, приводящими к нарушению темпов роста и развития плода. К основным звеньям патогенеза ПН относятся нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровообращения, метаболизма, синтетической функции и состояния клеточных мембран плаценты. Важную роль в формировании плацентарной недостаточности играет нарушение иммунного ответа матери на различные патологические воздействия. Цель исследования - установить новые патогенетические звенья формирования плацентарной недостаточности на основании уточнения медико-биологических факторов риска, выявления функционального состояния клеток макрофагального ряда и продукции ростовых факторов на системном и локальном уровнях. Установлено, что в группу риска на развитие плацентарной недостаточности следует относить курящих женщин, страдающих эндометритом, имеющих в анамнезе медицинский аборт, с острым бактериальным инфицированием во время беременности, угрозой прерывания беременности в первом триместре и перенесших ОРВИ во время беременности. Дополнительно к стандарту обследования беременных с ПН рекомендуется оценивать экспрессию TLR2 моноцитами.

**Ключевые слова:** плацентарная недостаточность, PAMP, TLR2, VEGF, PlGF.

Baranovskaja Y.P.

## Clinico-immunological factors of formation of placental insufficiency

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

Placental insufficiency syndrome with multifactorial etiology which is caused by morphological and functional changes and adaptive-homeostatic reactions of the placenta and the fetus, leading to disruption of fetal growth and development. The main stages of pathogenesis MON include violations of utero-placental and fruit-placental blood circulation, metabolism, and function of the synthetic cell membrane of the placenta. An important role in the formation of the placental insufficiency is a violation of the immune response to various pathological effects. The purpose of the study is to establish new pathogenetic links forming placental insufficiency based refining biomedical risk factors, identifying the functional state of cells of macrophagal row and growth factors on the production system and local levels. Found that the risk for development of placental insufficiency should be considered women smoking, suffering from endometritom, have a history of medical abortion, with acute bacterial infection during pregnancy, the risk for first trimester termination of pregnancy and suffered from CANCER during pregnancy. In addition to the standard survey pregnant with MON, we recommend that you calculate the expression of TLR2 endings.

**Key words:** placental insufficiency, RAMR, TLR2, VEGF and PlGF.

Плацентарная недостаточность (ПН) одно из наиболее распространенных осложнений беременности и в настоящее время является одной из основных и актуальных проблем практического акушерства. Плацентарная недостаточность – синдром, имеющий мультифакториальную этиологию, который обусловлен морфофункциональными изменениями и адаптационно-гомеостатическими реакциями плаценты и плода, приводящими к нарушению темпов роста и развития плода. Частота ПН колеблется в пределах 24–46%, в структуре причин перинатальных потерь составляет 60–70%.

Патогенетические основы ПН остаются до конца не установленными. К основным звеньям патогенеза ПН относятся нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровообращения, метаболизма, синтетичес-

кой функции и состояния клеточных мембран плаценты. Имеющиеся научные данные свидетельствуют о значимости инфекции и вызванных ею нарушений в развитии плацентарной недостаточности, а также осложнений со стороны матери, плода и новорожденного. Важную роль в формировании плацентарной недостаточности играет нарушение иммунного ответа матери на различные патологические воздействия.

В большинстве случаев нарушение иммунного ответа матери на различные патологические воздействия при ПН сопровождается угнетением продукции факторов роста и нарушением баланса в соотношении про- и анти-апоптотических факторов. Важную роль в защите организма от различных патогенов играют механизмы врожденного иммунитета, инициирующиеся при взаимодействии Toll-like рецепторов (TLR) с патоген-ассоциированными молекулярными

образцами (PAMP) микроорганизмов. Взаимодействие PAMP с TLR на поверхности клеток синцитиотрофобласта стимулирует апоптоз клеток плаценты, и может изменять уровень продукции факторов роста. Установлена роль взаимодействия Toll-подобных рецепторов макрофагов с PAMP в развитии осложнений беременности, однако при плацентарной недостаточности этот вопрос практически не освещен. Остается практически неизученной апоптоз индуцирующая способность клеток макрофагального ряда.

Цель исследования: установить новые патогенетические звенья формирования плацентарной недостаточности на основании уточнения медико-биологических факторов риска, выявления функционального состояния клеток макрофагального ряда и продукции ростовых факторов на системном и локальном уровнях.

**Материал и методы исследования**

Основную группу составили 98 беременных женщины в сроке 28–36 недель с плацентарной недостаточностью, которые в зависимости от степени нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотока по данным доплерометрии (классификация Стрижакова А.Н. и соавт., 1989г) были разделены на три подгруппы: в 1 подгруппу вошли 42 женщины с I степенью нарушения гемодинамики, во 2 подгруппу – 32 беременные со II степенью нарушения гемодинамики, в 3 подгруппу – 24 женщины с III степенью нарушения гемодинамики.

При ретроспективном анализе, в зависимости от данных патоморфологического исследования плацент, исследуемые женщины основной группы разделены три на подгруппы: с компенсированной (n=13), субкомпенсированной (n=53) и декомпенсированной плацентарной недостаточностью (n=32).

Контрольную группу составили 35 женщин с неосложненным течением беременности. Группа характеризовалась отсутствием признаков плацентарной недостаточности.

Критериями исключения явились беременные с тяжелой экстрагенитальной патологией, преэклампсией, многоплодной беременностью.

Материалом для исследования служили периферическая кровь из локтевой вены, децидуальная ткань и ткань ворсинчатого хориона зрелой плаценты.

Проводилось общеклиническое обследование, в том числе общепринятое лабораторное, иммунологическое и биохимическое обследование, а также ультразвуковое и доплерометрическое обследование беременных.

Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивалась по непараметрическому критерию U (Манна-Уитни) и по t-критерию ( $M \pm m$ ). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0.», «Microsoft Office 2007», «GenStat», «MedCalc» и «Open Epi».

**Результаты исследования и их обсуждение**

Возраст обследованных беременных женщин колебался от 15 до 40 лет. Сравнимые группы практически не отличались по среднему возрасту, который составил  $28,4 \pm 1,06$  лет в контрольной груп-

пе и  $27,3 \pm 0,56$  лет в основной ( $p > 0,05$ ). Женщины основной группы чаще по сравнению с контролем были рабочими (31,6% против 11,4%; относительный риск 2,77; 95% ДИ 1,05–7,28,  $p < 0,05$ ), реже служащими (38,8% в основной группе против 65,7%,  $p < 0,01$ ). Среди вредных привычек у женщин основной группы чаще по сравнению с контрольной выявлялось табакокурение (29,6% против 29,9%; относительный риск 10,36; 95% ДИ 1,47–73,2,  $p < 0,01$ ). Полученные результаты совпадают с данными других авторов, свидетельствующими о том, что курящие женщины составляют группу повышенного риска на развитие ПН [Кулаков В.И. и соавт., 2004; Пересада О.А., 2004; Жданова Я.В. и соавт., 2009].

Среди гинекологических заболеваний у женщин основной группы чаще, по сравнению с контролем, встречался эндометрит (25,5% против 2,9%; относительный риск 8,93; 95% ДИ 1,26–65,45,  $p < 0,01$ ), аднексит (24,5% против 8,6%,  $p < 0,05$ ). Анализ данных о предыдущих беременностях показал, что у женщин основной группы достоверно чаще чем в контрольной отмечены искусственные аборты (37,8% против 14,3%, относительный риск 2,64; 95% ДИ 1,13–6,19,  $p < 0,05$ ), самопроизвольные выкидыши (24,5% против 8,6%,  $p < 0,05$ ). Полученные нами данные согласуются с литературными данными о том, что группу повышенного риска по ПН при беременности составляют пациентки с наличием в анамнезе воспалительных заболеваний гениталий, медицинских абортов, при которых на фоне хронического воспалительного процесса происходят изменения в системе иммунитета, что может приводить к нарушению процесса плацентации, инвазии и развития хориона и к развитию ПН.

При анализе течения беременности установлено, что у женщин с ПН достоверно чаще, чем в контроле беременность осложнилась угрозой прерывания в первом триместре (55,1% против 28,6%, относительный риск 1,93, 95% ДИ 1,11–3,35,  $p < 0,01$ ), анемией (44,9% случаев против 25,7% в контроле,  $p < 0,05$ ). Признаки угрозы прерывания, особенно в ранние сроки беременности, являются отражением иммунологического неблагополучия в организме беременной. Именно угроза прерывания может приводить к дефектам плацентации с нарушением инвазии трофобласта в стенку спиральных артерий, что в по-

следующем способствует развитию фетоплацентарной недостаточности, что подтверждено исследованиями.

Обращает на себя внимание высокая частота острых респираторных заболеваний во время беременности у женщин основной группы (60,2% против – 34,3% группы контроля, относительный риск 1,76, 95% ДИ 1,1–2,86,  $p < 0,01$ ), что согласуется с литературными данными о роли инфекции в формировании ПН.

Проведен сравнительный анализ характера ПН у беременных в зависимости от степени нарушения гемодинамики. Развитие ПН с нарушением гемодинамики II и III степени характеризовалось ранним началом (26–27 недель беременности), развитием ЗРП на 3–4 и более недель ( $p < 0,05$  в обоих случаях).

Анализ исходов беременности у обследованных женщин показал, что в основной клинической группе в 51% случаев беременность завершилась преждевременными родами ( $p < 0,001$ ), что согласуется с данными литературы о том, что ПН является фактором риска преждевременных родов [Кулаков В.И. и соавт., 2004; Макаров О.В. и соавт., 2009]. По нашим данным при ПН риск преждевременных родов в сроки 28–32 недели повышен в 7,9 раза по сравнению с группой контроля (21,4% против 0,0% группы контроля, относительный риск 7,93, 95% ДИ 1,11–56,85,  $p < 0,02$ ). Частота преждевременных родов в сроки 33–35 и 36–37 недель была также выше в основной группе ( $p < 0,02$  в обоих случаях). Путем операции кесарево сечение закончились 58,2% родов. Основным показанием к оперативному родоразрешению в основной группе была декомпенсация плацентарной недостаточности (26,5% против 0,0% группы контроля, относительный риск 9,82, 95% ДИ 1,38–69,76,  $p < 0,001$ ).

Средняя масса новорожденных в группе контроля составила  $3429,72 \pm 67,72$  грамма, в группе с ПН  $2181,89 \pm 75,72$  грамма ( $p < 0,001$ ). Рождение маловесных детей при плацентарной недостаточности различной степени согласуется с данными литературы [Ремнева О.В. и соавт., 2008]. В состоянии асфиксии родились 76,5% детей основной группы ( $p < 0,001$ ), при этом чаще рождались дети в асфиксии средней (32,6% против 5,7% у женщин контроля, относительный риск 5,7, 95% ДИ 1,442–22,62,  $p < 0,01$ ) и тяжелой степени (13,68% против 0% в контроле,  $p < 0,05$ ).

В структуре перинатальной патологии в основной группе чаще диагностированы ЗРП всех степеней (81,1% против 0% в контроле, относительный риск 30,0, 95% ДИ 4,33–207,8,  $p < 0,001$ ), ишемические (82,1% против 14,3% в контроле, относительный риск 5,75; 95% ДИ 2,54–13,01,  $p < 0,001$ ) и геморрагические (42,2% против 0% в контроле, относительный риск 16,4; 95% ДИ 2,34–114,6,  $p < 0,001$ ) перинатальные поражения ЦНС, инфекционно-воспалительные заболевания (15,8% против 2,9% в контроле,  $p < 0,02$ ), что согласуется с мнением ведущих ученых [Липатов И.С. и соавт., 2008; Семенова М. В., Загребина О. В., 2010].

Неблагоприятное влияние инфекционного фактора на течение гестационного процесса и состояние плода хорошо изучено и связано с реализацией патогенных свойств возбудителей инфекций в организме матери и плода. По данным Michael Y Divon [2013] инфекции, которые развиваются на ранних сроках беременности имеют наибольшее влияние на дальнейший ход беременности, в том числе они являются фактором риска развития ПН и ЗРП. При обследовании женщин на наличие урогенитальной инфекции методом ИФА установлено, что пациентки основной группы имели высокий уровень урогенитального инфицирования (64,4% против 37,5%,  $p < 0,01$ ) с преобладанием хламидийной, уреоплазменной и микоплазменной инфекций (36,8% против 15,6% в контрольной группе, относительный риск 2,35; 95% ДИ 1,01 – 5,51,  $p < 0,05$ ). Об этом свидетельствовало повышение интегрального показателя инфицирования ( $p < 0,01$ ) и показателя бактериального инфицирования ( $p < 0,01$ ) в группе с ПН по сравнению с контролем; максимальное повышение показателя бактериального инфицирования отмечено при нарушении гемодинамики II степени ( $p < 0,01$  при сравнении с контролем).

При патоморфологическом исследовании плацент женщин с различными стадиями ПН установлено, что в группе женщин с компенсированной плацентарной недостаточностью степень инфицированности составляет 85,7%, с субкомпенсированной – 93%, с декомпенсированной – 95,6% наблюдений. В плацентах всех групп выявлены морфологические признаки продуктивного васкулита, базального децидуита, склероза сосудов створочных, промежуточных ворсин, ви-

русной трансформации децидуальных клеток, диффузной лейкоцитарной инфильтрации, фибриноидный некроз.

Выявление причин плацентарной недостаточности очень важно в каждом конкретном наблюдении, поэтому во многих странах мира применяется стратегия выделения факторов риска с учетом социальных и медицинских факторов в разных категориях беременных женщин. По нашим данным наиболее значимыми факторами риска развития плацентарной недостаточности являются: курение (ОР=10,4), эндометрит (ОР=8,9) аборты (ОР=2,6) в анамнезе, во время беременности – угроза прерывания в первом триместре (ОР=2,6), ОР-ВИ (ОР=1,8), активная хламидийная, уреоплазменная и микоплазменная инфекция (ОР= 2,4).

Защита организма против инфекций осуществляется с помощью работы врожденной и адаптивной систем иммунитета. Toll-подобные рецепторы являются наиболее древними патоген-распознающими рецепторами и играют центральную роль в инициации врожденного иммунного ответа на патоген. При взаимодействии TLR с PAMP (патоген-ассоциированные молекулярные образы) микроорганизмов фагоциты секретируют провоспалительные факторы, развивается воспалительная реакция, направленная на элиминацию патогена. Высокая частота выявления маркеров инфекционного процесса у женщин с плацентарной недостаточностью, по-видимому, вызывает изменение функционального состояния клеток макрофагального ряда, обеспечивающих реакцию врожденного иммунитета.

Проводилось исследование содержания моноцитов периферической крови и макрофагов плаценты, экспрессирующих TOLL-рецепторы 2 и 4 типов, а также FasL, в группах женщин с плацентарной недостаточностью в зависимости от степени гемодинамических нарушений по данным доплерометрии.

Исследования показали достоверное увеличение содержания моноцитов крови, экспрессирующих TOLL-рецепторы 2 типа в группах женщин с нарушением гемодинамики I и III степени по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$  и  $p < 0,02$ , соответственно). При сравнении содержания TLR2+ моноцитов в зависимости от уровня урогенитального инфицирования было выявлено, что уровень данного показателя был достоверно выше в группе

женщин с наличием антител к урогенитальным инфекциям по сравнению с таковым в группе контроля без маркеров инфицирования ( $p < 0,01$ ). Нами был проведен ROC-анализ содержания TLR2+ моноцитов в контрольной группе и в группе женщин с ПН. На основании полученных данных был разработан критерий диагностики плацентарной недостаточности. При уровне TLR2+ моноцитов более 63,5% диагностируют ПН с точностью 61,9% (специфичность 83,3%). Содержание TLR4+ моноцитов при ПН не изменялось ( $p > 0,05$ ).

В децидуальной оболочке плаценты содержание TLR2+ макрофагов в группе с ПН, а также при нарушении гемодинамики II и III степени было достоверно выше, чем в контроле ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,05$  и  $p < 0,01$ , соответственно). Содержание макрофагов, экспрессирующих TLR4 повышалось только при нарушениях гемодинамики II и III степени ( $p < 0,05$  в обоих случаях).

В ворсинчатом хорионе плаценты содержание TLR2+ макрофагов достоверно снижалось в группах со II и III степенью нарушения гемодинамики по сравнению с показателями группы контроля ( $p < 0,02$  и  $p < 0,05$ , соответственно). Содержание TLR4+ макрофагов в ворсинчатом хорионе снижалось только в группе с III степенью нарушения гемодинамики по сравнению с показателями группы контроля ( $p < 0,05$ ).

Вероятно, повышение в периферической крови и в децидуальной оболочке плаценты содержания клеток, экспрессирующих Toll рецепторы 2 типа, а также повышение содержания макрофагов, экспрессирующих TLR рецепторы 4 типа, в ДО определялось отмеченным нами высоким уровнем инфицирования при ПН. При этом активация TLR2 вызывает усиление продукции провоспалительных медиаторов и способствует развитию хронического воспаления. Снижение содержания макрофагов, экспрессирующих Toll-рецепторы, на уровне ворсинчатого хориона при тяжелых нарушениях маточно-плацентарного кровообращения, могло усиливать восприимчивость к инфекциям и определять отмеченное нами повышение частоты инфекционных заболеваний у новорожденных.

