

На правах рукописи



Хон Елена Валериевна

**МОРФОЛОГИЯ ДЕЦИДУАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ И ХОРИОНА,
КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БЕРЕМЕННОСТИ
ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ**

**03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология
14.01.01 – акушерство и гинекология**

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Томск – 2011

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения и социального развития РФ»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович

доктор медицинских наук, профессор Юрьев Сергей Юрьевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат медицинских наук

Плешко Раиса Ивановна
Бухарина Ирина Юрьевна

Ведущая организация: Новосибирский государственный медицинский университет

Защита диссертации состоится «__» _____ 2011 г. в «__» часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при Сибирском государственном медицинском университете по адресу: 634050, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «__» _____ 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



Герасимов А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Изучение морфологических особенностей маточно-плацентарной области и клинико-морфологических закономерностей течения гестационного процесса, осложненного урогенитальной инфекцией, а также динамики локальных иммунных реакций при инфекции в первом триместре беременности актуально для современной гистологии, эмбриологии и акушерства.

Внутриутробное инфицирование плода является одной из наиболее важных проблем акушерства и перинатологии [Прилепская В.Н., 2007; Сидорова И.С., 2010; Кулаков В.И., 2011; Салафет О.В., 2011; Smith С., 2001]. При внутриутробном инфицировании повышается вероятность преждевременного прерывания беременности, антенатального и интранатального инфицирования, а также развития гнойно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде [Айламазян Э.К., 2004; Савельева Г.М., 2005; Сидорова И.С., 2005; Стрижаков А.Н., 2007; Белькова Ю.А., 2011; Grigsby P.L., 2010]. Доказано также, что вульвовагинальные инфекции увеличивают риск осложнений у пациенток, которым предстоит прерывание беременности и другие хирургические вмешательства на органах малого таза [Радзинский В.Е., 2002].

Значительную роль в развитии данных осложнений отводят в настоящее время урогенитальной флоре – *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*. На сегодня неопровержимо доказано как негативное влияние урогенитального хламидиоза на течение гестационного процесса, так и необходимость терапии этой инфекции при беременности [Боровкова Е.И., 2007; European STD guidelines, 2003]. *Mycoplasma genitalium* также определена как облигатный патоген и, значит, требует аналогичного подхода [Прилепская В.Н., 2007]. До настоящего времени нет четкого представления о роли *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в формировании перинатальной патологии, заболеваний урогенитального тракта и о тактике ведения пациенток при обнаружении данных возбудителей. Достоверный анализ результатов лечения вышеуказанных инфекций в первом триместре беременности в доступной нам литературе не приведен.

Взаимосвязь поражений последа и внутриутробной инфекции не вызывает сомнений [Глуховец Б.И., 2006; Тютюник В.Л., 2007; Чистяков М.А., 2008; Lee S.M., 2011]. Детально изучены и описаны морфологические изменения при инфицировании условно-патогенными видами микоплазм только в тканях зрелых плацент [Цинзерлинг В.А., 2002].

Развитие ранних этапов беременности происходит путем тесного взаимодействия погружающейся бластоцисты, а затем – хориального мешка с окружающим цитотрофобластическим щитом, с децидуализированным эндометрием. В этот период воспалительная реакция в маточно-плацентарной области возможна только за счет клеток иммунной системы матери. В эмбриональных тканях возможна лишь альтернативная фаза

воспаления [Ивановская Т.Е., 1995]. Таким образом, данный срок гестации крайне уязвим для гематогенного, равно как и для восходящего пути распространения инфекции. Вопрос о морфологических особенностях воспалительных реакций в маточно-плацентарной области при хламидийном и микоплазменном инфицировании в первом триместре беременности освещен в литературе недостаточно.

Важную роль в пролонгировании беременности и реализации противоинфекционной защиты формирующегося плода отводят иммунокомпетентным клеткам: большим гранулярным лимфоцитам (БГЛ), НК-клеткам, макрофагам [Moffett A., 2004; Male V., 2010]. В литературе к настоящему времени накоплен ряд фактов, описывающих механизмы взаимодействия *Chlamydia trachomatis* и БГЛ [Юрьев С.Ю., 2006]. Данные о численной плотности БГЛ, НК-клеток, макрофагов в decidua basalis в условиях хламидийного и микоплазменного инфицирования, а также на фоне антибактериальной терапии в доступной нам литературе не представлены.

Цель исследования: изучить структурные изменения decidua basalis и chorion, обусловленные урогенитальной инфекцией, и клинические особенности течения первого триместра беременности и постабортного периода на фоне приема антимикробного препарата.

Задачи исследования

1. Оценить морфологические изменения маточно-плацентарной области, обусловленные хламидийной и микоплазменной инфекцией, в гестационном сроке 42–56 дней.
2. Оценить особенности локального иммунного статуса маточно-плацентарной области в зависимости от вида урогенитальной инфекции и степени воспалительного процесса.
3. Изучить распределение антимикробного препарата в маточно-плацентарной области.
4. Оценить вклад урогенитальной инфекции в формирование постабортных воспалительных осложнений и разработать алгоритм профилактики эндометрита.

Научная новизна. В работе впервые показаны изменения удельного объема структурных элементов маточно-плацентарной области при хламидийной и микоплазменной инфекции. Установлены морфологические особенности децидуальной оболочки и хориона в зависимости от вида возбудителя и степени выраженности воспалительного процесса в нижних половых путях беременных. Получены новые данные о влиянии хламидийной и микоплазменной инфекции на популяцию больших гранулярных лимфоцитов и НК-клеток, а также дана их количественная характеристика.

Проведена комплексная клиническая и ультразвуковая оценка особенностей течения беременности у женщин с микоплазменной инфекцией в первом триместре.

Представлены характеристики распределения макролидного антибиотика в маточно-плацентарной области в первом триместре.

На иммуноморфологическом уровне проведена оценка и выявлены патогенетические механизмы протективного влияния макролидного антибиотика при проведении предоперационной профилактики возникновения постабортного эндометрита.

Теоретическая и практическая значимость. В результате проведенного комплексного морфологического, морфометрического, иммуногистохимического исследования получены новые знания о структурных изменениях маточно-плацентарной области при инфицировании *Chlamydia trachomatis* и *Ureaplasma urealyticum*. Представленные в диссертации данные о влиянии антимикробного препарата на локальный иммунный статус послужат основой для дальнейшего изучения вопросов профилактики и лечения внутриутробной инфекции при прогрессирующей беременности. Разработан эффективный алгоритм профилактики постабортного эндометрита у женщин с микоплазменной инфекцией.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Морфологические изменения маточно-плацентарной области, обусловленные хламидийной или микоплазменной инфекцией в первом триместре беременности, представлены явлениями отека *decidua basalis*, очаговыми кровоизлияниями, нарушениями инвазии трофобласта и отличаются степенью выраженности структурных перестроек.
2. Хламидийная инфекция вызывает выраженные нарушения локального иммунитета: преобладают активированные НК-клетки, численная популяция больших гранулярных лимфоцитов резко снижена. При микоплазменной инфекции популяция НК-клеток резко снижена, сдвиг популяции иммунокомпетентных клеток, угрожающих прогрессированию беременности, не происходит: популяция децидуальных лимфоцитов не изменяется.
3. Назначение джозамицина женщинам, имеющим микоплазменную инфекцию в сочетании с вагинитом, перед искусственным абортом обеспечивает профилактику постабортного эндометрита. Высокая клиническая эффективность препарата обусловлена особенностями распределения антибиотика в *decidua basalis* и *horion*.
4. Изменение локального иммунного статуса на фоне приема антибиотика выражается в сохранении численного состава популяции больших гранулярных лимфоцитов и уменьшении количества

активированных НК-клеток, что необходимо для физиологического течения ранних этапов гестации.

Внедрение результатов в практику. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии Сибирского государственного медицинского университета по дисциплине «Основы эмбриологии». Разработанный алгоритм ведения пациенток, планирующих искусственное прерывание беременности, внедрен в практику работы женской консультации и гинекологического отделения МЛПУ роддом № 1 г. Томска и Центра перинатального здоровья.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 22 научных работы, из них пять в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Апробация работы. Материалы, основные положения и выводы диссертации доложены и обсуждены на 7-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2010» (г. Москва, 2010), на городской научно-практической конференции «Актуальные проблемы охраны репродуктивного здоровья подростков и молодежи» (г. Томск, 2010), на 12-м российском конгрессе молодых ученых с международным участием «Науки о человеке» (г. Томск, 2011), на 45-й всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины и фармации» (г. Тюмень, 2011), на открытой межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке» (г. Киров, 2011), на всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий» (г. Томск, 2011), на 16-й всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине» (г. Казань, 2011), на юбилейной межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВА в Кузбассе «Медицина XXI века» (г. Новокузнецк, 2011), на 39-й конференции молодых ученых Смоленской медицинской академии (г. Смоленск, 2011), на 5-й международной конференции молодых ученых (г. Москва, 2011).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 152 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения собственных результатов, их обсуждения, выводов и списка литературы, который включает 315 источников, из них 149 отечественных, 166 зарубежных. Текст иллюстрирован 35 рисунками, 10 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами было обследовано 116 беременных женщин, направленных для искусственного прерывания беременности по немедицинским показаниям в гестационном сроке 42–56 дней. Все женщины были разделены на 4 группы. В зависимости от вида возбудителя группы I и II разделены на две подгруппы: Ia – 7 женщин, имевших хламидийный вагинит и получавших терапию макролидным антибиотиком; Ib – 16 женщин, имевших микоплазменный вагинит и получавших терапию макролидным антибиотиком; IIa – 19 женщин с бессимптомной хламидийной инфекцией, получавших терапию макролидным антибиотиком; IIb – 20 женщин с бессимптомной микоплазменной инфекцией, не получавших антибактериальной терапии. Группу III составили 20 пациенток с неспецифическим вагинитом, получавших неспецифическое местное лечение; группу IV (контрольная) – 34 пациентки без признаков инфекции и воспалительного процесса.

Критерием постановки диагноза «вагинит» являлось определение при микроскопическом исследовании полиморфоядерных лейкоцитов более 25 в поле зрения в мазке, полученном из цервикального канала и/или влагалища [Савичева А.М., 2011].