Исследована апоптоз индуцирующая способность моноцитов и макрофагов по экспрессии ими молекул CD95L (FasL). В периферической крови беременных с



ПН отмечалось сниженное содержание CD95L+ моноцитов в группах с нарушением гемодинамики II и III степени по сравнению с показателями контроля ( $p < 0,05$  и  $p < 0,02$ , соответственно). Так как взаимодействие FasL с молекулой Fas запускает Fas-зависимый путь апоптоза, можно предположить, что при ПН нарушается процесс естественной элиминации активированных клонов иммунных клеток. Это косвенно подтверждается увеличением количества моноцитов, находящихся на поздних этапах апоптоза у беременных с ЗПИ, что может приводить к нарушению завершенности апоптоза активированных моноцитов и способствовать развитию воспалительных и аутоиммунных реакций.

Несмотря на то, что большинство исследователей отмечали усиление апоптоза клеток различных плацентарных структур при ПН [Сотникова Н.Ю. и соавт., 2005; Макаров О.В. и соавт., 2007; Elmore S. 2007; Abrahams V.M., 2009; Липатов И.С., Тезиков Ю.В., 2011], нам не удалось выявить изменений в содержании FasL-позитивных макрофагов в децидуальной ткани и ворсинчатом хорионе при ПН ( $p > 0,05$ ). Можно предположить, что при ПН макрофаги не играли значительной роли в индукции апоптоза клеток плаценты по Fas-FasL зависимому пути.

Для оценки возможного влияния инфекционного фактора на функциональное состояние макрофагальных клеток при ПН был проведен эксперимент по оценке влияния стимуляции клеток липополисахаридом (LPS) на содержание моноцитов/макрофагов, экспрессирующих TLR2, TLR4 и CD95L *in vitro*. При ПН LPS не влиял на уровень CD95L+ и TLR4+ моноцитов во всех исследуемых группах ( $p > 0,05$  во всех случаях). Однако в контрольной группе после стимуляции LPS достоверно возрастало количество TLR2+ моноцитов ( $p < 0,05$ ). Возможно, это было обусловлено максимальным уровнем стимуляции клеток при ПН. Выявленное нами нарушение ответа на стимуляцию LPS при ПН может обуславливать нарушение элиминацию патогена фагоцитами при инфицировании, что подтверждается литературными данными. По мнению ряда авторов угнетение противовирусной и противобактериальной защиты организма является одной и важнейших причин развития ПН [Кулаков В.И., 2004; Тютюник В.А., 2006].

Существует мнение о том, что в третьем триместре, когда сосудистая сеть плаценты сформирована, защиту эндотелиальных клеток плаценты от апоптоза и повышение их выживаемость обеспечивают различные ангиогенные факторы, в том числе VEGF и PLGF.

Для того чтобы оценить вклад периферических клеток макрофагального ряда в продукцию факторов, регулирующих ангиогенез, нами проводилось изучение особенностей экспрессии мРНК VEGF моноцитами. Выявлено достоверное ее усиление в общей группе с ПН и в группе с I степенью нарушения гемодинамики по сравнению с таковым в контроле ( $p < 0,05$ ), в группах со II и III степенью нарушения гемодинамики была выявлена тенденция к повышению данного показателя ( $p > 0,05$ ). Синтез мРНК VEGF макрофагами децидуальной оболочки плаценты имел тенденцию к снижению в основной группе по отношению к контролю ( $p > 0,05$ ), а при нарушении гемодинамики III степени уровень данного показателя был достоверно ниже, чем в контроле ( $p < 0,02$ ). Экспрессия мРНК VEGF макрофагами ворсинчатого хориона плаценты в группе женщин с ПН, а также при I степени нарушения гемодинамики была достоверно выше, чем в контроле ( $p < 0,05$  в обоих случаях).

Как показали исследования, в сыворотке периферической крови беременных женщин содержание VEGF было крайне незначительным, ниже детектируемых методом ИФА значений. Однако, сывороточное содержание плацентарного фактора роста (PLGF) в группе женщин с ПН и при нарушении гемодинамики II и III степени уровень PLGF было достоверно ниже, чем в контроле ( $p < 0,01$ ,  $p < 0,01$  и  $p < 0,001$ , соответственно). Полученные данные согласуются с результатами других исследователей, которые также отмечали снижение содержания PLGF в сыворотке крови беременных с ЗПИ [Semczuk-Sikora A. et al., 2007; Erez O. et al., 2008]. Отмеченное нами снижение содержания PLGF в сыворотке крови беременных при ПН, максимально выраженное при III степени нарушения гемодинамики, может приводить к развитию эндотелиальной дисфункции, которая в значительном ряде случаев сопровождает ПН.

Как известно VEGF осуществляет свое действие через два основных ре-

цептора: VEGFR1 (Flt-1) и VEGFR2 (Flk-1), а PLGF конкурирует с VEGF за Flt-1 рецептор. Установлено, что через VEGFR2 проводятся сигналы, стимулирующие усиление ангиогенеза, васкуляризации и вазодилатации, а VEGFR1, напротив, блокирует VEGF-зависимую функцию эндотелия. По данным содержания VEGF в экстрактах децидуальной оболочки плаценты в группе с ПН по отношению к показателям контрольной группы было достоверно выше ( $p < 0,05$ ). Содержание VEGFR1 в периферической крови у женщин с ПН было достоверно ниже, чем в группе контроля ( $p < 0,01$ ). Было выявлено также достоверное снижение содержания VEGFR2 в общей группе с ПН по сравнению с таковым в контроле ( $p < 0,05$ ). Хотя данные не согласуются с результатами ряда авторов, которые показали повышение уровня VEGFR1, в сыворотке и плазме крови при ЗПИ [Semczuk-Sikora A. et al., 2007; Stepan H. et al., 2007; Erez O. et al., 2008], отмеченное снижение сывороточного уровня VEGFR1 представляется вполне логичным, и, вероятно, отражает развитие при ПН компенсаторных реакций, способствующих пролонгированию беременности. В то же время, можно предположить, что снижение уровня VEGFR2 в децидуальной оболочке ограничивает компенсаторные возможности действия VEGF при ПН.

При иммуногистохимической оценке экспрессии VEGF в группах с различной степенью компенсации плацентарной недостаточности выявлено, что индекс экспрессии VEGF в контрольной группе составил  $1,49 \pm 0,08$  у.е. в децидуальных клетках базальной пластинки и  $1,02 \pm 0,02$  у.е. в синцитиотрофобласте терминальных ворсин. При компенсированной ПН данный показатель составил  $1,52 \pm 0,04$  у.е. в децидуальных клетках базальной пластинки и  $1,02 \pm 0,02$  у.е. в синцитиотрофобласте терминальных ворсин ( $p > 0,05$ ). При субкомпенсированной ПН отмечено достоверное повышение индекса экспрессии VEGF как в децидуальных клетках ( $1,64 \pm 0,06$  у.е.), так и в синцитиотрофобласте терминальных ворсин ( $1,37 \pm 0,03$  у.е.) по сравнению с группами контроля и компенсированной ПН ( $p < 0,01$ , в обоих случаях). При декомпенсированной ПН экспрессия VEGF отчетливо выявилась в децидуальных клетках (индекс экспрессии  $1,97 \pm 0,06$ ) и синцитиотрофобласте



терминальных ворсин (индекс экспрессии  $1,7 \pm 0,04$ ), при этом уровень экспрессии VEGF был достоверно выше, чем в контроле, при компенсированной и субкомпенсированной ПН ( $p < 0,01$  во всех случаях). По-видимому, выявленное нами повышение содержания VEGF в экстрактах децидуальной ткани, определялось его продукцией именно децидуальными клетками. В то же время, в плодовой части плаценты высокой уровень VEGF при ПН мог определяться не только усилением его продукции синцитиотрофобластом терминальных ворсин, но и усилением синтеза VEGF макрофагами ворсинчатого хориона.

Для уточнения роли инфекционного фактора в развитии ПН нами был проведен анализ корреляционных связей между иммунологическими показателями и показателями инфицирования. Было выявлено, что для женщин с плацентарной недостаточностью характерно наличие отрицательной корреляционной связи между уровнем CD95L+ моноцитов и интегральным показателем вирусного инфицирования, а также положительных связей между уровнем TLR4+ макрофагов в децидуальной оболочке плаценты с интегральным показателем инфицирования и показателем бактериального инфицирования. Только для нарушения гемодинамики II степени характерно наличие отрицательных связей между уровнем TLR4+ моноцитов и интегральным показателем инфицирования, а также между уровнем TLR2+ макрофагов децидуальной оболочки и CD95L+ макрофагов трофобласта.

Таким образом, в патогенезе ПН имеет место нарушение взаимодействия Toll рецепторов клеток макрофагально-го ряда с патогеном на системном и локальном уровнях, угнетение апоптоза индуцирующей функции моноцитов, дисбаланс синтеза, продукции и рецепции ангиогенных факторов, которые зависят от степени нарушения гемодинамики в системе мать-плацента-плод.

## Выводы

1. В группу риска на развитие плацентарной недостаточности следует относить курящих женщин, страдающих эндометритом, имеющих в анамнезе медицинский аборт, с острым бактериальным инфицированием во время беременности, угрозой прерывания беременности в первом триместре и перенесших ОРВИ во время беременности.

2. Дополнительно к стандарту обследования беременных с ПН рекомендуется оценивать экспрессию TLR2 моноцитами. При значении содержания TLR2+ моноцитов  $> 63,5\%$  диагностируется плацентарная недостаточность.

3. При проведении морфологического исследования плацент степень иммуногистохимического окрашивания на VEGF можно использовать в качестве дополнительного критерия, позволяющего диагностировать степень плацентарной недостаточности.

## Литература

1. Довгало Ю.П. (Барановская Ю.П.), Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Панова И.А. Экспрессия FasL периферическими моноцитами и децидуальными макрофагами при фетоплацентарной недостаточности различной степени // Вестник Российской военно-медицинской академии (Приложение). – 2009. – Ч. I. – № 1(25). – С. 287–288
2. Кудряшова А.В., Панова И.А., Довгало Ю.П. (Барановская Ю.П.) Характеристика паттернраспознающих рецепторов моноцитов при плацентарной недостаточности // Журнал теоретической и клинической медицины – 2010. – № 5. – С. 83–86. – Узбекистан, Ташкент.
3. Панова И.А., Довгало Ю.П. (Барановская Ю.П.) Содержание VEGF, PlGF, VEGFR1 и VEGFR2 в периферической крови и плаценте при плацентарной недостаточности // «Вестник уральской медицинской академической науки» – 2010. – № 2/1(29). – С. 183–184
4. Сотникова Н.Ю., Панова И.А., Довгало Ю.П. (Барановская Ю.П.) Экспрессия различных типов паттерн-распознающих рецепторов (PRR) макрофагальными клетками при беременности, осложненной плацентарной недостаточностью // Российский иммунологический журнал. – 2010. – Т4 (13), № 4. – С. 402–403

5. Барановская Ю.П., Панова И.А., Сотникова Н.Ю. Роль факторов врожденного иммунитета в патогенезе плацентарной недостаточности // Медицинская иммунология. – Т. 13, № 4–5. – 2011. – С. 418.

## Список условных сокращений

- CD – молекулы дифференцировки лимфоидных клеток  
 PAMP – патоген-ассоциированные молекулярные образцы микроорганизмов (ПАМП)  
 PCR – полимеразная цепная реакция  
 PlGF – плацентарный фактор роста, фактор роста плаценты (PLGF)  
 PRR – паттернраспознающие рецепторы (ППР)  
 TLR – толл-подобный рецептор  
 TNF – фактор некроза опухоли  
 VEGF – васкуло-эндотелиальный фактор роста  
 АГ – антиген  
 АТ – антитело  
 АФП – альфа- фетопротейн  
 ВУИ – внутриутробное инфицирование  
 ДО – децидуальная оболочка  
 ЗРП – задержка развития плода  
 ИФА – иммуноферментный анализ  
 ОР – относительный риск  
 ПМП – противомикробные пептиды  
 ПН – плацентарная недостаточность  
 ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты  
 ПР – преждевременные роды  
 УЗИ – ультразвуковое исследование ФПС – фетоплацентарная система

## Сведения об авторах:

Барановская Ю.П., кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

## About the authors:

Baranovskaja Y.P., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.

Романова С.В.

## Значение факторов врожденного иммунитета в патогенезе наружного генитального эндометриоза I–II стадии у пациенток с бесплодием и обоснование использования препарата глюкозаминилмурамилдипептида в комплексной терапии данной патологии

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава Российской Федерации

*Механизмы, определяющие нарушение репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом, до конца не установлены. Особый интерес представляет бесплодие, ассоциированное с I-II стадией наружного генитального эндометриоза, поскольку, несмотря на минимальные анатомические изменения органов малого таза, у этих пациенток отмечается высокая частота бесплодия. Цель исследования - изучить особенности экспрессии паттерн распознающих рецепторов и реализацию каскада воспалительных реакций, опосредуемых периферическими моноцитами у женщин с наружным генитальным эндометриозом I-II стадии и бесплодием, обосновать целесообразность включения препарата ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид) в комплексную терапию пациенток с данной патологией. Установлено, что у женщин с эндометриозом I-II стадии и бесплодием в периферической крови повышается относительное содержание TLR2+ и TNFα+ моноцитов, экспрессия мРНК RAGE моноцитами, концентрация RAGE в сыворотке крови и снижается уровень моноцитов, продуцирующих внутриклеточно IL-1β. ГМДП in vitro оказывает стимулирующее действие на экспрессию TLR2 и CD120a молекул, а также на внутриклеточную продукцию IL-1β и TNFα моноцитами пациенток с эндометриозом I-II стадии и бесплодием.*

**Ключевые слова:** эндометриоз, бесплодие, глюкозаминилмурамилдипептид, PRR, TLR2+, TNFα+, RAGE, Липоид.

Romanova S.V.

## Value factors of innate immunity in the pathogenesis of external genital endometriosis stage i-ii in patients with infertility and justification for the use of GMDP entrapped in the treatment of this pathology

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

*The mechanisms that determine the reproductive function in patients with endometriosis, is not fully installed. Of particular interest is the infertility associated with I-II stage of external genital endometriosis because, despite minimal anatomical changes of pelvic organs, these patients have a high rate of infertility. The purpose of the study is to examine the features of pattern recognition receptors and the cascade of inflammatory reactions, oposreduemyh peripheral endings in women with genital endometriosis stage I-II and infertility, to justify the inclusion of GMDP (glukozaminilmuramildipeptid) in complex therapy of patients with this pathology. Found that in women with stage I-II endometriosis and infertility in peripheral blood increases the relative content of TLR2 + and + TNF-α mRNA expression of monocyte RAGE endings, the concentration of RAGE in the serum and decreased the level of monocyte producing intracellularly IL-1β. GMDP in vitro has a stimulating effect on the expression of TLR2 and CD120a molecules and intracellular production of IL-1β and TNF-α endings patients with stage I-II endometriosis and infertility.*

**Key words:** endometriosis, infertility, glukozamonimuramildipeptid, PRR, TLR2 +, TNF-α +, RAGE, Licopid.

Эндометриоз – одно из наиболее распространенных гинекологических заболеваний женщин репродуктивного возраста. Согласно последним данным, эндометриозом во всем мире страдает каждая 10-я женщина репродуктивного возраста, причем у 30–50% всех женщин с эндометриозом диагностируется бесплодие. Однако механизмы, определяющие нарушение репродуктивной функции у пациенток с эндометриозом, до конца не установлены. Особый интерес представляет бесплодие, ассоциированное с I–II стадией наружного генитального эндометриоза, поскольку, несмотря на минимальные анатомические изменения органов малого таза, у этих пациенток отмечается высокая частота бесплодия.

В последние годы увеличилось число сообщений о важной роли иммунных нарушений в патогенезе эндометриоза и связанного с ним бесплодия. Во многих работах подчеркивается важная роль клеток фагоцитарного ряда в процессах, определяющих механизмы формирования эндометриозных очагов, однако практически во всех работах, посвященных этому вопросу, оцениваются макрофаги перитонеальной жидкости. Менее изученными при эндометриозе остаются особенности периферических клеток фагоцитарного ряда, в частности моноцитов, хотя ряд исследователей указывает на важную роль системного воспаления в патогенезе эндометриоза. В доступной нам литературе мы встретили лишь единичные работы, посвященные изучению этой проблемы. Уста-

новлено, что для моноцитов пациенток с наружным генитальным эндометриозом характерно нарушение экспрессии адгезионных рецепторов и продукции IFNγ. Практически отсутствуют данные о взаимосвязи особенностей функционального состояния моноцитов и характера репродуктивной функции пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии. Остаются полностью неизученными механизмы реализации каскада воспалительных реакций моноцитами с вовлечением PRR рецепторов, таких как TLR, NOD2, RAGE и провоспалительных цитокинов TNFα и IL-1β у этих пациенток.

Важной проблемой современной гинекологии в настоящее время является поиск медикаментозных путей лечения эндометриоза и связанного с ним бес-

плодия. Одним из препаратов, действующих на клетки фагоцитарного ряда, является Ликопид, активным действующим веществом которого является ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид). В экспериментальных исследованиях показано, что ГМДП, входящая в состав Ликопада, является сильным активатором врожденной и адаптивной иммунной системы и может быть использован в лечении эндометриоза. Однако до настоящего времени в лечении пациенток с бесплодием и эндометриозом Ликопид не применялся. В связи с этим, определение особенностей функционального состояния моноцитов у пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием, а также уточнение возможности медикаментозной коррекции выявленных нарушений с целью повышения эффективности лечения бесплодия является актуальной задачей, имеющей как фундаментальное, так и практическое значение.

Цель исследования: изучить особенности экспрессии паттерн распознающих рецепторов и реализацию каскада воспалительных реакций, опосредуемых периферическими моноцитами у женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием, обосновать целесообразность включения препарата ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептид) в комплексную терапию пациенток с данной патологией.

#### Задачи исследования:

1. Дать клинико-anamnestическую характеристику женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием.

2. Выявить особенности экспрессии ряда сигнальных и цитокиновых рецепторов (NOD-2, TLR2, RAGE, CD120a), а также определить характер внутриклеточной продукции провоспалительных цитокинов (IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$ ) периферическими моноцитами у женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием.

3. Определить *in vitro* влияние ГМДП (глюкозаминилмурамилдипептида) в различных концентрациях на показатели функционального состояния моноцитов периферической крови пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием.

4. Установить особенности влияния терапии с применением иммуномодулирующего препарата ГМДП на функцио-

нальное состояние моноцитов периферической крови и репродуктивную функцию женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием.

5. Разработать алгоритм назначения иммуномодулирующей терапии в раннем послеоперационном периоде у пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Исследования проводились в эндоскопическом отделении гинекологической клиники. Всего было обследовано 117 женщин: 24 здоровых фертильных женщин репродуктивного возраста, поступавших в отделение эндоскопической хирургии с целью добровольной хирургической стерилизации по социальным показаниям согласно федеральному закону «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21 ноября 2011 года, N 323-ФЗ. (контрольная группа) и 93 женщин с наружным генитальным эндометриозом (N80.3 -эндометриоз тазовой брюшины) I–II стадии (по классификации Американского общества фертильности, 1985 год) и бесплодием (основная группа). В зависимости от ведения раннего послеоперационного периода 72 женщины основной группы методом случайного выбора были разделены на две подгруппы: 39 женщин (I подгруппа) в раннем послеоперационном периоде в дополнение к традиционной терапии получали иммуномодулирующий препарат Ликопид (регистрационный № 015 494/01). Ликопид применялся *per os* в дозе 10 мг 1 раз в сутки в течение первых десяти дней послеоперационного периода, и 33 женщины (II подгруппа) с традиционным ведением послеоперационного периода (назначались антибактериальные и обезболивающие препараты), не получавшие терапию препаратом Ликопид.

Обследование женщин проводилось дважды: при поступлении в стационар для проведения хирургического лечения и через 1 месяц после лечения.

Для оценки исхода лечения динамическое наблюдение за женщинами основной группы проводилось в течение одного года после лапароскопии.

Материалом для исследования служили: гепаринизированная перифери-

ческая венозная кровь, которые забирались за день до операции; биоптаты эндометрия и брюшины, которые получали одновременно с проведением оперативного вмешательства. В схему обследования входили общеклинические, электрофизиологические (УЗИ, ЭКГ), морфологические, иммунологические исследования.

#### Клинические методы

Клинические методы исследования включали сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, лабораторные исследования, необходимые для выполнения оперативного вмешательства (общий анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма, определение группы крови и резус-фактора, реакции Вассермана, серологической реакции на выявление ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, мазки на флору, степень чистоты).

#### Иммунологические методы

– Процедура выделения мононуклеарных клеток из периферической крови

Выделение обогащенной популяции мононуклеарных клеток (МНК) из периферической крови осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ( $d=1,078$ ).

– Оценка функционального состояния периферических моноцитов методом проточной цитометрии

Мембранную экспрессию рецепторов и внутриклеточный синтез цитокинов моноцитами определяли с помощью моноклональных антител (мАТ) методом двухцветной проточной цитофлуориметрии на приборе FACScan (Becton Dickinson, USA). В качестве флуорохромной метки использовали флуоресцеин изотиоционат (FITC) и фикоэритрин (PE). В исследовании использовали следующие мАТ: конъюгированные с FITC анти-TLR2, CD120a антитела (Beckman Coulter, USA), конъюгированные с PE анти-CD14 антитела (КлоноСпектр, Москва). Внутриклеточную продукцию цитокинов оценивали с помощью следующих мАТ: конъюгированные с FITC анти-human-IL-1 $\beta$  антитела и конъюгированные с PE анти-human-TNF $\alpha$  антитела (Beckman Coulter, USA). Процедуру окрашивания и фиксации клеток проводили стандартным способом в соответствии с указаниями фирмы-разработчика. При оценке внутриклеточной продукции цитокинов моноцитами крови предварительно проводи-



ли процедуру фиксации и пермебиализации клеточной мембраны с использованием коммерческого набора Fixative Solution IOTest<sup>®</sup>3 10x Concentrate (Beckman Coulter, USA). В каждом образце анализировалось не менее 10000 клеток. Анализ результатов проводили в программе «CELLQuest Pro» (Becton Dickinson, USA). Анализировали клетки в моноцитарном гейте, который устанавливали на основании окрашивания клеток анти-CD14 антителами.

– *Проведение количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени*

Для количественного определения экспрессии мРНК NOD2 и RAGE моноцитами периферической крови использовали метод полимеразной цепной реакции (PCR) в масштабе реального времени. Предварительно проводили выделение чистой популяции моноцитов из фракции МНК периферической крови методом магнитной сепарации с использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-CD14 антителами (Dynabeads<sup>®</sup> CD14, Invitrogen by Life Technologies AS, Oslo, Norway) в соответствии с инструкцией фирмы-разработчика. Для выделения тотальной РНК из моноцитов крови полученную обогащенную фракцию CD14<sup>+</sup> клеток лизировали в растворе, содержащем гуанидин тиоцианат, цитрат натрия, саркозил и 2-меркаптоэтанол. Выделение РНК проводили стандартным гуанидин-тиоцианат-фенол-хлороформным методом. Полученную РНК переводили в комплементарную кДНК, используя рендом-гексамеры и обратную транскриптазу (Promega, USA). Реакцию обратной транскрипции проводили при 700С в течение 3 мин и при 37<sup>o</sup>С в течение 90 мин. В работе проводили определение экспрессии мРНК NOD2, RAGE и 2-микрोगлобулина, который использовали в качестве гена домашнего хозяйства. Для проведения количественной ПЦР в реальном времени использовались коммерческие наборы из ферментов, праймеров и зондов производства ООО «Синтол» (Москва, Россия). В наборы входили также последовательности клонированных соответствующих генов, серию десятикратных разведений которых использовали в качестве стандартов. Реакцию амплификации проводили в соответствии с предложенными протоколами ООО «Синтол» на амплификаторе с оптической насадкой

iCycler iQ BIO-RAD Laboratories, California, USA). В каждом образце определяли количество копий нуклеотидов 2-микрोगлобулина и специфических генов с помощью стандартных кривых, построенных при использовании программного обеспечения амплификатора iCycler iQ. Затем количество копий пар нуклеотидов специфического гена делили на количество копий пар 2-микрोगлобулина для получения нормализованного значения экспрессии гена. Результаты представлены как нормализованное значение специфического гена  $\times 103/\text{мкл}$  для всех изученных генов.

– *Проведение иммуноферментного анализа*

Содержание RAGE в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) на микропланшетном ридере Multiscan EX (Labsystems, Finland) с использованием коммерческой тест-системы (R&D, USA). Анализ проводился в соответствии с протоколом фирмы-производителя.

– *Изучение in vitro влияния препарата ГМДП на внутриклеточную продукцию цитокинов периферическими лимфоцитами*

В эксперименте in vitro оценивали влияние чистого препарата ГМДП на мембранную экспрессию TLR2 и CD120a, внутриклеточную продукцию IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  моноцитами женщин наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием. Для этого 0,5 мл взвеси периферических МНК в среде RPMI 1640 в концентрации  $2 \times 10^6$  кл/мл инкубировали в течение 24 часа при 37<sup>o</sup>С и 5% CO<sub>2</sub> с равным объемом препарата ГМДП в концентрациях 2, 10 и 20 мкг/мл, конечная концентрация препарата в культуральной среде составила 1, 5 и 10 мкг/мл. После окончания культивирования МНК отмывали в среде RPMI 1640 в течение 10 мин, окрашивали с помощью мАТ и определяли уровень TLR2<sup>+</sup>, CD120a<sup>+</sup>, IL-1<sup>+</sup> и TNF $\alpha$ <sup>+</sup> клеток в моноцитарном гейте методом точной цитометрии. В качестве контроля использовали показатели моноцитов, инкубировавшиеся в тех же условиях без добавления ГМДП.

*Морфологические методы*

Производилась обзорная гистология. Оперативно удаленный материал фиксировался в 10%-ном нейтральном формалине в течение 72 часов. После стандартной парафиновой проводки готовились срезы толщиной 4–5 мкм, ок-

рашивались гематоксилином Эрлиха с докраской эозином и заключались в бальзам. В обзорных препаратах изучалась межтканевая ткань, сосудистое русло и мышечный компонент. В работе использовался микроскоп «Биолам» с бинокулярной насадкой АУ – 12 (ЛОМО).

Статистический анализ данных осуществлялся по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения. В зависимости от типа распределения данных достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по t-критерию Стьюдента или непараметрическому U-критерию Манна-Уитни. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0», «Microsoft Office 2007», «GenStat», «MedCalc» и «Open Epi».

#### Результаты исследования и их обсуждение

Средний возраст женщин основной группы составил  $30,8 \pm 0,39$  лет и был достоверно ниже ( $p=0,014$ ), чем у женщин контрольной группы ( $32,6 \pm 1,1$ ), за счет преобладания в основной группе женщин в возрасте 26–35 лет. Это согласуется с мнением большинства исследователей, считающих, что эндометриоз – это заболевание женщин активного репродуктивного возраста (Hummelshoj L. 2010; Яроцкая, Е.Л. 2004; Клинические рекомендации по ведению больных, Москва 2013; Hediger ML, 2005)

Нарушение менструального цикла по типу альгодисменореи встречалось у 45,2% женщин основной группы, что достоверно выше, чем у женщин контрольной группы – 16,66%, ( $p=0,01$ ), что соответствует данным многих авторов и может являться одной из причин обращения женщин к гинекологу (Fanta M, 2012, Андреева, Е.Н. 1997.)

В контрольной группе своевременные физиологические роды в анамнезе были у 100% женщин, в основной группе – у 22,6% женщин ( $p=0,000$ ). У всех женщин основной группы (100%) отмечалось бесплодие, длительность которого составила от 1 до 13 лет, в среднем  $3,74 \pm 0,25$  года. Первичное бесплодие наблюдалось у 46 женщин (49,5%), вторичное у 47 женщин (50,5%). Этот факт является закономерным, так как бесплодие, является основным симптомом наружного генитального эндометриоза I–II стадии и одной из ведущих причин



обращения к врачу. Женщины основной группы имели самопроизвольные выкидыши в анамнезе (18,3%), тогда как ни одна женщина из контрольной группы не имела в анамнезе невынашивания беременности ( $p=0,026$ ). Некоторые авторы объясняют это иммунологическими нарушениями (Сухих, Г.Т. 2003. , Радзинский, К.В. и др., Sargent IL., 2006; Le Bouteiller P 2006)

Неопухолевые заболевания шейки матки в анамнезе достоверно чаще встречались у женщин основной группы – в 23,7% случаев, по сравнению с женщинами контрольной группы – 2,86% ( $p=0,039$ ), что, по мнению многих авторов может являться причиной развития локального воспаления и играет роль в патогенетических механизмах развития эндометриоза.

У женщин с наружным генитальным эндометриозом на момент обследования выявлялась железисто-кистозная гиперплазия эндометрия в 16,6% случаев. Полученные нами данные, находят подтверждение в литературных источниках, согласно которым, около 15% больных с наружным генитальным эндометриозом страдают гиперплазией эндометрия и полипозом.

Аллергические реакции в анамнезе отмечались достоверно чаще (23,6%) у женщин основной группы, чем в контрольной группе (8,3%) ( $p=0,039$ ). Это соответствует литературным данным о высокой частоте аутоиммунных и аллергических заболеваний у женщин с наружным генитальным эндометриозом (Inagaki J. et al., 2003; Mathur N. Sinai, 2002).

В настоящее время широко распространена точка зрения о том, что иммунное воспаление играет важную роль в патогенезе эндометриоза. Однако большинство проведенных исследований посвящено изучению механизмов развития локального перитонеального воспаления при эндометриозе. Системные воспалительные реакции, в развитии которых участвуют моноциты, изучены недостаточно. В нашей работе мы оценили особенности экспрессии ряда сигнальных рецепторов и продукции провоспалительных цитокинов моноцитами женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием, а также попытались разработать подходы к коррекции выявленных нарушений с целью восстановления репродуктивной функции пациенток.

Анализ полученных результатов показал, что уровень моноцитов, экспрессирующих TLR2 ( $64,8\pm 1,9\%$ ), а также моноцитов, внутриклеточно продуцирующих TNF $\alpha$  ( $62,5\pm 1,17$  пг/мл) у женщин основной группы был достоверно выше, чем в контрольной группе ( $55,5\pm 3,35\%$ ,  $p=0,015$  и  $54,77\pm 2,4$  пг/мл,  $p=0,01$ ). Однако внутриклеточная продукция другого провоспалительного цитокина – IL-1 $\beta$  у женщин основной группы ( $44,05\pm 1,3$  пг/мл) была достоверно ниже, чем у женщин контрольной группы ( $59,9\pm 2,3$  пг/мл,  $p=0,000$ ). Также по нашим данным, при эндометриозе был достоверно выше синтез моноцитами еще одного рецептора относящегося к классу PRR – RAGE ( $7,08\pm 1,57$  копий пар нуклеотидов  $\times 1000$ ), чем аналогичный показатель у женщин контрольной группы ( $0,44\pm 0,17$  копий пар нуклеотидов  $\times 1000$ ) ( $p=0,04$ ). Кроме того, сывороточное содержание RAGE в основной группе составило  $2811,67$  пг/мл, что достоверно выше аналогичного показателя у женщин контрольной группы  $1102,73\pm 188,98$  пг/мл ( $p=0,01$ ). Полученные нами результаты хорошо согласуются с имеющимися литературными данными об усилении экспрессии RAGE при эндометриозе (Sharma I, 2010).

Учитывая полученные результаты и экспериментальные исследования, предполагается, что коррекция реакций врожденного иммунитета может оказать позитивное влияние на репродуктивную функцию пациенток с наружным генитальным эндометриозом. Одним из немногих препаратов с доказанным активирующим воздействием на фагоциты через NOD2 рецепторы является препарат Ликопид. До настоящего времени для лечения бесплодия у женщин с эндометриозом этот препарат не использовался. В нашей работе мы оценили влияние комплексной терапии с включением препарата Ликопид на состояние репродуктивной функции пациенток с бесплодием при I–II стадиях наружного генитального эндометриоза, а также проследили наличие взаимосвязи между характером иммунных нарушений и последующим наступлением беременности после проведения иммуномодулирующей терапии.

Оценено действие ГМДП на параметры функционального состояния моноцитов в различных концентрациях (1, 5 и 10 мкг/мл). Установлено, что действие ГМДП в дозе 1 мкг/мл было минимальным и проявлялось лишь в стимуляции

мембранной экспрессии CD120a молекул моноцитами. В дозе 5 и 10 мкг/мл препарат оказывал достоверное стимулирующее влияние на все изученные параметры. При этом усиление экспрессии TLR2 моноцитами в максимальной степени проявлялось при воздействии препарата в концентрации 10 мкг/мл ( $p=0,019$ ), а максимальная стимуляция экспрессии CD120a молекул, внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  моноцитами отмечалась при использовании дозы ГМДП 5 мкг/мл.

Таким образом, полученные нами *in vitro* результаты хорошо согласуются с имеющимися экспериментальными данными и позволяют говорить о перспективности дальнейшего изучения возможности использования препарата ГМДП в лечении иммунных нарушений у пациенток с эндометриозом и бесплодием.

Для оценки влияния препарата Ликопид на состояние репродуктивной функции и на иммунологические показатели пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием, мы пролечили 39 пациенток основной группы препаратом Ликопид в дозе 10 мкг 1 раз в сутки в течение 10 дней. Препарат назначался в раннем послеоперационном периоде вместе с курсом обезболивающей и антибактериальной терапии для профилактики послеоперационных осложнений. Женщинам второй подгруппы ( $n=33$ ) назначалась только обезболивающая и антибактериальная терапия. Женщины обеих подгрупп были сопоставимы по основным клинико-anamнестическим параметрам.

У пациенток с традиционным ведением раннего послеоперационного периода мы не отметили каких-либо изменений иммунологических показателей через 1 месяц после проведения лапароскопии. Тогда как в подгруппе женщин, получавших Ликопид, через 1 месяц после хирургического лечения бесплодия была выявлена нормализация внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$  моноцитами. Таким образом, результаты лечения пациенток с бесплодием и эндометриозом *in vivo* соответствуют выявленным нами ранее эффектам препарата *in vitro*.

При оценке репродуктивной функции пациенток двух подгрупп в течение года после лапароскопии было установлено, что у женщин, получавших в раннем послеоперационном периоде только традиционную терапию, наступление беременности произошло у 21,2% паци-

енток. В подгруппе женщин, получавших в раннем послеоперационном периоде комплексную терапию с использованием препарата Ликопид, беременность наступила у 33,3% женщин, т.е. у них прослеживается четкая тенденция к улучшению репродуктивной функции.