Критерии включения в исследование: 1) письменное согласие пациентки на данное исследование; 2) соматически здоровые женщины с прогрессирующей маточной беременностью в сроке 42–56 дней; 3) наличие хламидийной, микоплазменной инфекции или неспецифического вагинита.

Критерии исключения: 1) наличие других инфекций, передаваемых половым путем; 2) ранее проводимое лечение по поводу урогенитального хламидиоза и микоплазменной инфекции. Дизайн исследования отражен на рис. 1.

Комплексное обследование пациенток проведено согласно отраслевым стандартам: клинико-anamnestические данные, ультразвуковое исследование органов малого таза, гистологическое и иммуногистохимическое исследование децидуальной оболочки и хориона. Выявление инфекций осуществляли методом полимеразной цепной реакции в лаборатории молекулярной биологии ЦНИЛ Сибирского государственного медицинского университета (руководитель лаборатории д-р мед. наук А.Э. Сазонов). Материалом для выявления служили соскобы из цервикального канала и уретры. Выделение ДНК возбудителя проводилось методом фенол-хлороформной экстракции. Для амплификации участка ДНК 330 пар нуклеотидов критической плазмиды *Chlamydia trachomatis* использовали комплект «АмплиСенс-*Chlamydia trachomatis*-EPh», для амплификации участка ДНК 280 пар нуклеотидов критической плазмиды *Mycoplasma genitalium* использовали комплект «АмплиСенс-*Mycoplasma genitalium*-EPh», для амплификации участка ДНК 330 пар нуклеотидов критической плазмиды *Mycoplasma hominis* использовали комплект «АмплиСенс-*Mycoplasma hominis*-EPh», для амплификации участка ДНК 450 пар нуклеотидов

критической плазмиды *Ureaplasmaspp* (*Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*) использовали комплект «АмплиСенс-*Ureaplasmaspp*- EPh», утвержденный Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, по описанному методу.

Дизайн исследования отображен на рисунке.



Дизайн исследования

Регистрацию результатов проводили методом электрофореза в агарозном геле. Ультразвуковое исследование выполнялось всем пациенткам перед прерыванием беременности, на 5-й и 30-й дни после медицинского аборта при помощи ультразвукового аппарата, работающего в реальном масштабе времени, снабженного импульсным доплером Acuson 128XP/10, с использованием конвексного датчика 3,5 МГц и трансвагинального датчика 5 МГц. Для оценки данных фетометрии использовались справочные таблицы и номограммы, разработанные авторским коллективом под руководством М.В. Медведева (2004).

Морфологические и иммуногистохимические исследования выполнялись на базе гистологической лаборатории кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии ГОУ ВПО СибГМУ Минздравсоцразвития (заведующий кафедрой – д-р мед. наук, проф. С.В. Логвинов). Для морфологического исследования децидуальной оболочки и хориона использовался материал, полученный при операции выскабливания полости матки во время искусственного аборта.

Материал аккуратно промывали под слабой струей физиологического раствора для удаления сопутствующей крови и более четкой визуализации тканевых компонентов: органов эмбриона, элементов ворсинчатого хориона, участков ткани эндометрия.

Весь полученный материал фиксировали в 10 % растворе забуференного нейтрального формалина (рН=7,4–7,6), жидкости Карнуа и по общепринятой методике заливали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, реактивом Шиффа. Для электронно-микроскопического исследования материал фиксировали в 2,5 % глутаровом альдегиде, забуференном на 0,2 М какодилатном буфере (рН=7,2) при температуре 4 °С по Sabatini D.D., Bensch K., Barrnett R.J. (1963). Постфиксацию осуществляли в 1 % растворе четырехоксида осмия, дегидратировали в спиртах и заливали в эпон. Приготовленные на ультратоме LKB-4 полутонкие срезы окрашивали толуидиновым синим. Ультратонкие срезы помещали на медную сетку, контрастировали цитратом свинца. Просмотр и фотографирование ультратонких срезов производили на электронном микроскопе JEM-7A.

Количественную оценку структурных компонентов проводили с помощью окулярной сетки Автандилова. Для этого в десяти независимых полях зрения определяли удельный объем (%) спиральных артерий, стромы decidua basalis и decidua parietalis, децидуальных клеток, стромы ворсин хориона, хориального эпителия, фетальных сосудов, фибриноида, межворсинчатого пространства, синцитиальных почек, очагов кровоизлияний, некрозов, кальцификатов. В decidua basalis и deciduas parietalis подсчитывали клеточный состав инфильтрата – макрофагов, моноцитов, лимфоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов – в 1 мм² среза.

Иммуногистохимическое исследование использовали для выявления в decidua basalis и decidua parietalis больших гранулярных лимфоцитов (CD56⁺CD16⁻CD3⁻), NK-клеток (CD56⁺CD16⁺CD3⁻), децидуальных макрофагов (CD68⁺). На срезах толщиной 4–6 мкм проводили иммуногистохимическое окрашивание с использованием моноклональных антител: CD16 (Novocastra, Великобритания), CD3, CD56, CD68 (Dako, Дания). Оценка распределения иммунопозитивных клеток в 1 мм² осуществлялась с помощью окулярной тестовой системы с известной площадью (0,05 мм²). Подсчет проводили в трех когортах по 100 клеток в различных полях зрения.

Концентрация джозамицина в замороженных однократно образцах децидуальной оболочки и хориона определялась с использованием метода инверсионной вольтамперометрии.