При дифференцированном анализе иммунологических показателей пациенток до лапароскопии в зависимости от последующего наступления беременности нами было установлено, что в подгруппе с традиционным ведением послеоперационного периода успех хирургического лечения бесплодия отмечался у пациенток с минимальными иммунологическими нарушениями. Беременность наступала спонтанно в течение 1 года после проведения лапароскопического удаления очагов эндометриоза у женщин с изначально нормальными значениями относительного содержания TLR2+ и IL-1β+ моноцитов, уровня экспрессии мРНК RAGE и сывороточного содержания RAGE. При этом анализ полученных данных показал, что показатель количества IL-1β+ моноцитов может служить прогностическим критерием успеха хирургического лечения бесплодия у пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии, получавших в раннем послеоперационном периоде традиционную терапию. Показано, что при значении относительного содержания IL-1β+ моноцитов у пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием 50% и более позволяет прогнозировать успех хирургического лечения бесплодия с точностью 83,3%. Чувствительность предложенного способа составила 80%, специфичность – 84%. На основании полученных результатов нами был разработан «Способ прогнозирования эффективности хирургического лечения бесплодия у женщин с I–II стадией наружного генитального эндометриоза (уведомление о поступлении заявки № 2013146410 от 18.10.2013) Эти данные подтверждают высказанное выше предположение о значимости IL-1β в обеспечении успеха репродукции у пациенток с эндометриозом, поскольку при нормальном уровне внутриклеточной продукции IL-1β моноцитами пациенток с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием достаточно только хирургического удаления эндометриоидных очагов для восстановления репродуктивной функции пациенток.

Таким образом, результаты нашего исследования свидетельствуют о необходимости индивидуального подхода к назначению препарата Ликопид пациенткам с бесплодием при I–II стадиях наружного генитального эндометриоза. Мы разработали алгоритм обследования этого контингента пациенток с целью повышения эффективности лечения у них бесплодия (Схема 1). На первом этапе обследования мы предлагаем оценивать уровень IL-1β+ и TLR2+ моноцитов. При значениях IL-1β+ 50% и более мы предлагаем традиционное ведение раннего послеоперационного периода, так как по нашим данным у этих женщин достаточно велика вероятность (83,3%) спонтанного наступления беременности после проведения лечебно-диагностической лапароскопии. Пациенткам с низкими значениями IL-1β+ моноцитов (менее 50%) и низкими/нормальными показателями уровня TLR2+ моноцитов (66% и менее) мы рекомендуем в раннем послеоперационном периоде проведение терапии с включением препарата Ликопид. Эффективность лечения предлагается оценивать через 1 месяц по показателям относительного содержания TLR2+ моноцитов и уровня экспрессии моноцитами мРНК RAGE и NOD2. Повышение количества TLR2+ моноцитов, уровня экспрессии мРНК NOD2 и снижение экспрессии мРНК RAGE через 1 месяц после лечения следует рассматривать как эффективный результат терапии с применением препарата Ликопид, который окажет положительное влияние на состояние репродуктивной функции пациенток с эндометриозом. В том случае, если наблюдаются одновременно низкие значения содержания IL-1β+ моноцитов и высокое

содержание TLR2+ моноцитов, эффективный ответ на хирургическое удаление очагов эндометриоза и на иммуномодулирующую терапию препаратом Ликопид будет отсутствовать. Этим пациенткам следует ориентировать на другие методы лечения бесплодия, в частности, на ЭКО.

### Выводы

1. Особенности клинико-анамнестической характеристики женщин с наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием являются высокая частота нарушения менструальной функции по типу альгодисменореи, самопроизвольных аборт в раннем сроке беременности, а также неопухолевых заболеваний шейки матки и аллергических реакций в анамнезе.

2. У женщин с эндометриозом I–II стадии и бесплодием в периферической крови повышается относительное содержание TLR2+ и TNF|+ моноцитов, экспрессия мРНК RAGE моноцитами, концентрация RAGE в сыворотке крови и снижается уровень моноцитов, продуцирующих внутриклеточно IL-1β.

3. ГМДП in vitro оказывает стимулирующее действие на экспрессию TLR2 и CD120a молекул, а также на внутриклеточную продукцию IL-1β и TNF| моноцитами пациенток с эндометриозом I–II стадии и бесплодием. В дозе 1 мкг/мл ГМДП усиливает экспрессию CD120a молекул моноцитами, в дозе 5 и 10 мкг/мл ГМДП повышает уровень TLR2+, CD120a+, IL-1β+ и TNF|+ моноцитов.

4. Использование препарата Ликопид в дозе 10 мг 1 раз в сутки в первые 10 суток после операции у пациенток с эндометриозом I–II стадии и бесплодием

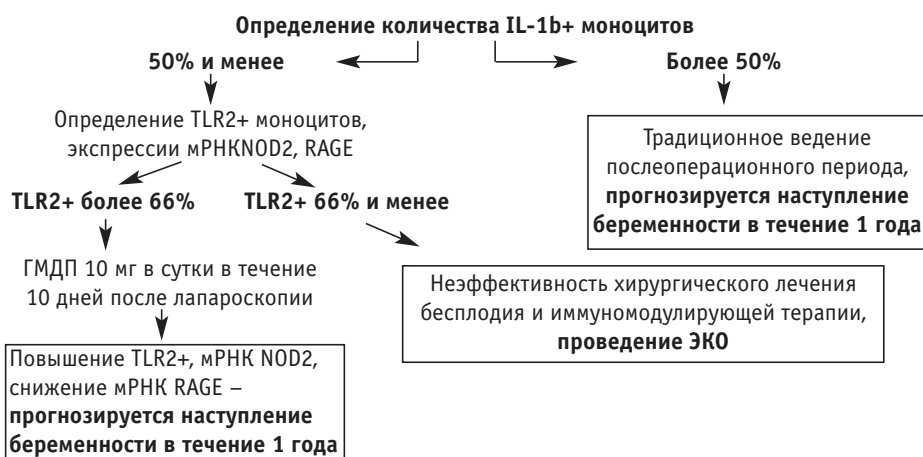


Схема 1. Алгоритм обследования и определения тактики ведения раннего послеоперационного периода у пациенток с бесплодием при I–II стадиях наружного генитального эндометриоза

приводит к нормализации относительного содержания IL-1 $\beta$ + и повышению количества TLR2+ моноцитов через 1 месяц после лечения, чего не наблюдается при традиционном лечении.

5. Наступление беременности после хирургического лечения бесплодия у женщин с эндометриозом I–II стадии и бесплодием ассоциируется с отсутствием исходных нарушений в экспрессии TLR2 молекул, внутриклеточной продукции IL-1 $\beta$ , синтезе RAGE моноцитами и сывороточном содержании RAGE.

6. Наступление беременности у женщин с эндометриозом I–II стадии и бесплодием, получавших после операции препарат Ликопид, отмечается при изначально низком/нормальном содержании TLR2+ моноцитов, и при повышении через 1 месяц после лечения количества TLR2+ моноцитов, экспрессии мРНК NOD2 и снижении экспрессии мРНК RAGE в пуле моноцитов относительно показателей до операции.

7. Показатель относительного содержания IL-1 $\beta$ + моноцитов 50% и более является прогностическим критерием эффективности хирургического лечения бесплодия в течение года у женщин с I–II стадией эндометриоза. Точность способа – 83,3%, чувствительность – 80%, специфичность – 84%;

#### Практические рекомендации

1. Пациенткам наружным генитальным эндометриозом I–II стадии и бесплодием рекомендуется до проведения лапароскопии в периферической крови определять относительное содержание IL-1 $\beta$ + моноцитов и при значениях данного показателя 50% и более прогнозируется успешное восстановление репродуктивной функции пациенток после проведения хирургического лечения бесплодия.

2. При низких значениях относительного содержания IL-1 $\beta$ + моноцитов (менее 50%) рекомендуется определять в периферической крови пациенток с бесплодием при стадиях наружного генитального эндометриоза до проведе-

ния лапароскопии относительное содержание TLR2+ моноцитов, уровень экспрессии мРНК NOD2 и RAGE. При значениях показателя TLR2+ моноцитов 66% и менее рекомендуется назначить в раннем послеоперационном периоде курс иммуномодулирующей терапии (препарат Ликопид в дозе 10 мг в течение 10 дней).

3. Для оценки эффективности иммуномодулирующей терапии рекомендуется проводить повторное иммунологическое обследование пациенток через 1 месяц после лечения и в случае повышения показателя относительного содержания TLR2+ моноцитов, экспрессии мРНК NOD2 и снижении экспрессии мРНК RAGE прогнозируется успешное наступление беременности в течение 1 года после лапароскопии.

4. У контингента пациенток с одновременно низкими значениями содержания IL-1 $\beta$ + моноцитов и высокими показателями количества TLR2+ моноцитов после проведения хирургического лечения ввиду неблагоприятного прогноза в отношении наступления спонтанной беременности рекомендуется своевременное решение вопроса о применении ВРТ.

#### Литература

1. Анциферова Ю.С., Романова С.В., Красильникова А.К. Влияние *in vitro* препарата ГМДП на экспрессию сигнальных рецепторов и продукцию цитокинов фагоцитами периферической крови и перитонеальной жидкости при эндометриозе // Российский иммунологический журнал.– Т.6(14), №2(1), 2012.– С.143–145
2. Малышкина А.И., Красильникова А.К., Романова С.В. Особенности системных реакций врожденного иммунитета у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза // Российский иммунологический журнал.– Т.6(14), №2(1), 2012.– С.84–86
3. Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю., Анциферова Ю.С., Красильникова А.К., Романова С.В. Новые подходы к медикаментозной коррекции иммунных нару-

шений у пациенток с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза // Проблемы репродукции (спец.выпуск) – Москва.– 2012.– С.136–137

4. Малышкина А.И., Романова С.В., Анциферова Ю.С., Красильникова А.К. Влияние иммуномодулирующей терапии с использованием препарата Ликопид на функциональное состояние моноцитов периферической крови женщин с бесплодием и «малыми» формами наружного генитального эндометриоза // Российский иммунологический журнал.– Т.7(16), №2–3.– 2013.– С.280

5. Романова С.В. Влияние Ликопида на функциональное состояние моноцитов в крови у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза // Материалы 66-й научной конференции молодых ученых – г.Ярославль – 2012.– С.114

4. Романова С.В., Малышкина А.И., Сотникова Н.Ю. Особенности внутриклеточной продукции провоспалительных цитокинов моноцитами периферической крови у женщин с бесплодием при «малых» формах наружного генитального эндометриоза. // Бюллетень ФЦСКЭ им. В.А.Алмазова.– 2012.– С. 40

#### Список условных сокращений

- PRR – паттерн-распознающий рецептор  
 RAGE – рецептор конечных продуктов гликозилирования  
 CD – кластер дифференцировки лимфоидных клеток  
 TNF | – фактор некроза опухоли  
 NOD – образ-распознающий рецептор  
 TLR – толл-подобный рецептор  
 мРНК – матриксная рибонуклеиновая кислота  
 IL – интерлейкин  
 ЭКО –экстракорпоральное оплодотворение  
 ГМДП– глюкозаминуррамилдипептид  
 УЗИ – ультразвуковое исследование  
 ЭКГ – электрокардиограмма  
 ВРТ– вспомогательные репродуктивные технологии

#### Сведения об авторах:

Романова С.В., кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России  
 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

#### About the authors:

Romanova S.V., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.

Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.



Лицова А.О.

## Роль естественных киллеров в патогенезе быстрого роста миомы матки, влияние агонистов гонадотропных рилизинг-гормонов на их содержание и функциональное состояние

Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздрава Российской Федерации

Несмотря на многолетнее изучение, этиология и патогенез лейомиомы матки остаются дискуссионными. В последние годы было доказано, что образование опухолей, как злокачественных, так и доброкачественных, сопровождается ослаблением иммунной защиты. Установлено, что образование ЛММ ассоциируется с повышением уровня естественных киллеров (ЕК) как на системном, так и на локальном уровнях, независимо от темпа роста. Цель научного исследования - установить особенности содержания и функционального состояния естественных киллеров на локальном и системном уровнях у женщин с миомой матки в зависимости от темпа и типа роста, разработать новые диагностические критерии быстрого роста миомы матки, изучить влияние агонистов гонадотропных рилизинг-гормонов на содержание и функциональное состояние естественных киллеров. Установлено, что наличие интерстициальной миомы матки у женщин вне зависимости от темпа роста опухоли ассоциируется с увеличением в эндометрии по сравнению с показателями здоровых женщин общего количества естественных киллеров, а также уровня естественных киллеров, экспрессирующих активирующие (CD158i+) и ингибирующие (CD 158a+) KIR рецепторы, снижением содержания естественных киллерных Т-лимфоцитов, экспрессирующих ингибирующие (CD 158a+) рецепторы.

**Ключевые слова:** лейомиома матки, CD158i, CD 158a+, KIR рецепторы, VEGF, ЕК.

Litsova A.O.

## The role of natural killer cells in the pathogenesis of uterine fibroid growth, influence agonists gonadotrophonah hormones on releasing their content and functional status

Ivanovo Research Institute of mother and child health of the Ministry of health of Russia

Despite many years of study, the etiology and pathogenesis of uterine Leiomyoma and remain diskutabelny. In recent years, it has been proven that neoplasm, as malignant and benign, accompanied by the weakening of immune defense. Found that the education of the LMM is associated with increased levels of natural killer cells (EC) both at the systemic and local levels, regardless of the rate of growth. The purpose of scientific research - set the specifics of the content and functional natural killer on the local and systemic levels in women with uterine myoma based on tempo and type of growth, develop new diagnostic criteria for rapid growth of uterine fibroids, to study the effect of agonist gonadotrophonah hormones on releasing the content and functional natural killer. Found that the existence of interstitial uterine fibroids in women regardless of tumor growth is associated with increases in the endometrium compared with healthy women total number of natural killer cells and natural killer cells, activate (CD158i+) and inhibitory (CD + 158a) KIR receptor, the reduction of natural killer cells, t-cells inhibiting (CD + 158a) receptors.

**Key words:** uterine Leiomyoma, CD158i, 158a + CD, KIR receptor, VEGF, EC.

Лейомиомой матки (ЛММ), по данным разных авторов, страдают от 25 до 50% женщин старше 35 лет. До настоящего времени около 70% больных ЛММ в гинекологических стационарах подвергаются радикальному оперативному лечению. Это приводит к необратимому бесплодию, утрате менструальной функции, выраженным гормональным нарушениям, вегетососудистым и психоэмоциональным расстройствам.

Несмотря на многолетнее изучение, этиология и патогенез ЛММ остаются дискуссионными. В последние годы было доказано, что образование опухолей, как злокачественных, так и доброкачественных, сопровождается ослаблением иммунной защиты. Установлено, что образование ЛММ ассоциируется с повышением уровня естественных килле-

ров (ЕК) как на системном, так и на локальном уровнях, независимо от темпа роста. Как известно, мишенями для ЕК служат трансформированные, инфицированные и быстро пролиферирующие клетки. Повышение уровня ЕК при «истинном» характере роста отражает интенсивность локальных пролиферативных процессов. Однако не исследовано содержание и функциональное состояние ЕК у женщин с ЛММ при различных темпах и типах роста опухоли.

До настоящего времени не существует унифицированных схем лекарственной терапии ЛММ. На современном этапе следует считать доказанной эффективность назначения агонистов гонадотропных рилизинг-гормонов (аГнРГ) в схемах пред- и послеоперационного лечения ЛММ. Установлено, что аГнРГ ингибируют пролиферацию кле-

ток миомы, но не оказывают никакого эффекта на пролиферацию клеток миометрия. Остается неизученным влияние аГнРГ на иммунокомпетентные клетки, а именно на содержание и функциональное состояние ЕК.

### Задачи исследования

1. Установить особенности репродуктивного и соматического здоровья у женщин с миомой матки при различных вариантах течения заболевания, определить факторы риска быстрого роста опухоли.

2. Определить в периферической крови и эндометрии содержание естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующие (CD158i+) и ингибирующие (CD158a+) KIR рецепторы, особенности их функционального состоя-



ния при различном темпе и типе роста миомы матки.

3. Изучить влияние терапии агонистами гонадотропных рилизинг-гормонов на содержание и функциональное состояние лимфоидных клеток периферической крови женщин с быстрорастущей миомой матки.

4. На основании выявления особенностей рецепторного аппарата и функционального состояния естественных киллеров разработать новые диагностические критерии быстрого роста миомы матки.

#### Материалы и методы исследования

Работа выполнена на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В. Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ.

В условиях гинекологической клиники обследовано 127 пациенток репродуктивного возраста:

- первая клиническая группа – 30 женщин с ЛММ стабильно малых размеров (общие размеры матки не превышали 9-недельного срока беременности, отсутствие роста миомы за 1 предшествующий год наблюдения), поступившие на обследование (гистероскопия с диагностическим выскабливанием полости матки и цервикального канала);

- вторая клиническая группа – 66 женщин с быстрорастущей миомой матки (общие размеры матки – свыше 10 недель беременности, увеличение размеров за 1 предшествующий год наблюдения – на 4–5 недель беременности и более), поступившие на обследование и оперативное лечение;

В зависимости от морфологического типа миоматозных узлов, пациентки второй группы были разделены на две подгруппы:

1-я подгруппа – 39 женщин с «ложным» типом роста миоматозных узлов,

2-я подгруппа – 27 пациенток с «истинным» типом роста миоматозных узлов;

контрольная группа – 31 практически здоровая фертильная женщина, обратившаяся с целью подбора метода контрацепции.

Материалом для исследования служили: периферическая венозная кровь, биоптаты эндометрия, миоматозных узлов и миометрия.

В схему обследования входили общеклинические (согласно отраслевым стан-

дартам объемов исследования в гинекологии), эндоскопические (гистероскопия с раздельным диагностическим выскабливанием полости матки и цервикального канала), электрофизиологические (ЭКГ), ультразвуковые (УЗИ), морфологические, иммунологические и иммуногистохимические методы исследования.

Женщинам с быстрорастущей ЛММ, которым было показано органосохраняющее оперативное лечение ( $n = 15$ ), в качестве предоперационной подготовки назначена терапия аГнРГ. Для лечения использовались препараты бусерелин или трипторелин в дозировке 3,75 мг внутримышечно 1 раз в 28 дней в течение 3 месяцев. Через 3 недели после последней инъекции женщины поступили на оперативное лечение в объеме миомэктомии лапаротомическим доступом. После оперативного вмешательства препарат назначался в течение 3 месяцев. Ультразвуковое исследование данной группы пациенток проводилось до начала лечения (на 5–7-й день менструального цикла), перед операцией (в течение 1 недели после окончания лечения) и после нее через 3, 6, 9 месяцев. Оценка иммунологических показателей периферической крови этим женщинам производилась дважды – до начала предоперационного лечения и после его окончания (через 3 недели после последней инъекции препарата).

Иммунологические методы исследования:

- выделение обогащенной популяции лимфоцитов из периферической крови осуществляли стандартным методом скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколла-урографина ( $d = 1,078$ );

- выделение мононуклеарных клеток (МНК) из образцов эндометриальной ткани выполнялось механическим бесферментативным методом с помощью скоростного центрифугирования в градиенте плотности фиколла-урографина ( $d = 1,078$ );

- определение фенотипа и внутриклеточного синтеза цитокинов эндометриальными лимфоцитами с помощью моноклональных антител (мАТ) – методом двухцветной проточной цитофлуориметрии на приборе «FACScan» («Becton Dickinson», USA). В исследовании использовали следующие мАТ: конъюгированные с FITC анти-CD56 («Beckman Coulter», France), конъюгированные с PE анти-CD158a («Beckman

Coulter», France), анти-CD158i («Beckman Coulter», France). Внутриклеточную продукцию цитокинов оценивали с помощью следующих мАТ: конъюгированные с PE анти-human-IFN $\gamma$  («Becton Dickinson», USA) и анти-human-TGF $\beta$ 1 («Becton Dickinson», USA).

- определение экспрессии мРНК TGF 1 в ткани миометрия и в миоматозных узлах – методом количественной полимеразной цепной реакции (RT-PCR) в масштабе реального времени на амплификаторе с оптической насадкой «iCycler iQ» («BIO RAD», USA).

Морфологические методы исследования эндометрия и миометрия. Препараты фиксировались в 10%-ном нейтральном формалине в течение 72 часов. После стандартной парафиновой проводки готовились срезы толщиной 4–5 мкм, окрашивались гематоксилином

Эрлиха с докраской эозином и заключались в балзам. В обзорных препаратах изучалась межучточная ткань, сосудистое русло и мышечный компонент миометрия.

Иммуногистохимические исследования проводили с применением первичных антител к сосудисто-эндотелиальному фактору роста (anti-VEGF-A, Dako, клон VEG1, рабочее разведение 1 : 50). Реакцию осуществляли на парафиновых срезах после предварительной демаскировки антигена путем кипячения в Трис-ЭДТА буфере pH = 9,0 в течение 15 минут. Использовали систему визуализации «LSAB2 System HRP» ("Dako", USA) по протоколу производителя. Иммуногистохимическую реакцию оценивали путем подсчета индекса экспрессии Histoscore в 5 полях зрения при увеличении  $\times 400$ . Определяли количество VEGF-положительных капилляров и интрамуральных артерий, высчитывали плотность распределения сосудов в 1 мм $^2$ .

Статистическая обработка данных проводилась по общепринятым методам вариационной статистики после проверки рядов на нормальность распределения. В зависимости от типа распределения данных достоверность различий между показателями независимых выборок оценивались по непараметрическому U-критерию Манна – Уитни или по t-критерию Стьюдента ( $M \pm m$ ). Для оценки факторов риска быстрого роста ЛММ рассчитывали относительный риск (ОР) с 95%-ным доверительным

интервалом (ДИ – 95%). Статистический анализ осуществлялся в пакете прикладных лицензионных программ «Statistica 6.0», «Microsoft Office 2007», «MedCalc», «GenStat» и «Open Epi».

#### Результаты исследования и их обсуждение

Под наблюдение были взяты пациентки в возрасте от 24 до 45 лет. Средний возраст женщин первой группы составил  $40,6 \pm 0,6$  года; второй –  $40,4 \pm 0,5$  года; группы контроля –  $37,7 \pm 1,3$  года, достоверных различий по возрастному составу между группами не выявлено.

Анамнез пациенток с ЛММ достоверно чаще, чем у женщин контрольной группы, был отягощен частыми респираторными заболеваниями (73,9 и 38,7% соответственно,  $p = 0,000$ ). В структуре экстрагенитальной патологии, выявленной на момент обращения, у женщин с ЛММ по сравнению с контрольной группой преобладали железодефицитная анемия (43,6 против 0%,  $p = 0,000$  соответственно), варикозная болезнь нижних конечностей (34 и 3,2% соответственно, ОР 1,42; 95%; ДИ 1,22–1,65,  $p = 0,000$ ), артериальная гипертензия (32,9 и 6,5% соответственно, ОР 1,36; 95%; ДИ 1,15–1,59,  $p = 0,002$ ), ожирение (28,7 и 3,2% соответственно, ОР 1,38; 95%; ДИ 1,22–1,65,  $p = 0,001$ ), хронический рецидивирующий назолабиальный герпес (26,6 и 9,7% соответственно, ОР 1,26; 95%; ДИ 1,1–1,5;  $p = 0,02$ ), хронический холецистит (19,1 и 0,0% соответственно, ОР 1,4; 95%; ДИ 1,24–1,57,  $p = 0,004$ ), остеохондроз позвоночника (19,1 и 3,2% соответственно,  $p = 0,02$ ), хронический бронхит (17 и 3,2% соответственно, ОР 1,3; 95%; ДИ 1,1–1,53,  $p = 0,04$ ). Следует отметить, что такие заболевания, как железодефицитная анемия (53,2 и 34% соответственно,  $p = 0,01$ ), ожирение (35,9 и 13,3% соответственно, ОР 1,37; 95%; ДИ 1,1–1,74;  $p = 0,02$ ), варикозная болезнь нижних конечностей (39,1 и 23,3% соответственно, ОР 1,3; 95%; ДИ 1,01–1,67,  $p = 0,04$ ), хронический рецидивирующий назолабиальный герпес (31,6 и 16,7% соответственно, ОР 1,28; 95%; ДИ 1,01–1,65,  $p = 0,04$ ) у женщин с быстрорастущей ЛММ выявлялись значительно чаще, чем у пациенток с ЛММ стабильно малых размеров. Отягощенность соматического статуса больных с ЛММ экстрагенитальной патологией, выявленной в нашем исследовании, согласуется с данными литературы (Щербакова Л. А. и др., 2012; Okolo S. et al., 2008).

Нами не было обнаружено различий в становлении менструальной функции у женщин в зависимости от темпа роста опухоли. У пациенток с ЛММ значительно чаще отмечались нарушения менструальной функции в виде гиперполименореи и дисменореи. Менструальная функция женщин с быстрым ростом ЛММ по сравнению с пациентками с ЛММ стабильно малых размеров отличалась увеличением средней продолжительности менструации до  $5,7 \pm 0,2$  дней ( $p = 0,01$ ).

Репродуктивный анамнез больных с ЛММ по сравнению с контрольной группой характеризовался большой частотой самопроизвольных выкидышей в ранние сроки беременности (20,8 и 3,2% соответственно,  $p = 0,014$ ), медицинских аборт (65,6 и 48,4% соответственно,  $p = 0,047$ ), меньшей частотой своевременных родов (88,5 и 100,0% соответственно,  $p = 0,036$ ). В то же время у пациенток с ЛММ значительно чаще отмечалось бесплодие (21,9 и 0% соответственно,  $p = 0,001$ ). Таким образом, женщины с ЛММ имели в анамнезе факторы, нарушающие целостность эндометрия, что наряду с инфекцией может служить триггерным фактором формирования миоматозного узла. Незначительное число женщин с ЛММ в отличие от контрольной группы использовали гормональную контрацепцию (9,4 и 29% соответственно, ОР 1,6; 95%; ДИ 1,01–2,56;  $p = 0,01$ ), причем реже всех – женщины с быстрым ростом опухоли по сравнению с ЛММ стабильно малых размеров (4,5 и 20% соответственно, ОР 2,17; 95%; ДИ 1,01–2,52;  $p = 0,024$ ). Между тем применение низкодозированных КОК, по мнению некоторых исследователей, является надежным средством профилактики формирования и прогрессирования.

В структуре перенесенной гинекологической патологии у женщин с ЛММ по сравнению с группой контроля преобладали воспалительные заболевания придатков матки (58,3 и 19,4% соответственно, ОР 1,5; 95%; ДИ 1,2–1,8;  $p = 0,000$ ), неопухолевых заболеваний шейки матки (47,9 и 6,5% соответственно, ОР 1,5; 95%; ДИ 1,2–1,8;  $p = 0,000$ ), что свидетельствует о роли инфекционно-воспалительного фактора в формировании ЛММ.

Таким образом, клиничко-анамнестическими факторами риска быстрого роста ЛММ у женщин репродуктивного возраста являются сочетание основного

заболевания с ожирением (ОР 1,37), хроническим назолабиальным герпесом (ОР 1,28), варикозной болезнью нижних конечностей (ОР 1,3). Фактором, снижающим риск быстрого роста ЛММ, является использование с целью контрацепции КОК (ОР 0,46).

Пациенткам с ЛММ выполнена гистероскопия, в ходе которой было исключено сочетание основного заболевания с внутренним эндометриозом и произведено раздельное диагностическое выскабливание с последующим гистологическим исследованием эндометрия. У 37,5% женщин был выявлен доброкачественный гиперпластический процесс эндометрия, в основном в виде железисто-кистозной гиперплазии эндометрия, что было достоверно чаще, чем в группе контроля (30,2 и 0% соответственно,  $p = 0,000$ ).

Клиническое течение основного заболевания женщин с быстрорастущей ЛММ, в отличие от пациенток с ЛММ стабильно малых размеров, имело свои особенности. За последний год наблюдения у женщин данной группы отмечалось увеличение размеров матки на 4–10 недель беременности. К моменту обследования размеры матки вместе с миоматозными узлами соответствовали 10–20 неделям беременности. В данной группе опухоль имела, как правило, множественный характер (79,4 и 41,6% соответственно,  $p = 0,01$ ). Большинство пациенток предъявляли жалобы на нарушение менструальной функции по типу гиперполименореи (70,6 и 45,8% соответственно,  $p = 0,01$ ), а также отмечали наличие болевого синдрома (38,2 и 4,2% соответственно,  $p = 0,000$ ) и дизурических явлений (20,6 и 0% соответственно,  $p = 0,002$ ).

Все женщины второй клинической группы подвергались оперативному лечению, показаниями к которому служили быстрый рост опухоли, гиперполименорея, приводящая к анемии, болевой синдром, нарушение функции смежных органов. Объем оперативного вмешательства был следующим: у 69,7% больных была выполнена субтотальная гистерэктомия, у 6,1% – тотальная гистерэктомия, у 24,2% – миомэктомия ввиду молодого возраста и нереализованной репродуктивной функции. По данным гистологического исследования операционного материала у всех пациенток была установлена лейомиома матки, причем у 27 (40,9%) больных имели место явления пролиферации гладкомышечных воло-

кон, на основании чего эти пациентки отнесены в подгруппу с «истинным» типом роста опухоли. 39 (59,1%) женщин с выраженными дистрофическими изменениями узлов (отек, гиалиноз, склероз, некроз) составили подгруппу с «ложным» типом роста опухоли.

Для оценки клинической эффективности применения аГнРГ нами была сформирована группа из пациенток с быстрорастущей ЛММ, которым ввиду нереализованной репродуктивной функции было показано органосохраняющее оперативное лечение. Средний возраст женщин составил  $34,8 \pm 1,2$  года. По особенностям преморбидного фона пациентки данной группы во многом были схожи с группой женщин с быстрорастущей ЛММ. Особенностью анамнеза этих женщин была высокая частота бесплодия (53,3%), что согласуется с данными других авторов. Репродуктивная функция была реализована лишь у 60% пациенток.

Основными клиническими параметрами эффективности предоперационной терапии являлись: уменьшение размеров матки и миоматозных узлов по данным УЗИ и тяжести клинических симптомов основного заболевания.

На фоне проводимой терапии произошло изменение характера жалоб. Ведущими жалобами до лечения были: нарушение менструальной функции по типу гиперполименореи – у 10 (66,7%), боли внизу живота и поясничной области – у 4 (26,7%), дизурические расстройства – у 4 женщин (26,7%).

После лечения стали преобладать жалобы, связанные с эстрогендефицитным состоянием – у 5 (33,3%) пациенток. Приливы и потливость появились у 3 (20%), нарушение сна – у 2 (13,3%), эмоционального фона – у 3 (20%). На фоне лечения менструации отсутствовали, не был отмечен болевой синдром. При дальнейшем наблюдении менструации у всех пациенток были умеренными, безболезненными. Симптомы, связанные с пониженным эстрогенным фоном, регрессировали в течение 1–2 месяцев.

На фоне лечения аГнРГ уменьшение размеров матки и миоматозных узлов по данным УЗИ наблюдалось практически у всех женщин (93,3%).

Отсутствии изменений в объеме доминантного узла выявлено лишь у 1 пациентки (6,7%). Уменьшение объема матки в среднем произошло на 35,4% ( $p = 0,000$ ), а доминантного миоматозного

узла – на 35,2% ( $p = 0,000$ ). Курс лечения сопровождался повышением средней концентрации гемоглобина на 13,3% ( $p = 0,000$ ), количество эритроцитов увеличилось на 9,1% ( $p = 0,008$ ). Операция не вызывала технических затруднений, за исключением 1 случая (наличие более 20 миоматозных узлов).

По данным гистологического исследования операционного материала у всех пациенток была установлена лейомиома матки, причем активно пролиферирующие опухоли составили 20% (3), очагово пролиферирующие 20% (3) и стационарные без признаков пролиферации, но с выраженными субтотальными или тотальными дистрофическими изменениями – 60% (9).

Послеоперационная реабилитация является важнейшим этапом предгравидарной подготовки пациенток после миомэктоми. Она направлена на профилактику рецидива заболевания, нормализацию кровотока в маточных артериях, лечение анемии, формирование полноценного рубца на матке. С целью профилактики рецидива ЛММ всем пациенткам в течение 3 месяцев назначены аГнРГ. После оперативного лечения женщины наблюдались в течение 1 года.

Появление новых миоматозных узлов, по данным УЗИ, обнаружено у 1 женщины (6,7%) через 1 год после оперативного лечения.

Маточная беременность самостоятельно наступила у 4 пациенток (26,7%): 3 (20,0%) из них сохраняют беременность, у 1 (6,7%) произошло самопроизвольное прерывание беременности в ранние сроки.

Проведенные ранее исследования свидетельствуют о значительных иммунных нарушениях, на фоне которых происходит развитие и рост ЛММ. Однако до сих пор остаются недостаточно изученными механизмы регуляции системного и локального иммунного ответа у женщин с ЛММ в зависимости от темпа и морфологических типов роста опухоли.

Установлено, что у пациенток с ЛММ независимо от темпа роста опухоли в эндометрии повышалось содержание ЕК ( $27,5 \pm 2,19\%$  – контрольная группа,  $35,4 \pm 1,14\%$  – ЛММ,  $p = 0,000$ ); а также уровень ЕК, экспрессирующих активирующие рецепторы CD158i+ ( $4,52 \pm 0,66\%$  – контрольная группа,  $7,43 \pm 0,61\%$  – ЛММ,  $p = 0,002$ ) и ингибирующие рецепторы CD158a+ ( $4,86 \pm 0,7\%$  – контрольная группа,  $8,14 \pm 0,5\%$  – ЛММ,  $p = 0,000$ ). Как

известно, основная функция ЕК – цитотоксическая активность в отношении трансформированных и инфицированных вирусами клеток.

Наши данные о высоком содержании ЕК в эндометрии согласуются с полученными ранее результатами у женщин с ЛММ, что позволяет судить о реакции иммунной системы на появление в миометрии трансформированных клеток. Функция KIR рецепторов заключается в активации или ингибировании цитотоксических реакций ЕК. Нарушение баланса в экспрессии рецепторов может приводить к нарушению элиминирующей функции ЕК в отношении опухолевых клеток и микробных агентов.