Статистическая обработка результатов проведена с использованием пакета SPSS-17. В работе проводился анализ вариационных рядов методами описательной статистики с вычислением среднего значения и среднего квадратического отклонения, медианы и индеквартильного интервала. Для сравнения качественных признаков использовали непараметрические критерии χ^2 : точный критерий Фишера с поправкой Йетса для двух групп. При сравнении количественных признаков применялся критерий Манна – Уитни для сравнения двух групп с расчетом доверительных интервалов. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$. Анализ взаимной зависимости признаков проводили с использованием коэффициента корреляции R (Спирмена) и определения уровня его достоверности p .

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование децидуальной оболочки и хориона

С целью изучения структурных изменений маточно-плацентарной области при наличии урогенитальной инфекции было проведено морфологическое исследование 232 образцов абортного материала. Гистологическое строение decidua basalis у большинства женщин соответствовало сроку беременности и характеризовалось типичными гестационными изменениями. В строме decidua basalis выявлялись в основном зрелые децидуальные клетки (эпителиоидного типа), которые имели крупные размеры, округлую форму, гиперхромные ядра и светлую цитоплазму. У беременных с микоплазменной инфекцией чаще наблюдались децидуальные клетки промежуточного типа, имевшие вытянутую форму, базофильную цитоплазму, овальные гиперхромные ядра. В образцах с хламидийной инфекцией выявлялись децидуальные клетки с дистрофическими изменениями: пикноморфное ядро, вакуолизированная цитоплазма. При электронной микроскопии в децидуальных клетках определялись расширенные цистерны эндоплазматической сети, свидетельствующие о высокой синтетической активности клеток. Строма decidua basalis у беременных с хламидийной инфекцией характеризовалась

явлениями отека. Децидуальные клетки были рассредоточены на расстоянии. При электронной микроскопии обнаруживались неупорядоченно расположенные коллагеновые фибриллы. Стенки спиральных артерий в большинстве образцов претерпевали гестационную трансформацию, были утолщены за счет отложения фибрина, в просвете сосудов нередко обнаруживались скопления клеток инвазивного цитотрофобласта. У беременных с микоплазменной инфекцией спиральные артерии характеризовались типичной гестационной перестройкой, при наличии бессимптомной хламидийной инфекции изменения сосудов были менее выражены. В гистологическом строении ворсинчатого хориона преобладали третичные ворсины с признаками полноценного ангиогенеза, наличием ядерных эритроцитов в просвете сформированных капилляров и двурядным эпителиальным покровом с четким разграничением слоев на внутренний слой клеток Лангханса и наружный синцитиальный слой. Таким образом, структурные изменения в маточно-плацентарной области отражали типичную гестационную перестройку ее компонентов и соответствовали морфологической картине прогрессирующей беременности в сроке 42–56 дней.

При подсчете удельных объемов различных структурных компонентов маточно-плацентарной области обнаружено, что при наличии как микоплазменной, так и хламидийной инфекции наблюдалось увеличение удельного объема стромы и одновременно уменьшение количества децидуальных клеток по сравнению с группой контроля (табл. 1). Данные изменения отражают реакцию *decidua basalis* на воздействие специфического инфекционного агента в виде стромального отека. Несмотря на то что, по мнению И.Б. Глуховца (2006), физиологический отек стромы является необходимым для обеспечения ремоделирования спиралевидных артериол, отмеченные изменения многократно превышают показатели группы контроля и в связи с этим отражают патологическое течение гестационного процесса.

При наличии хламидийной инфекции выявленные изменения в децидуальной оболочке были более выраженными, чем в остальных группах.

У беременных с неспецифическим вагинитом и вагинитом, ассоциированным с *Ureaplasma urealyticum*, а также у женщин с бессимптомной контаминацией *Chlamydia trachomatis* удельный объем сосудов в децидуальной оболочке был снижен по сравнению с контрольной группой. Кроме того, учитывая изменения популяции клеток иммунного окружения (соответствующее уменьшение содержания БГЛ) и роль данных элементов в регуляции инвазии цитотрофобласта, можно предположить торможение миграции трофобласта в сосуды. У беременных с микоплазменной контаминацией без признаков воспаления в нижних половых путях удельный объем сосудов *decidua basalis* был увеличен. Данные изменения коррелируют с увеличением популяции БГЛ у женщин этой группы. При наличии хламидийного вагинита удельный объем сосудов в децидуальной оболочке значительно превышал таковой в контрольной группе.