Быстрый рост ЛММ был ассоциирован с увеличением в периферической крови уровня ЕК ( $16,24 \pm 1,47\%$  – контрольная группа,  $17,78 \pm 1,03\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $21,16 \pm 1,05\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,01$  и  $p = 0,03$  соответственно), уровня ЕК-Т клеток ( $3,75 \pm 0,45\%$  – контрольная группа,  $3,61 \pm 0,46\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $5,41 \pm 0,34\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,007$  и  $p = 0,003$  соответственно), а также со снижением в эндометрии количества ЕК-Т клеток, экспрессирующих активирующие CD158i+ рецепторы ( $4,38 \pm 0,81\%$  – контрольная группа,  $3,06 \pm 0,26\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $2,39 \pm 0,32\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,028$  и  $p = 0,002$  соответственно) и ингибирующие CD158a+ рецепторы ( $7,49 \pm 0,83\%$  – контрольная группа,  $4,89 \pm 0,47\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $2,96 \pm 0,43\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,000$  и  $p = 0,006$ ). Известно, что ЕК-Т обеспечивают противоопухолевую защиту, выполняя цитотоксическую функцию в отношении измененных клеток. Снижение экспрессии активирующих рецепторов, вероятно, приводит к нарушению цитотоксической функции ЕК-Т клеток. В ранее проведенных исследованиях была показана роль вирусного инфицирования в развитии ЛММ, что согласуется с полученными нами данными о высокой частоте назолабиального герпеса у женщин с быстрорастущей ЛММ. Вероятно, вирусное инфицирование может быть одним из факторов, который приводит к быстрому росту опухоли, и высокое содержание ЕК и ЕК-Т клеток в периферической крови отражает развитие системного иммунного ответа на вирусные инфекции.



Отличительной особенностью женщин с ЛММ стабильно малых размеров является увеличение в периферической крови ЕК ( $1,67 \pm 0,27\%$  – контрольная группа,  $2,14 \pm 0,12\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $3,0 \pm 0,28$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $p = 0,002$  и  $p = 0,01$  соответственно) и лимфоцитов ( $8,11 \pm 1,01\%$  – контрольная группа,  $10,97 \pm 0,79$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $p = 0,03$ ), внутриклеточно продуцирующих IFN $\gamma$ ; в эндометрии – увеличение ЕК ( $4,1 \pm 0,72\%$  – контрольная группа,  $6,96 \pm 0,87\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $p = 0,017$ ) и лимфоцитов ( $9,23 \pm 0,95\%$  – контрольная группа,  $13,89 \pm 1,52\%$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $p = 0,014$ ), внутриклеточно продуцирующих IFN $\gamma$ . Известно, что IFN $\gamma$  подавляет пролиферацию и ангиогенез опухоли, способствует развитию апоптоза опухолевых клеток, а также активирует клетки противоопухолевого иммунного ответа. Полученные нами данные о повышенной продукции IFN $\gamma$  иммунными клетками на системном и локальном уровне у женщин с ЛММ стабильно малых размеров позволяют говорить о важной роли активации противоопухолевого иммунитета в стабилизации роста опухоли.

При анализе взаимосвязи иммунологических показателей с морфологическим типом роста ЛММ было установлено, что при «истинном» типе в периферической крови повышено содержание ЕК по сравнению с показателями контрольной группы и параметрами женщин с «ложным» ростом ( $16,24 \pm 1,47$  – контрольная группа,  $18,54 \pm 1,13$  – «ложный» тип роста,  $24,06 \pm 1,67$  – «истинный» тип роста,  $p = 0,001$  и  $p = 0,009$  соответственно) и ЕК, экспрессирующих ингибирующие CD158a+ рецепторы по сравнению с показателями группы с «ложным» ростом ( $3,49 \pm 0,38$  – «ложный» тип роста,  $4,96 \pm 0,55$  – «истинный» тип роста,  $p = 0,036$ ). В эндометрии установлено увеличение содержания ЕК по сравнению с показателями контрольной группы и параметрами женщин с «ложным» ростом ( $12,3 \pm 1,85$  – контрольная группа,  $14,76 \pm 1,47$  – «ложный» тип роста,  $19,21 \pm 1,41$  – «истинный» тип роста,  $p = 0,000$  и  $p = 0,044$  соответственно). Ранее было показано, что «истинный» тип быстрого роста ЛММ был ассоциирован с увеличением в эндометрии уровня CD16+ ЕК. Полученные нами данные о высоком содержании ЕК и ЕК-Т клеток

позволяют говорить о реакции иммунной системы на появление в миометрии трансформированных клеток.

Кроме того, «истинный» тип роста опухоли ассоциируется со снижением в периферической крови ЕК-Т клеток, экспрессирующих активизирующие CD158a+ рецепторы, по сравнению с показателями группы «ложного» типа ( $0,54 \pm 0,07$  – «истинный» тип роста,  $1,86 \pm 0,29$  – «ложный» тип роста,  $p = 0,000$ ). По-видимому, низкий уровень CD3+CD56+CD158i+ лимфоцитов в периферической крови свидетельствует о нарушении активации цитотоксических реакций ЕК-Т в отношении инфицированных и трансформированных клеток.

При проведении ретроспективного анализа содержания ЕК-Т, экспрессирующих активизирующие рецепторы (CD158i+) в периферической крови женщин с быстрорастущей ЛММ в зависимости от типа роста опухоли, было установлено, что низкие значения показателя CD3+CD56+ CD158i+ ( $0,8\%$  и менее) позволяют с высокой точностью диагностировать «истинный» тип роста ЛММ. Точность диагноза составляет  $88,2\%$ , специфичность –  $92,9\%$ , чувствительность –  $85\%$ . На основании полученных данных нами был разработан «Способ дифференциальной диагностики типов роста миомы матки». Установленный диагностический параметр может быть рекомендован для внедрения в практическое здравоохранение, так как своевременная диагностика типов роста опухоли дает важную информацию, необходимую для выбора оптимальной тактики ведения больной.

В эндометрии у женщин с «ложным» ростом опухоли отмечается снижение уровня ЕК-Т, экспрессирующих активизирующие CD158i+ рецепторы ( $4,38 \pm 0,81$  – контрольная группа,  $1,8 \pm 0,28$  – «ложный» тип роста,  $p = 0,004$ ) и ингибирующие CD158a+ рецепторы ( $7,49 \pm 0,83$  – контрольная группа,  $2,39 \pm 0,39$  – «ложный» тип роста,  $p = 0,000$ ). По данным литературы, морфологическими признаками «ложного» типа роста ЛММ являются развитие вторичных изменений в опухолевых узлах. По-видимому, выявленное нами снижение уровня ЕК-Т, экспрессирующих активизирующие

рецепторы в эндометрии, может быть непосредственно причиной развития воспаления и отека в миометрии, ведущего к увеличению размеров матки у пациентов данной группы.

Одним из факторов, стимулирующих рост сосудов и пролиферацию эндотелиальных клеток, является VEGF. Установлено, что количество VEGF-положительных капилляров ( $23,71 \pm 8,09$  сосудов в мм<sup>2</sup> – «ложный» тип роста,  $33,09 \pm 2,17$  – «истинный»,  $p = 0,004$ ) и интрамуральных артерий ( $0,78 \pm 0,08$  сосудов в мм<sup>2</sup> – «ложный» тип роста,  $1,01 \pm 0,06$  – «истинный»,  $p = 0,025$ ) в узлах пролиферирующей лейомиомы достоверно выше, чем в узлах с вторичными изменениями. Выявленная экспрессия VEGF-A отмечается в группе с «истинным» типом роста опухоли в цитоплазме эндотелиальных клеток капилляров ( $174,0 \pm 8,09$  усл. ед. – «ложный» тип роста,  $252,0 \pm 5,08$  усл. ед. – «истинный»,  $p = 0,000$ ) лейомиомы, а также интрамуральных артериях мышечного типа ( $171,0 \pm 0,03$  усл. ед. – «ложный» тип роста,  $216,8 \pm 7,02$  усл. ед. – «истинный»,  $p = 0,000$ ). Слабая экспрессия VEGF-A определяется в гладкомышечных клетках лейомиом как с «истинным», так и с «ложным» ростом узла ( $p > 0,05$ ). Таким образом, установлено, что пролиферирующие лейомиомы лучше васкуляризованы, чем дистрофически измененные узлы. Одним из факторов, способствующих росту сосудов в миоматозных узлах, является высокая экспрессия VEGF эндотелиальными клетками.

Важную роль в регуляции процессов клеточной пролиферации и иммуносупрессии принадлежит трансформирующему фактору роста  $\beta$  (TGF $\beta$ ). Известно, что TGF $\beta$ 1 играет ключевую роль в процессах тканевого морфогенеза и роста ЛММ. Мы провели оценку продукции и рецепции этого фактора на системном уровне, в эндометрии и непосредственно в ткани миоматозного узла.

В зависимости от темпов роста ЛММ установлено, что развитие быстрого роста опухоли сопровождалось повышением в эндометрии уровня ЕК ( $4,71 \pm 0,61\%$  – контрольная группа,  $5,93 \pm 0,57$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $8,45 \pm 0,95\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,003$  и  $p = 0,032$  соответственно) и лимфоцитов ( $12,3 \pm 1,85\%$  – контрольная группа,  $11,12 \pm 0,88$  – ЛММ стабильно малых размеров,  $17,13 \pm 1,12\%$  – быстрорастущая ЛММ,  $p = 0,039$  и  $p = 0,000$  соответственно), внутриклеточно продуцирующих TGF $\beta$ 1. Таким образом, формирование и быстрый рост ЛММ сопровождается повышенным уровнем ЕК и ЕК-Т на системном и локальном уровнях. Можно



предположить, что избыточная продукция TGFβ1 приводит к нарушению цитотоксической функции этих клеток и создает благоприятные условия для быстрого роста опухоли.

Продукция TGFβ1 зависела и от типа роста опухоли. Нами выявлено, что «истинный» рост миомы сопровождался повышением продукции TGFβ1 периферическими лимфоцитами ( $9,75 \pm 1,11$  – «ложный» тип роста,  $12,98 \pm 1,09$  – «истинный»,  $p = 0,047$ ), а также эндометриальными ЕК ( $4,71 \pm 0,61$  – контрольная группа,  $6,97 \pm 1,08$  – «ложный» тип роста,  $10,56 \pm 1,17$  – «истинный»,  $p = 0,000$  и  $p = 0,044$  соответственно) и лимфоцитами ( $12,3 \pm 1,85$  – контрольная группа,  $14,76 \pm 1,47$  – «ложный» тип роста,  $19,21 \pm 1,41$  – «истинный»,  $p = 0,000$  и  $p = 0,044$  соответственно). Таким образом, увеличение продукции TGFβ1 в эндометрии наиболее выражено у женщин с «истинным» типом роста ЛММ. Вероятно, активация локальных иммуносупрессорных реакций играет определяющую роль в усилении процессов клеточной пролиферации в миометрии.

Для уточнения роли TGFβ1 в механизмах роста ЛММ мы оценили продукцию данного фактора роста непосредственно в ткани миоматозного узла. Нами выявлено увеличение уровня экспрессии мРНК TGFβ1 в ткани миоматозного узла женщин с «истинным» типом роста опухоли по сравнению с тканью миоматозных узлов пациенток с «ложным» типом быстрого роста ЛММ ( $28,38 \pm 8,83 \times 10^3$  копий пар в мкл – «истинный» тип роста,  $6,95 \pm 3,2 \times 10^3$  копий пар в мкл – «ложный»,  $p = 0,025$  и  $p = 0,004$  соответственно). Наши данные о высоком содержании TGFβ1 в эндометрии и миометрии согласуются со сведениями литературы (Бойко О. М. 2009; Малышкина А. И. и др., 2010, Ciarmela P. et al., 2011). Однако, учитывая наши результаты, свидетельствующие о повышении продукции TGFβ1 в периферической крови, эндометрии, а также в ткани миоматозного узла при быстрорастущей ЛММ и о связи с нарушением цитотоксической функции ЕК и ЕК-Т клеток, можно предположить, что его роль многозначна. Увеличение TGFβ1 в ткани миоматозного узла связано с пролиферацией гладкомышечных клеток и синтезом экстрацеллюлярного матрикса, лежащих в основе быстрого роста ЛММ. В то же время изменения продукции TGFβ1, по-видимому, обуславлива-

ют угнетение противоопухолевого иммунитета, что приводит к ослаблению иммунного надзора и способствует росту миоматозных узлов.

Оценка иммунологических показателей периферической крови женщин, получавших лечение аГнРГ, производилась дважды – до начала предоперационного лечения и после его окончания. Показатели исходного состояния иммунокомпетентных клеток сравнивались с аналогичными данными у женщин после проведенного лечения препаратами аГнРГ.

Следует отметить, что исходный иммунный фон в целом был характерен для группы женщин с быстрорастущей ЛММ. Анализ данных по продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками периферической крови у этих пациенток после лечения позволил выявить достоверное увеличение относительного содержания лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих IFNγ, по сравнению с показателями до лечения ( $8,53 \pm 0,55$  – до лечения,  $11,99 \pm 1,32$  – после лечения,  $p = 0,04$ ). Кроме того, отмечалось значительное снижение относительного содержания лимфоцитов периферической крови, внутриклеточно продуцирующих TGFβ1, по сравнению с показателями до лечения ( $12,76 \pm 1,7$  – до лечения,  $8,34 \pm 1,16$  – после лечения,  $p = 0,02$ ).

Суммируя полученные данные, можно заключить, что изменения противоопухолевого иммунитета на системном и локальном уровнях играют важную роль в патогенезе быстрого роста ЛММ. Проведенное нами исследование влияния агонистов ГнРГ на клинико-иммунологические показатели у женщин с быстрорастущей ЛММ, позволило подтвердить их высокую клиническую эффективность и установить новые механизмы воздействия на выявленные иммунные нарушения.

## Выводы

1. Клинико-anamnestическими факторами риска быстрого роста миомы матки у женщин репродуктивного возраста являются сочетание основного заболевания с ожирением (ОР 1,37), хроническим нозолабиальным герпесом (ОР 1,28), варикозной болезнью нижних конечностей (ОР 1,3). Фактором, снижающим риск быстрого роста миомы матки, является использование комбинированных оральных контрацептивов (ОР 0,46).

2. Наличие интерстициальной миомы матки у женщин вне зависимости от темпа роста опухоли ассоциируется с увеличением в эндометрии по сравнению с показателями здоровых женщин общего количества естественных киллеров, а также уровня естественных киллеров, экспрессирующих активирующие (CD158i+) и ингибирующие (CD 158a+) KIR рецепторы, снижением содержания естественных киллерных Т-лимфоцитов, экспрессирующих ингибирующие (CD 158a+) рецепторы.

3. У женщин с быстрым ростом миомы матки имеет место увеличение в периферической крови общего количества естественных киллеров и естественных киллерных Т-лимфоцитов; в эндометрии повышение уровня естественных киллеров и лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих TGFβ1; снижение количества естественных киллерных Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующие (CD 158i+) и ингибирующие (CD158a+) рецепторы. Отличительной особенностью женщин с миомой матки стабильно малых размеров является увеличение в периферической крови и эндометрии естественных киллеров, внутриклеточно продуцирующих IFNγ.

4. Маркерами «истинного» типа быстрого роста миомы матки является высокое содержание в периферической крови и эндометрии естественных киллеров и лимфоцитов, внутриклеточно продуцирующих TGFβ1; кроме того, в периферической крови – увеличение количества естественных киллеров, экспрессирующих ингибирующие (CD 158a+) рецепторы; в ткани миоматозных узлов – усиление экспрессии мРНК TGFβ1, повышение индекса экспрессии VEGF-A в эндотелии капилляров и интрамуральных артерий миоматозных узлов.

5. Низкое содержание CD3+CD56+CD158i+ лимфоцитов (0,8% и менее) в периферической крови позволяют с точностью 88,2% диагностировать «истинный» тип роста опухоли у женщин с быстрорастущей миомой матки.

6. Агонисты гонадотропных рилизинг-гормонов не оказывают влияние на содержание и функциональное состояние естественных киллеров у женщин с быстрорастущей миомой матки, но увеличивают в периферической крови уровень IFNγ+ лимфоцитов и нормализуют уровень TGFβ1+ лимфоцитов.

**Практические рекомендации**

1. Рекомендуется при диспансерном наблюдении больных с миомой матки учитывать следующие клиническо-анамнестические факторы для выделения женщин в группу риска быстрого роста опухоли: наличие часто рецидивирующего назолабиального герпеса, ожирения, варикозной болезни нижних конечностей. Фактором, снижающим быстрый рост миомы матки, является гормональная контрацепция.

2. Для дифференциальной диагностики «ложного» и «истинного» типа быстрого роста миомы матки рекомендуется определять содержание CD3+CD56+CD158i+ лимфоцитов в периферической крови. При содержании в периферической крови CD3+CD56+CD158i+ лимфоцитов 0,8% и менее диагностируется «истинный» тип быстрого роста миомы матки с точностью 88,2%, при значении данного показателя более 0,8% устанавливается диагноз «ложного» типа роста опухоли.

**Литература**

1. Характер экспрессии KIR рецепторов естественными киллерными Т-лимфоцитами в эндометрии при миоме матки различных темпов роста / А. А. Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Д. Н. Воронин, М. Л. Добрынина, А. О. Лицова // Проблемы репродукции. – 2012. – Спец. вып. – С. 186.  
 2. Лицова, А. О, Особенности системной и локальной продукции цитокинов у женщин с миомой матки различных темпов роста / А. О. Лицова, А. И. Малышкина, Д. Н. Воронин // Российский иммунологический журн. – 2012. – Т. 6 (14), № 2 (1). – С. 105–106.  
 3. Характер экспрессии KIR рецепторов естественными киллерными Т-лимфоцитами в эндометрии при миоме матки различных типов роста / А. О. Лицова, А. И. Малышкина, Н. Ю. Сотникова, Д. Н. Воронин // Российский иммунологический журнал. – 2013. – № 7 (16). – С. 271.

**Список сокращений**

- aГнРГ – агонист гонадотропных рилизинг-гормонов  
 ДИ – доверительный интервал  
 ЕК – естественный киллер  
 ЕК-Т – естественный киллерный Т-лимфоцит  
 КОК – комбинированная оральная контрацепция  
 мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота  
 ОР – относительный риск  
 УЗИ – ультразвуковое исследование  
 CD – кластер дифференцировки  
 FITC – флюоресцеин изотиоцианат  
 IFN – интерферон  
 KIR – рецепторы на ЕК и ЕК-Т клетках  
 РЕ – фикоэритрин  
 TGF – трансформирующий фактор роста  
 VEGF – васкулярно-эндотелиальный фактор роста

**Сведения об авторах:**

Лицова А.О., кандидат мед. наук, «Ивановский НИИ материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России  
 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20. Тел.: +7 (4932) 33-62-63.

**About the authors:**

Litsova A.O., Candidate of Medicine, Ivanovo Research Institute of motherhood and the childhood name V.N. Horodkova of Ministry of health of Russia.  
 Pobedy Street 20, Ivanovo, 153045, Russia. Tel.: +7 (4932) 33-62-63.



**ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛ**

**в каталоге «Роспечать»**

**индекс 80709**

Линченко Н.А.

## Факторы риска возникновения истмико-цервикальной недостаточности и способы её коррекции

Волгоградский государственный медицинский университет, Минздрава РФ

Истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН) является основной причиной невынашивания беременности во 2-ом триместре беременности (до 40%), а в третьем триместре ИЦН встречается в каждом 3-м случае преждевременных родов. Ряд авторов утверждает, что применение консервативного лечения для профилактики преждевременных родов при ИЦН более эффективно, чем традиционный хирургический метод. Несмотря на значительные успехи, достигнутые в разработке способов коррекции ИЦН, необходимо признать, что основой их является механическое воздействие, хотя известно, что дисфункциональная форма несостоятельности шейки матки обусловлена именно гормональными нарушениями. Цель исследования - улучшить перинатальные исходы при ИЦН на основе дифференцированного подхода к её коррекции до и во время беременности. Выявлено, что рецепторный аппарат эндометрия относительно сохранен у пациенток с анатомической формой истмико-цервикальной недостаточности: выраженная и умеренная экспрессия прогестерон-рецепторов диагностирована у 84,3%, в отличие от пациенток с дисфункциональной формой несостоятельности шейки матки, у которых обнаружена слабая экспрессия прогестерон-рецепторов у 61,5% и их полное отсутствие у 38,5% пациенток.

**Ключевые слова:** истмико-цервикальная недостаточность, хронический эндометрит, рецепторный аппарат, невынашивание беременности.

Linchenko N.A.

## Risk factors of cervical incompetence and the ways of its correction

Volgograd State Medical University

Cervical incompetence (HER AMNION PROTRUDES LIKE) is the main cause of miscarriage in the second trimester (up to 40%), and in the third trimester of HER AMNION PROTRUDES LIKE occurs in each 3-m case preterm birth. Some authors have claimed that the use of conservative treatment for the prevention of preterm labour with HER AMNION PROTRUDES LIKE is more effectively than the traditional surgical method. Despite significant progress in the development of options to correct HER AMNION PROTRUDES LIKE, it must be recognized that the basis is the mechanical effect. Although it is known that the dysfunctional form of incompetence, the cervix is caused by the hormonal disorders. The purpose of the study is to improve perinatal outcome in HER AMNION PROTRUDES LIKE based on a differentiated approach to the correction before and during pregnancy. Found that the receptor apparatus of the endometrium of patients with preserved anatomical form of cervical incompetence: expressed moderate expression of progesterone receptors in 84.3%, in contrast to patients with dysfunctional form of incompetence of the cervix, which detected weak expression of progesterone-receptors in 61.5% and the total lack of 38.5% of patients.

**Key words:** cervical incompetence, chronic endometritis, receptor apparatus, miscarriage.

Среди важнейших вопросов практического акушерства одно из первых мест занимает проблема невынашивания беременности. Частота самопроизвольных выкидышей составляет от 15 до 20% от всех желанных беременностей. Преждевременные роды один из важнейших вопросов данной проблемы, которая встает остро в связи с переходом Российской Федерации на учет новорожденных с 22 недель гестации и 500 г массы тела. Частота преждевременных родов варьирует от 5 до 11% в структуре всех родов. Несмотря на относительно небольшой процент данной патологии, именно преждевременными родами обусловлено до 70% общей перинатальной смертности в развитых странах. При этом истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН) является основной причиной невынашивания беременности во 2-ом триместре беременности (до 40%), а в третьем триместре ИЦН встречается в

каждом 3-м случае преждевременных родов. Огромное социальное значение приобретает данная проблема, учитывая высокую стоимость выхаживания недоношенных детей. По данным А. Antsaklis (2008 г.), стоимость медицинской помощи недоношенным новорожденным составляет 33 200 долларов на одного ребенка.

Всеми специалистами признается, что течение беременности во многом обусловлено прегравидарной подготовкой, однако точных рекомендаций и их патогенетического обоснования для планирования беременности при данной патологии нами найдено не было.

Способы коррекции несостоятельности шейки матки достаточно разнообразны. В настоящее время наибольшую распространенность получили хирургический метод (наложение швов на шейку матки) и консервативный (поставка акушерского пессария). Ряд авторов утверждает, что применение кон-

сервативного лечения для профилактики преждевременных родов при ИЦН более эффективно, чем традиционный хирургический метод (А.Ю. Журавлев, 2006 г., Н.Ю. Сакварелидзе, 2013 г.). Другие исследования показали, что при проведении эффективного церкляжа младенческая выживаемость повышается до 93%, против 27% – при его отсутствии, и что у пациенток с классическим анамнезом несостоятельности шейки матки хирургическая коррекция – это метод выбора при лечении данной патологии (F.K. Lotgering, 2007 г., N.Saba 2008 г., AJ Drakeley, 2010 г.). Тем не менее, по данным рандомизированных контролируемых исследований, нет убедительных данных в пользу какого-либо из предлагаемых методов.

Несмотря на значительные успехи, достигнутые в разработке способов коррекции ИЦН, необходимо признать, что основой их является механическое воздействие, хотя известно, что дис-

функциональная форма несостоятельности шейки матки обусловлена именно гормональными нарушениями.

В связи с этим, необходимо уточнение патогенетических механизмов возникновения ИЦН, и, основываясь на них дифференцированно подходить к выбору адаптированных методов лечения данной патологии.

Цель исследования – улучшить перинатальные исходы при ИЦН на основе дифференцированного подхода к её коррекции до и во время беременности.

### Задачи исследования

1. Изучить факторы риска истмико-цервикальной недостаточности.

2. Провести анализ гормонального фона женщин с ИЦН вне беременности в корреляции с иммуногистохимической и гистологической характеристикой эндометрия.

3. Обосновать дифференцированный подход коррекции ИЦН на основе выявленных патогенетических механизмов.

4. Разработать алгоритм обследования и поэтапной прегравидарной подготовки женщин с ИЦН вне беременности.

5. Обосновать критерии для дифференцированной тактики ведения беременности у женщин с ИЦН.

6. Оценить эффективность предлагаемой методики.

Проведено нерандомизированное, контролируемое, открытое исследование 181 пациентки с истмико-цервикальной недостаточностью и 50 женщин с угрозой прерывания беременности без явлений несостоятельности шейки матки.

Клиническое наблюдение, обследование и лечение больных проводилось на клинических базах Волгоградского Областного Клинического Перинатального Центра №2 и клиники №1 Волгоградского Государственного Медицинского Университета.

Работа проводилась в 2 этапа. На первом этапе исследования нами ретроспективно были изучены 110 историй болезни пациенток с истмико-цервикальной недостаточностью (ИЦН) с целью выявления возможных факторов риска возникновения несостоятельности шейки матки по специально разработанной анкете. Для контроля полученных данных были проанализированы 50 историй болезни пациенток с угрозой прерывания беременности во втором и третьем триместре без признаков ИЦН.

### Схема 1.

Анатомическая форма 32 пациентки	Дисфункциональная форма 39 пациенток
-------------------------------------	---

Недостаточность обеих фаз цикла – 10 (31,25%);  
– слабая экспрессия прогестерон-рецепторов у 5 (15,6%);  
– умеренная и выраженная экспрессия прогестерон рецепторов у 27 (84,3%);  
– слабая экспрессия альфа-эстроген-рецепторов у 25 (78,1%).

Признаки хронического воспаления 51,2%.

На втором этапе обследовалось 130 пациенток с ИЦН. В основную группу была включена 71 пациентка, планирующая беременность. В данной группе проводилась профилактическая прегравидарная подготовка по предлагаемой методике. Группа сравнения была составлена ретроспективно, в неё вошли 59 пациенток, прегравидарная подготовка и коррекция ИЦН которым проводилась по общепринятой схеме.

Пациентки основной группы были разделены на две подгруппы в зависимости от формы ИЦН. Для дифференцировки вида несостоятельности шейки матки пациенткам основной группы выполнялась метросальпингография с использованием прогестероновой пробы. На основе проведенного исследования были выделены две подгруппы. Первая подгруппа включала в себя 32 пациентки с анатомическим типом ИЦН, обусловленной появлением рубцовой ткани после внутриматочных вмешательств, сопровождающихся инструментальным расширением шейки матки, или после разрывов шейки матки в родах.

Во вторую подгруппу вошли 39 пациенток, у которых были выявлены дисгормональные нарушения, в связи с чем, более рационально её впоследствии называть дисфункциональной, в отличие от общепринятого термина функциональная.

Всем пациенткам основной группы вне беременности проводилось обследование гормонального фона на 3–5 и на 21–23 день менструального цикла. Кроме того, для выявления гормонозависимых рецепторов пациенткам основной группы на 21–24 день цикла выполнялось иммуногистохимическое (ИГХ) и гистологическое исследование эндометрия в корреляции с исследованием гормонального профиля (прогестерон, эстрадиол

Недостаточность секреторной трансформации эндометрия (НЛФ) – 22 (56,5%);

– слабая экспрессия прогестерон-рецепторов у 24 (61,5%);

– полное отсутствие экспрессии прогестерон-рецепторов у 15 (38,4%);

– слабая экспрессия альфа-эстроген-рецепторов у 33 (84,6%).

Признаки хронического воспаления 93,5%.

на 21–23 день цикла). Интенсивность ИГХ реакций оценивали по методу гистологического счета H-score. Материал для исследования забирался путем пайпель-биопсии эндометрия или гистероскопии при наличии на то показаний.

Проводимое обследование начиналось за 4–5 месяцев до предполагаемой беременности.

Основываясь на полученных данных обследования, был разработан алгоритм поэтапной прегравидарной подготовки у женщин с ИЦН вне беременности. Данные обследования представлены на *схеме 1*.

Комплексная прегравидарная подготовка у пациенток основной группы начиналась за 3 месяца до предполагаемой беременности, после получения данных обследования. Все пациентки вне зависимости от формы ИЦН получали:

1. Седативную терапию (настойка пустырника по 30 кап. 3 р/д, валериана по 1 т. 3 р/д).

2. Метаболическую терапию, витаминотерапию: витамин Е 200 мг 1 р/д, фолиевую кислоту 800 1 р/д (Элевит пренаталь 1 таб. 1 р/д).

На первом этапе прегравидарной подготовки в случае выявления хронического эндометрита проводился курс противовоспалительной и иммуномодулирующей терапии, который заключался в антибактериальной локальной терапии (внутриматочное введение катеджеля или инстиллагеля 2.0 №5) и в/в введение антибактериальных препаратов (группа фторхинолонов или цефалоспоринов 3-го поколения в сочетании с метрогилом в/в по 100,0 2 р/д), при необходимости противовирусную терапию (неовир 2,0 в/м, циклоферон 2,0 в/м по схеме), свечи полиоксидоний вагинально 10 дней, санацию влагалища с учетом выявленной флоры.



Схема 2.

**Прегравидарная подготовка у пациенток с ИЦН**  
**Прегравидарная подготовка у пациенток с ИЦН**

Анатомическая ИЦН		Дисфункциональная ИЦН
93,5%	Курс противовоспалительной терапии	51,2%
100%	ФТЛ	100%
31,25%	Утрожестан 200 мг с 16 по 25 д.ц.	100%
31,25%	Прогинова 1 т. 2 р/д с 3 по 17 д.ц.	100%

Вторым этапом прегравидарной подготовки проводился курс физиотерапевтического лечения на фоне терапии улучшающей реологию и микроциркуляцию (актовегин 5,0 №5 в/в, лазеротерапия №10, электрофорез с медью на низ живота № 8–10, магнитотерапия № 8–10).

Курс ФТЛ начинался сразу после окончания менструации, в следующем цикле после завершения курса антибактериальной терапии.

Лазеротерапия проводилась с использованием аппарата «Рикта» по схеме №4: реабилитация при хронических воспалительных заболеваниях малого таза, магнитотерапия с использованием аппарата «Полус-2М» в импульсном режиме 8–10 процедур, электрофорез с медью с использованием аппарата «Поток-1» 8–10 процедур по 20 минут с силой тока 10–12 ампер.

Основываясь на результатах исследования гормонального профиля и данных иммуногистохимического исследования всем пациенткам с дисфункциональной формой ИЦН на этапе прегравидарной подготовки проводилась гормонотерапия: прогинова по 1 т. 2 р/д с 3-го по 17 д.ц, утрожестан 200 мг 2 р/д с 16 по 25 д.цикла. В группе пациенток с анатомическим вариантом ИЦН данная гормональная терапия проводилась только в случае выявления недостаточности обеих фаз цикла или НЛФ (схема 2).

Гормональная терапия проводилась в течение 3-х менструальных циклов. При наступлении беременности у пациенток ранее получавших гормональную поддержку, она была продолжена до 5–6 недель беременности.

Коррекция ИЦН проводимая во время беременности осуществлялась дифференцировано, в зависимости от формы ИЦН. У пациенток с дисфункциональной ИЦН продолжалась гормональная поддержка утрожестаном 200 мг 2 р/д до 34 недель беременности. При выявлении укорочения шейки матки во втором триместре по данным УЗИ, у пациенток данной группы лечение допол-

нялось введением акушерского пессария. При этом, длина шейки матки равная 3 см расценивалась как критическая для угрозы прерывания беременности. У пациенток с анатомическим вариантом ИЦН проводилось элективное наложение П-образных швов на шейку матки в сроках от 12 до 14 недель, и терапия утрожестаном по 200 мг 2 р/д до 34 недель у пациенток с ранее выявленной НЛФ (схема 3).

В группу сравнения, составленную ретроспективно, вошли 59 пациенток, принципы проводимой прегравидарной подготовки и ведения беременности у которых были общепринятыми и включали в себя курс антибактериальной, противовоспалительной терапии препаратами группы фторхинолонов или цефалоспоринов 3-го поколения в течение 7 дней и назначение КОК на 6 месяцев в режиме контрацепции после прерывания беременности. Стоит отметить, что у 39% пациенток группы сравнения (23 человека) прегравидарная подготовка не проводилась.

Коррекция истмико-цервикальной недостаточности во время беременности в группе сравнения проводилась путем наложения П-образного шва на шейку матки в сроке от 13–14 до 19–20 недель беременности, в зависимости от сроков начала прогрессирования ИЦН, и дополнялась последующей установкой акушерского пессария или только введением акушерского пессария. Гормональная

Схема 3.

**Дифференцированный подход к ведению пациенток с ИЦН во время беременности.**  
**Коррекция ИЦН во время беременности**

Анатомическая ИЦН	Дисфункциональная ИЦН
1. Прогинова по 2 мг 1 р/д до 5–6 недели беременности + утрожестан 100 мг 2р/д у пациенток до 12–14 недели с НЛФ	1. Прогинова по 2 мг 1 р/д до 5–6 недели беременности
2. Наложение П-образных швов на шейку матки в 12–14 недель	2. Утрожестан 200 мг 2 р/д с 5–6 до 34 недели
3. Утрожестан 200 мг 2 р/д с 12–14 до 34 недели у пациенток с НЛФ	3. Акушерский пессарий при укорочении шейки матки по данным УЗИ

поддержка проводилась препаратами гестагенов (утрожестан 200 мг 3 р/д) начиная с 7–8 недель только у 22 (37,3%) беременных, из них до 12 недель – 2 (3,4%), до 19–20 недель – 20 (33,9%) пациенток.

Критериями эффективности предлагаемых схем прегравидарной подготовки и ведения беременности являлись течение наступившей беременности, своевременность родоразрешения, перинатальные исходы.

Для статистической обработки полученных данных использовали методы непараметрической статистики. Для оценки межгрупповых различий применяли критерий однородности, критерий Манна-Уитни и критерий Вилкоксона.

**Результаты обследования и их обсуждение**

С целью выявления факторов риска нами был проведен ретроспективный анализ 110 историй болезней пациенток с ИЦН. В результате было выявлено, что пациентки с ИЦН старше 30 (32±0,8) лет, в отличие от группы контроля, где средний возраст составил 27,4±1,6 лет.

Обращает на себя внимание тот факт, что значительное количество пациенток основной группы имели избыточный вес – 26,15%, а более 13% страдали ожирением I и II степени, что по нашему мнению свидетельствует о нарушении функции нейро-эндокринной системы у данных женщин. В группе контроля 90% беременных были нормостенического телосложения.

Таким образом, в группу риска по возникновению ИЦН в результате наших исследований были отнесены женщины с избыточной массой тела и ожирением, что не согласуется с данными Н.В Сатышевой (2009 г.) где автор показала, что значительная часть пациенток с данной патологией имели росто-весовой коэффициент Варги от 1,451,7, что свидетель-

ствуется о дефиците массы тела у обследованных. В результате наших исследований только у 4 пациенток (3,63%) был выявлен дефицит массы тела.