Таблица 1

Удельные объемы различных структур decidua basalis в 42–56 дней гестации,
Me (Q₁–Q₃), %

Компо- ненты	Группа Ia n=7		Группа Ib n=16		Группа IIa n=19		Группа IIb n=20		Группа III n=20		Группа IV n=34
	Удельный объем	p ₁	Удельный объем	p ₁	Удельный объем	p ₂	Удельный объем	p ₂	Удельный объем	p ₃	Удельный объем
Строма d.basalis	20,37 (11,11– 37,04)	<0,01	13,80 (6,85– 42,59)	0,14	46,48 (23,61– 55,09)	<0,01	14,81 (6,67– 18,61)	0,02	7,59 (5,93– 10,74)	0,80	7,78 (4,07–11,57)
Дециду- альные клетки	55,92 (47,04– 62,96)	0,13	46,85 (29,07– 70,83)	0,02	34,81 (28,89– 42,69)	<0,01	73,33 (55,83– 79,26)	0,92	74,44 (59,07– 76,57)	0,84	70,94 (46,94–79,81)
Сосуды d.basalis	7,7 (3,70– 8,89)	0,58	4,07 (1,76– 6,48)	0,61	4,08 (2,04– 6,11)	0,30	7,96 (5,37– 7,96)	0,13	4,26 (1,57– 7,31)	0,36	5,37 (2,09–7,78)
Кровоиз- лияния	5,18 (0–34,44)	0,30	6,29 (0–16,02)	0,36	5,55 (0–9,26)	0,31	0 (0–4,26)	0,45	6,48 (0–18,89)	0,14	3,0 (0–11,76)
Некрозы	0 (0–0,11)	0,81	0 (0–0,21)	0,55	0 (0–13,70)	0,44	0 (0–0,51)	0,97	0 (0–0,23)	0,85	0 (0–0,32)

Примечание: p – значимость различий между основной и контрольной группами (критерий достоверности Манна – Уитни). Достоверные различия при $p \leq 0,05$.

Увеличение плотности спиральных артерий можно рассматривать в качестве компенсаторной реакции для предотвращения ишемии. Вышеописанные нарушения влекут за собой неблагоприятное течение беременности и возникновение поздних осложнений. Ряд авторов указывают, что неполная инвазия цитотрофобласта в спиральные артерии является причиной возникновения позднего гестоза, задержки развития плода и преждевременных родов. При анализе структуры ворсинчатого хориона выявлено, что у беременных с хламидийной инфекцией независимо от наличия или отсутствия вагинита, а также у беременных с вагинитом, ассоциированным с *Ureaplasma urealyticum*, наблюдается уменьшение удельного объема стромы ворсин, сочетающееся с уменьшением удельного объема сосудов ворсин хориона (табл. 2). По данным М.А. Huisman (2010), уменьшение численной плотности сосудов ворсин имеет неблагоприятный прогноз для возникновения таких осложнений беременности, как гестоз и задержка развития плода. С другой стороны, у беременных этих же групп наблюдалось увеличение удельного объема эпителия ворсин, что может указывать на активную виллезную пролиферацию. Данную реакцию можно расценить как компенсаторную, ввиду того что она приведет к увеличению зоны контакта и интенсивности метаболических процессов.

Выраженных структурных изменений в процессе развития хориона у беременных с бессимптомной микоплазменной инфекцией не обнаружено.

При анализе удельного объема сосудов ворсин выявлена следующая тенденция. В группах беременных с хламидийной инфекцией независимо от наличия вагинита, а также у женщин с микоплазменной инфекцией в сочетании с воспалительным процессом в нижних половых путях содержание сосудов ворсин хориона было снижено (соответственно 0,7, 0,74, 0,37 %) по сравнению с таковым у здоровых беременных (1,48 %).

При этом в группе женщин с бессимптомной хламидийной инфекцией данный показатель достоверно отличался ($p=0,02$).

Кровоизлияния в *decidua basalis* во всех исследуемых группах встречались значительно чаще, чем в контрольной группе.

Наблюдалось значительное увеличение удельного объема межворсинчатого пространства в группах беременных, инфицированных хламидиями, как с наличием вагинита, так и без него, а также у беременных, имевших микоплазменную инфекцию в сочетании с вагинитом (36,6; 27,77; 39,81 % соответственно).

При наличии хламидийной инфекции данный показатель достоверно отличался ($p<0,05$). Очаговые некротические изменения одинаково часто встречались во всех исследуемых группах. Как правило, некротические очаги были окружены лейкоцитарным валом, четко отграничивающим поврежденную ткань от интактной *decidua basalis*.

Таблица 2

Удельные объемы различных структур horion в 42–56 дней гестации, Me (Q₁–Q₃), %

Компоненты	Группа Ia n=7		Группа Ib n=16		Группа IIa n=19		Группа IIb n=20		Группа III n=20		Группа IV n=34
	Удельный объем	p ₁	Удельный объем	p ₁	Удельный объем	p ₂	Удельный объем	p ₂	Удельный объем	p ₃	Удельный объем
Строма ворсин	33,33 (24,07– 37,41)	0,05	38,14 (29,44– 53,70)	0,85	37,22 (30,65– 42,96)	0,02	54,62 (40,0– 54,63)	0,42	50,74 (45,19– 61,30)	0,55	50,37 (32,22– 57,41)
Сосуды ворсин	0,70 (0-1,85)	0,09	0,74 (0–2,69)	0,42	0,37 (0–1,3)	0,02	2,40 (0–6,39)	0,98	1,85 (0,19– 3,33)	0,56	1,48 (0,56–3,15)
Эпителий ворсин	23,7 (20,0– 25,93)	<0,01	19,44 (15,93– 23,33)	0,92	20,74 (18,43– 24,07)	0,02	17,40 (14,26– 23,43)	0,44	18,89 (14,63– 21,48)	0,48	18,89 (11,48– 20,74)
Фибриноид	0 (0–3,33)	0,42	0 (0–1,67)	0,13	0 (0–3,15)	0,28	0 (0–0,65)	0,51	0 (0–2,96)	0,29	0 (0–0,19)
МВП	36,6 (23,33– 47,41)	<0,01	27,77 (16,48– 40,83)	0,39	39,81 (27,22– 43,15)	<0,01	17,77 (12,13– 31,85)	0,33	18,15 (8,0– 23,50)	0,93	18,15 (13,07– 26,20)

Примечание: p – значимость различий между основной и контрольной группами (критерий достоверности Манна – Уитни). Достоверные различия при $p \leq 0,05$.

Таким образом, у женщин при наличии хламидийной инфекции независимо от степени выраженности воспалительного процесса в нижних половых путях морфологическая картина прогрессирующей беременности характеризовалась явлениями отека decidua basalis, увеличением удельного объема стромы более чем в 3 раза в сочетании с уменьшением удельного объема децидуальных клеток. Изменения ворсинчатого дерева выражались в уменьшении удельного объема стромы и сосудов ворсин, расширении межворсинчатого пространства, что свидетельствует о нарушении процессов инвазии трофобласта. Кроме того, характерно было более частое обнаружение кровоизлияний decidua basalis.

Структурные изменения маточно-плацентарной области у беременных с микоплазменной инфекцией определялись степенью выраженности воспалительного процесса урогенитального тракта.

Морфологическая картина при сочетании микоплазменной инфекции с вагинитом была схожа с выявленными характеристиками хламидийного инфицирования, однако изменения были менее выражены. При микоплазменной контаминации структурные изменения затрагивали лишь decidua basalis и заключались в замедлении гестационной трансформации стромы.

Морфологическое исследование выявило ряд особенностей клеточной инфильтрации децидуальной оболочки. Гистологически были идентифицированы макрофаги, лимфоциты, нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, плазматические клетки.

Во всех обследованных группах инфильтрат был представлен преимущественно мононуклеарными клетками. Содержание моноцитарно-макрофагальных элементов в основных и контрольной группе было сходно и достоверно не различалось. Численная плотность плацентарных макрофагов в ворсинах хориона у беременных с хламидийной инфекцией как с наличием вагинита, так и без него выше, чем в контрольной группе (соответственно 2464,20 и 2365,63; 1577,09, $p < 0,05$).

Особый интерес среди лимфоцитов decidua basalis представляют большие гранулярные лимфоциты с фенотипом $CD56^{++}CD16^{-}CD3^{-}$, поскольку они являются ключевыми клетками локального иммунитета маточно-плацентарной области и обеспечивают оптимальную инвазию трофобласта.

В группах беременных при наличии хламидийной инфекции независимо от наличия или отсутствия воспалительного процесса в нижних отделах половых путей отмечалось достоверное ($p < 0,01$) снижение (98,57 и 197,14) численной плотности БГЛ по сравнению с таковой в группе контроля (936,39). Сходные данные получены при иммуногистохимическом исследовании децидуальной ткани у женщин с хламидийным поражением Мещеряковой А.В. (2000).

Среднее количество лимфоцитов в 1 мм^2 среза в группах беременных с хламидийной инфекцией (689,97 и 985,68) превышало показатели контрольной группы (689,97). Выраженность лимфоцитарной инфильтрации

как в группах женщин, имевших микоплазменный вагинит, так и у беременных с асимптомной микоплазменной инфекцией была больше (739,26 и 788,54), чем в контрольной группе (689,97).

В группе беременных при наличии микоплазменного вагинита наблюдалось снижение содержания БГЛ по сравнению с контрольной группой, а при бессимптомной микоплазменной контаминации не было выявлено уменьшение количества данных клеток (887,11; 1108,89; 936,39 соответственно).

При исследовании НК-клеток в decidua basalis отмечалось резкое увеличение численной плотности активированных НК-клеток у беременных с хламидийной инфекцией независимо от наличия вагинита по сравнению с данными контрольной группы (295,70, $p > 0,05$; 86,25, $p = 0,01$ в 1 мм² соответственно). По данным литературы в случаях, когда специфические децидуальные лимфоциты замещаются активированными НК-клетками, отмечаются нарушения толерантности в системе «мать – плод» и резкое нарастание частоты привычных выкидышей [Березовский Ю.С., 2001]. Популяция данных клеток была резко снижена в группах беременных с микоплазменной инфекцией.

Таким образом, наличие инфекции вызывает изменения в иммунном окружении децидуальной оболочки, проявляющиеся изменением численной плотности больших гранулярных лимфоцитов и НК-клеток. У беременных, инфицированных *Chlamydia trachomatis*, независимо от наличия вагинита отмечалось выраженное уменьшение численной плотности БГЛ в сочетании с резким возрастанием популяции активированных НК-клеток, что объясняет высокую частоту возникновения гестационных осложнений у женщин, инфицированных *Chlamydia trachomatis*. У женщин, имевших микоплазменную инфекцию, не выявлено изменений численной плотности БГЛ, однако популяция активированных НК-клеток была резко снижена. Снижение содержания активированных НК-клеток могло быть связано с цитотоксическим действием на лимфоциты микоплазм. Мальцев Л.И. (1995) показал, что микоплазмы способны подавлять пролиферацию лимфоцитов и активацию естественных киллеров. Кроме того, данный феномен может быть обусловлен способностью НК-клеток мигрировать в очаг воспаления: влагалище, шейку матки [Maghazachi A.A., 2010]. Это также согласуется с результатами, полученными у женщин с неспецифическим вагинитом, при котором наблюдалось снижение содержания активированных НК-клеток на 1/3 по сравнению с таковым в контроле.