Следует отметить, что большинство пациенток с ИЦН многократно беременевшие и рожавшие женщины. Третьей данная беременность была у 20,9%, четвертой у 13,6%, шестой – у 11,8%, восьмой – у 6,3% пациенток. В связи с чем, данная категория беременных должна на наш взгляд относиться к группе повышенного риска по развитию данной патологии, хотя последние беременности прерывались уже по поводу истмико-цервикальной недостаточности.

Поздние потери беременности в анамнезе имели 62,7% пациенток с ИЦН, из них у 38,2% были поздние самопроизвольные выкидыши, а у 40% – преждевременные роды. Это согласуется с данными большинства авторов, указывающих на то, что ранее произошедшие поздние самопроизвольные выкидыши и преждевременные роды являются значимыми факторами риска возникновения ИЦН в следующих беременностях (С.Е. Мельникова, 2006 г., Н.М. Подзолкова, 2010 г., В.М. Сидельникова, 2010 г.). Достаточно часто, именно данные анамнеза настораживают клиницистов и на них базируется диагноз несостоятельности шейки матки вне беременности.

Проведенный ретроспективный анализ историй пациенток с ИЦН выявил, что большая часть женщин (66,4%) перенесли внутриматочные вмешательства с расширением цервикального канала, из них 44,5% – две и более манипуляции. Данная процедура чаще всего сопровождается травмой цервикального канала, что было доказано и в работах многих авторов, которые также указывают на значимость травмы внутреннего зева в возникновении несостоятельности шейки матки (С.Е. Мельникова, 2006 г., Н.М. Подзолкова, 2010 г., В.М. Сидельникова, 2010 г., З.Ш. Гилязудинова, 2008г.).

Кроме того, было выявлено, что пациентки с ИЦН в 2 раза чаще, чем пациентки контрольной группы использовали внутриматочную спираль (ВМС) с целью контрацепции. Данный факт объясним, т.к. известно, что использование ВМС очень часто приводит к возникновению хронического эндометрита, а он, в свою очередь способствует возникновению интраамниотического воспаления, которое провоцирует развитие ИЦН во время беременности.

Не получено достоверных данных о том, что манипуляции на шейке матки, не травмирующие внутренний зев (диатермокоагуляция (ДЭК), криодеструкция, электрокоагуляция) а также миома и эндометриоз оказывают влияние на формирование ИЦН. В связи с этим, мы не отнесли пациенток получавших подобное лечение и страдающих вышеуказанными заболеваниями в группу риска по развитию данной патологии.

Анализ экстрагенитальной патологии не выявил значимой разницы в соматических заболеваниях пациенток основной группы и группы контроля. Миопия, НЦД (нейро-циркуляторная дистония), варикозная болезнь вен нижних конечностей, пролапс митрального клапана, указывающие на наличие патологии соединительной ткани встречались с одинаковой частотой в обеих группах. В связи с чем, данные заболевания не были отнесены нами к факторам риска возникновения ИЦН, хотя в литературе встречается достаточное количество работ указывающих на роль дисплазии соединительной ткани в развитии данной патологии (Л.К. Petersen, 1996 г., Н.В. Сатышева, 2009 г., С.Р. Гурбанова, 2010 г.).

В последние годы большое внимание уделяется проблеме хронического эндометрита как одному из решающих факторов невынашивания беременности. В случае пациенток с ИЦН он был выявлен более чем в половине случаев (58,2%). Можно предположить, что именно хронический эндометрит является основой для развития интраамниотического воспаления, которое выявляется более чем у 80% пациенток с ИЦН, при этом инфекционный агент присутствует не всегда. Это подтверждается и нашими исследованиями, в которых уровень выявления ИППП можно считать сопоставимым в основной группе и в группе контроля (18,1% и 14% соответственно).

Пациентки с несостоятельностью шейки матки в 4 раза чаще переносили оперативные вмешательства на яичниках в объеме: аднексэктомия – 3,63%, цистэктомия – 1,8%, резекция яичников – 2,72%, декортикация 3,63%, каутеризация 4,54%, что позволило нам выделить данную категорию пациенток в группу риска. По всей видимости, данные оперативные вмешательства ведут к изменениям гормональной функции яичников, что впоследствии может привести к возникновению ИЦН.

СПКЯ выявлялся в 4,5 раза чаще у пациенток с несостоятельностью шейки матки. Известно, что СПКЯ включает в себя такие симптомы как ожирение (50%), гиперандрогению (45–60%), нарушение менструального цикла на фоне хронической ановуляции. Возможно, именно гиперандрогения и нарушение процессов овуляции с формированием недостаточности желтого тела и дефицит прогестерона у данной категории пациенток может способствовать развитию дисфункциональной ИЦН. Это согласуется с данными Р.А. Абдурахмановой (2001 г.) о том, что у каждой третьей пациентки с гиперандрогенией диагностируется несостоятельность шейки матки.

Отдельно следует отметить, что более 15% пациенток с ИЦН страдали бесплодием, из них у 10% беременность наступила после процедуры ЭКО. Данный факт объясним, так как при индукции гонадотропинами имеет место повышенное содержание релаксина в сыворотке крови, что также может привести к возникновению данной патологии.

#### Результаты клинического обследования пациенток с ИЦН

Для уточнения вида несостоятельности шейки матки мы проводили метросальпингографию с использованием прогестероновой пробы, что позволило нам в 71,8% случаев с успехом дифференцировать анатомическую форму ИЦН от дисфункциональной, в оставшихся случаях заключения о виде несостоятельности шейки матки базировались на данных анамнеза и результатах гормонального обследования. В 28% случаев метросальпингография не выявила сколько-нибудь значимого расширения внутреннего зева, что также согласуется с данными ряда авторов (В.Ф. Бернат 1990 г., Leitich 2005 г.) о том, что в ряде случаев диагностика ИЦН возможна только во время беременности, когда имеются соответствующие условия для оценки истмического отдела.

Гистеросальпингографию (ГСГ) с успехом использовал еще в 1987 году для разработки балльной оценки состояния шейки матки В. Бернат. Он предлагал, основываясь на расширении внутреннего зева по данным ГСГ, длине шейки матки и проходимости цервикального канала для расширителя Гегара №6, решать вопрос о необходимости хирургической коррекции несостоятельности шейки матки во время беременности.

Таким образом, ГСГ весьма эффективна для диагностики ИЦН и должна использоваться в качестве метода обследования на этапе планирования беременности у пациенток с данной патологией.

При обследовании гормонального фона на 21–23 дни менструального цикла у 96,8% пациенток с анатомической формой ИЦН уровень прогестерона и эстрадиола находились в пределах референсных значений, однако, у 31,25% гистологически определялась недостаточность обеих фаз менструального цикла, что в первую очередь мы объясняли явлениями хронического эндометрита, который был выявлен у 93,5% обследованных.

Это явление согласуется с данными многих авторов (Jordan J. et al., 1994, Е.А. Межевитинова, 2010 г.) о том, что более информативным является диагностика НЛФ по данным гистологического исследования, а не по показателям гормонального фона пациентки. Данный факт также можно объяснить гипотезой об афферентной импульсации патологически измененных рецепторов в условиях воспаления, которая, приводит к изменению в гипоталамо-гипофизарной-яичниковой системе и может вызывать снижение эндокринной функции яичников и повлечь за собой НЛФ.

У пациенток с дисфункциональной формой ИЦН снижение уровня прогестерона было отмечено у 41% на 21–23 дни менструального цикла, недостаточность лютеиновой фазы гистологически подтверждалась у 56,4% обследованных. Хронический эндометрит был выявлен в 51,2% случаев.

Что же касается рецепторного аппарата эндометрия, то он был относительно сохранен у пациенток с анатомической формой ИЦН: выраженная и умеренная экспрессия прогестерон – рецепторов выявлялась у 84,3% обследованных.

У пациенток с дисфункциональной формой ИЦН была диагностирована слабая экспрессия прогестерон-рецепторов у 61,5% и их полное отсутствие у 38,4% (таблица 1).

Таким образом, наши результаты только отчасти согласуются с данными В.М. Сидельниковой 2010 г., А.Р. Котикова, 2007 г., которые указывали на роль хронического эндометрита в снижении уровня экспрессии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в секреторную фазу цикла. В процессе наших

Таблица 1.

**Соотношение показателей гормонального профиля с гистологическим и иммуногистохимическим исследованием эндометрия у пациенток с дисфункциональным и анатомическим типом ИЦН**

	Дисфункциональная ИЦН		Анатомическая ИЦН	
	n=39	%	n=32	%
Снижение уровня ПГ	16	41	1	96,9
Нормальные показатели ПГ	23	59	31	3,1
Недостаточность НЛФ	22	56,4	10	31,2
Секреторный тип эндометрия	17	43,5	22	68,8
Слабая экспрессия прогестерон-рецепторов полное отсутствие	24	61,5	5	15,6
полное отсутствие экспрессии прогестерон-рецепторов	15	38,4	–	–
Умеренная экспрессия прогестерон-рецепторов	–	–	20	62,5
Выраженная экспрессия прогестерон-рецепторов-	–	–	7	21,8

исследований, мы сделали вывод о том, что не всегда поражение рецепторного аппарата эндометрия обусловлено явлениями хронического эндометрита у пациенток с ИЦН.

На основании полученных данных обследования нами был предложен комплексный метод поэтапной прегравидарной подготовки, который улучшил течение наступившей беременности путем снижения угрозы прерывания в первом триместре в 2,5 раза, в третьем триместре – в 1,26 раз.

Первый этап прегравидарной подготовки был направлен на купирование явлений хронического эндометрита и стимуляцию рецепторов эндометрия и заключался в проведении противовоспалительной терапии и ФТЛ.

Назначение препаратов эстрогенов и гестагенов обеспечило подготовку эндометрия к имплантации. Препараты эстрогенов и прогестерона назначались для активации прогестероновых рецепторов, что было доказано В.А. Ковязиным (2005 г.) и отображено в работе Г.Т. Сухих и В.Ю. Торшина (2008 г.). На наш взгляд, данная терапия обеспечила оптимальные условия для наступления беременности и обусловила значимое снижение угрозы её прерывания у пациенток основной группы, особенно в первом триместре беременности. Следствием этого было уменьшение количества пациенток, кому потребовалось 3 и более госпитализации за текущую беременность (77,95 и 59,2% соответственно).

Похожие методы существовали и ранее, но отличались тем, что в них не было предложено конкретных схем проведения прегравидарной подготовки, предлагаемые курсы терапии были в основном акцентированы на инфекционно-воспалительную составляющую развития ИЦН. Не было и алгоритмов ведения беременности у пациенток с различным формами несостоятельности шейки матки.

Примененный нами дифференцированный патогенетически обоснованный подход к коррекции ИЦН во время беременности позволил избежать неоправданных хирургических вмешательств у пациенток с дисфункциональной формой ИЦН. Однако, следует отметить, что в 7,7% случаев у пациенток с данной формой ИЦН после постановки акушерского пессария потребовалось проведение хирургической коррекции в связи с дальнейшим прогрессированием несостоятельности шейки матки.

Данный факт диктует необходимость динамического наблюдения за длиной шейки матки и открытием внутреннего зева у пациенток после постановки акушерского пессария путем выполнения УЗИ вагинальным датчиком 1 раз в 10–14 дней. При выявлении укорочения шейки матки с 3 см до 2,5 см и увеличении диаметра внутреннего зева до 8 мм и более, мы рекомендуем проведение церкляжа путем наложения П-образных швов на шейку матки.

На возможные осложнения в результате проведения хирургической коррекции указывает абсолютное большинство



авторов (Н.М. Подзолкова, 2010 г, В.М. Сидельникова, 2010 г, В.И. Кулаков, 2006 г., О.Ю. Баскова, 2010 г.). В нашем исследовании прорезывание швов осложнило течение 5,1% пациенток группы сравнения и 6,25% в основной группе.

Останавливаясь более подробно на исходах беременности, необходимо отметить, что на долю преждевременных родов и поздних самопроизвольных выкидышей в группе сравнения пришлось 16,9% против 4,22% основной группы.

Поздние самопроизвольные выкидыши были зафиксированы в 3,3% группы сравнения. У пациенток основной группы данных случаев не было. Преждевременными родами завершилась беременность у 11,8% пациенток группы сравнения против 4,2% основной группы.

Перинатальные потери у пациенток группы сравнения составили 5,1%, в то время как три случая преждевременных родов у пациенток основной группы не повлекли за собой перинатальных потерь. Благоприятные перинатальные исходы в основной группе даже в случае очень ранних преждевременных родов мы в первую очередь связываем с отсутствием инфекционных осложнений у данных новорожденных, что на наш взгляд обусловлено проведенной прегравидарной подготовкой.

Таким образом, в результате предложенных методик было установлено статистически значимое снижение количества неблагоприятных исходов беременности ( $\alpha=0,05$ ): в 3,3 раза уменьшилось количество поздних самопроизвольных выкидышей, в 3,2 раза – количество преждевременных родов.

Подводя общий итог, можно сделать вывод об эффективности предлагаемой методики поэтапной прегравидарной подготовки и дифференцированного подхода к коррекции ИЦН во время беременности, которые позволили снизить угрозу прерывания беременности в первом триместре в 2,5 раза, в третьем триместре – в 1,2 раза, улучшить исходы беременности в 4 раза и полностью избежать перинатальных потерь у пациенток основной группы.

#### Сведения об авторах:

Линченко Н.А., кандидат мед. наук, Волгоградский государственный медицинский университет, Минздрава РФ 400131, Россия, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1, тел.: +7 (8442) 38-50-05. E-mail: post@volgmed.ru

#### About the authors:

Linchenko N.A., Candidate of Medicine, 1 Moscow Medical University the name N.M. Sechenov 1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russian Federation. Tel.: +7 (8442) 38-50-05. E-mail: post@volgmed.ru

#### Выводы

1. Выявлено, что к факторам риска возникновения истмико-цервикальной недостаточности относится возраст старше 30 лет, многократные беременности (69%), наличие в анамнез поздних самопроизвольных выкидышей и преждевременных родов (62,7%), хронический эндометрит (58,2%), два и более внутриматочных вмешательства с расширением цервикального канала (44,5%), избыточный вес (40,8%), оперативные вмешательства на яичниках (16,4%), бесплодие (15,5%), беременность, наступившую в результате экстракорпорального оплодотворения (10%), синдром поликистозных яичников (9,1%),

2. Не являются факторами риска возникновения истмико-цервикальной недостаточности лечебные манипуляции на шейке матки (диатермокоагуляция, электроконизация, криодеструкция), а также миома матки и эндометриоз.

3. Метросальпингография с гормональной пробой позволяет выявить патогенетические механизмы возникновения истмико-цервикальной недостаточности и дифференцировать формы данной патологии в 71,8% случаев и должна являться обязательным методом обследования женщин с ИЦН вне беременности.

4. У женщин с истмико-цервикальной недостаточностью гистологически выявлена сниженная гормоночувствительность функционирующего эндометрия, в виде его недостаточности и в I и во II фазу цикла у 31,3% пациенток с анатомической и у 56,5% пациенток с дисфункциональной формой несостоятельности шейки матки, несмотря на то, что уровни половых гормонов у них находились в пределах референсных значений.

5. Выявлено, что рецепторный аппарат эндометрия относительно сохранен у пациенток с анатомической формой истмико-цервикальной недостаточности: выраженная и умеренная экспрессия прогестерон-рецепторов диагностирована у 84,3%, в отличие от пациенток с дисфункциональной формой несостоятельности шейки матки, у которых обнаружена слабая экспрессия прогесте-

рон – рецепторов у 61,5% и их полное отсутствие у 38,5% пациенток.

6. Хронический эндометрит выявлен клинически и подтвержден гистологически у 93,5% пациенток с анатомической формой истмико-цервикальной недостаточности и в 51,2% случаев – у пациенток с дисфункциональной формой несостоятельности шейки матки.

7. Разработанный на выявленных патогенетических механизмах оптимизированный метод прегравидарной подготовки у женщин, страдающих истмико-цервикальной недостаточностью, позволяет добиться снижения угрозы прерывания беременности в первом триместре в 2,5 раза, в третьем триместре – в 1,2 раза.

8. Дифференцированный подход к коррекции истмико-цервикальной недостаточности у пациенток с органической и дисфункциональной формой несостоятельности шейки матки позволяет избежать неоправданных хирургических вмешательств, снизить количество поздних самопроизвольных выкидышей и преждевременных родов в 3,2 раза, улучшить перинатальные исходы.

#### Литература

1. Ткаченко А.В., Углова Н.Д., Линченко Н.А. Значение электроинформационного церкляжа при высоком риске преждевременных родов у пациенток с истмико-цервикальной недостаточностью // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета – 2013, № 3. – С. 135–137.
2. Линченко Н.А. Современный взгляд на возможные риски возникновения истмико-цервикальной недостаточности // Аспирантский вестник Поволжья–2013, № 5–6. С. 94–95.
3. Ткаченко А.В., Линченко Н.А. Этапная профилактика невынашивания беременности у женщин с истмико-цервикальной недостаточностью // Лекарственный вестник – 2013, т.7, № 4, С. 13–16.
4. Ткаченко А.В., Линченко Н.А. Прогнозирование и профилактика невынашивания беременности при истмико-цервикальной недостаточности.// Методические рекомендации, Волгоград 2014 г. – С. 23.