При изучении анамнеза было выявлено, что инфицированные женщины имели более низкий индекс здоровья. В инфицированных группах женщины чаще переносили детские инфекции (100 %), страдали заболеваниями желудочно-кишечного тракта (60 %), мочевыделительной системы (56,25 %), эндокринной патологией (35 %). Более частое обнаружение у женщин с микоплазменной инфекцией заболеваний дыхательной системы (50 %), вероятно, связано с тем, что у них исходно

низкий уровень иммунитета, который позволяет реализоваться заболеваниям, вызванным условно-патогенными микроорганизмами.

Анализ акушерско-гинекологического анамнеза показал, что у инфицированных женщин частота встречаемости воспалительных заболеваний органов малого таза выше (78,95 %, $p \leq 0,01$). Эрозия шейки матки выявлялась у данных беременных также чаще (78,95 %, $p \leq 0,01$). Самопроизвольные выкидыши встречались в исследуемых группах более чем в 3 раза чаще (10,53–16,13 %) по сравнению с группой контроля.

Следовательно, инфицирование *Chlamydia trachomatis* и *Ureaplasma urealyticum* ассоциировано с более отягощенным, особенно в инфекционном плане, соматическим и акушерско-гинекологическим анамнезом. Низкий исходный уровень здоровья, перестройка иммунной системы, характерная для процесса гестации, создают условия для активации инфекции в организме беременной с формированием различных осложнений.

Изучение особенностей течения беременности на фоне микоплазменной инфекции выявило более частое возникновение таких осложнений, как ранний токсикоз (75 %, $p < 0,01$) и угроза прерывания беременности (81,25 %, $p < 0,01$). Частота регистрации угрозы прерывания беременности у женщин с хламидийной инфекцией также была выше (42,11 %, $p = 0,02$). Зарегистрированное в первом триместре у инфицированных беременных повышение количества осложнений подтверждает патогенное влияние урогенитальной инфекции на эмбрион и его окружение.

Эхоскопически обнаружены признаки воспалительного процесса в децидуальной оболочке и хорионе. Признаки хорионита были более выражены ($p < 0,01$) при сочетании микоплазменной инфекции с вагинитом (62,5 %). Изменения *decidua basalis* встречались в группах женщин с микоплазменной инфекцией почти в 3 раза чаще (25, 30 %), чем в контрольной группе. Как известно, эти изменения могут привести к нарушению трофики формирующегося хориона, нарушению сердечной деятельности, появлению ранней задержки развития или гибели эмбриона [Савельева Г.М., 1999; Brawn D.L. et al., 2002]. Ультразвуковая картина маточно-плацентарной области при наличии хламидийной инфекции более стертая. Частота встречаемости эхопризнаков децидуита и хорионита не превышала показатели контрольной группы. Для оценки адекватности эхографического диагноза были проведены эхоморфологические параллели. Найденная корреляционная зависимость между ультразвуковыми признаками, выявленными при исследовании децидуальной оболочки, и данными морфологических изменений в ней позволила выделить наиболее информативные эхоскопические критерии внутриутробного инфицирования. Ультразвуковая картина, соответствующая диагнозу «хорионит», была обусловлена уменьшением удельного объема сосудов ворсин ($p < 0,01$) и снижением содержания фибриноида ($p = 0,04$), что определялось при морфологическом исследовании. Эхографические признаки патологии децидуальной оболочки как при микоплазменной, так и при хламидийной

инфекции, как правило, были связаны с процессами стромального межклеточного отека и очагами кровоизлияний в decidua basalis.

Оценка эффективности антибактериальной терапии для профилактики возникновения постабортного эндометрита

Результаты, полученные в ходе исследования группы контроля, демонстрируют среднюю в популяции частоту эндометрита – 6 % (табл. 3). Наличие неспецифического вагинита достоверно ($p=0,03$) повышает риск возникновения постабортного эндометрита до 20 %. Частота встречаемости эндометрита в группе беременных с микоплазменной инфекцией, которые не получали антибактериального лечения по причине отсутствия клинической симптоматики, составила 15 %, что почти в три раза выше, чем в контрольной группе.

Таблица 3

Частота возникновения воспалительных осложнений в постабортном периоде

Заболевание	Группа Ia n=7		Группа Ib n=16		Группа IIa n=19		Группа IIb n=20		Группа III n=20		Группа IV n=34	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Постабортный эндометрит	0	0	0	0	0	0	3	15,0	5	25,0	2	5,88
	p = 0,81		p = 0,65		p = 0,60		p = 0,08		p = 0,03		–	–

Примечание: p – значимость различий между основной и контрольной группами (критерий χ^2). Достоверные различия при $p \leq 0,05$.

В группе беременных, имевших хламидийную инфекцию либо микоплазменный вагинит и получавших перед оперативным вмешательством специфическую антибактериальную терапию, не было выявлено ни одного случая эндометрита.

Клиническая эффективность антибактериального препарата в лечении внутриутробной инфекции обусловлена его оптимальным распределением в хорионе и децидуальной оболочке. Результаты исследования показали, что концентрация джозамицина в образцах хориона через 5 суток после приема препарата варьировалась от 0,15 до 1,80 мг/мл, в среднем составив 0,27 мг/мл, в децидуальной оболочке – от 0,40 до 2,10 мг/мл, в среднем составив 0,94 мг/мл. Известно, что минимальная подавляющая концентрация джозамицина в отношении *Ureaplasma urealyticum* составляет 0,03 мкг/м. Доля образцов, превышающих этот порог, составила 100 % наблюдений. Таким образом, полученные результаты позволяют рекомендовать антимикробную терапию микоплазменной инфекции в каждом случае ее выявления перед искусственным прерыванием беременности с целью профилактики возникновения постабортного эндометрита.

ВЫВОДЫ

1. Морфологическая организация маточно-плацентарной области в гестационном сроке 42–56 дней при наличии хламидийной инфекции характеризуется выраженными явлениями отека в decidua basalis, изменением соотношения объема стромы и децидуальных клеток, очаговыми кровоизлияниями. Инвазия трофобласта замедлена: объем и васкуляризация ворсин хориона снижены, что ведет к компенсаторному увеличению межворсинчатого пространства.

2. Морфологические изменения маточно-плацентарной области в первом триместре беременности, осложненном микоплазменной инфекцией в сочетании с вагинитом, сходны по характеру с наблюдаемыми при хламидийной инфекции, но менее выражены по степени отека decidua basalis, объем и васкуляризация ворсин также снижены. В случаях бессимптомной микоплазменной инфекции морфология маточно-плацентарной области соответствует таковой при отсутствии урогенитальной инфекции.

3. Хламидийная инфекция вызывает снижение популяции больших гранулярных лимфоцитов ($CD56^{++}CD16^{-}$) и увеличение численной плотности активированных НК-клеток ($CD56^{\pm}CD16^{+}$). При микоплазменной инфекции снижено содержание активированных НК-клеток, популяция больших гранулярных лимфоцитов не изменена, что обеспечивает физиологическое течение ранних этапов гестации.

4. Концентрация джозамицина в decidua basalis при пероральном приеме 1500 мг в сутки трехкратно через 8 часов составляет 0,94 мг/мл, в хорионе средняя концентрация препарата составляет 0,27 мг/мл. Данная концентрация превышает минимальную подавляющую концентрацию в отношении *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*.

5. Относительный риск развития постабортного эндометрита при микоплазменной инфекции составляет 3,0 (0,89–6,39). Применение специфической антибактериальной терапии в качестве предоперационной профилактики постабортного эндометрита у беременных, имеющих микоплазменный вагинит, снижает риск развития воспалительных осложнений. Соотношение шансов 1,5 (0,67–3,39).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение джозамицина в дозе 500 мг 3 раза в сутки с интервалом 8 часов в течение 5 дней перед проведением операции искусственного прерывания беременности обеспечивает профилактику возникновения постабортного эндометрита.

2. Наличие микоплазменной инфекции является показанием к назначению антибактериальной терапии перед медицинским абортом независимо от степени выраженности сопутствующего воспалительного процесса в нижних половых путях беременной.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хон Е.В. Фармакокинетические особенности антимикробной терапии в первом триместре беременности / С.Ю. Юрьев, Е.П. Пучковская, Т.А. Габидулина, Е.В. Хон // *Врач.* – 2009. – № 5. – С. 59–63.

2. Хон Е.В. Морфологическая оценка влияния урогенитальной инфекции на структурную организацию маточно-плацентарной области в первом триместре беременности / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // *Сибирский медицинский журнал.* – 2010. – Т. 25, № 4. – С. 88–91.

3. Хон Е.В. Морфологическая характеристика *decidua basalis* при микоплазменной инфекции в I триместре беременности / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.Ю. Юрьев // *Морфология.* – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 206.

4. Хон Е.В. Инфекционно-воспалительные реакции в децидуальной оболочке в первом триместре беременности / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // *Мать и дитя в Кузбассе.* – 2011. – Спецвыпуск № 1. – С. 126–130.

5. Хон Е.В. Эхоморфологические параллели при микоплазменной инфекции в первом триместре беременности / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // *Материалы 12-й открытой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке».* – Киров, 2011. – С. 10.

6. Хон Е.В. Степень зрелости децидуальных клеток в ранние сроки беременности при наличии уреа- и микоплазменной инфекции / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // *Материалы 12-й открытой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке».* – Киров, 2011. – С. 93–94.

7. Хон Е.В. Состояние некоторых показателей локального иммунитета маточно-плацентарной области а первом триместре беременности, осложненном хламидийной инфекцией / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // *Сб. материалов юбилейной межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВА в Кузбассе.* – Новокузнецк, 2011. – С. 163–165.

8. Хон Е.В. Морфологическая оценка гестационной трансформации децидуальных клеток при беременности, осложненной урогенитальной инфекцией в первом триместре беременности / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // *Сб. материалов юбилейной межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВА в Кузбассе.* – Новокузнецк, 2011. – С. 165–167.

9. Хон Е.В. Характеристика популяции плацентарных макрофагов при хламидийной инфекции / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // *Вестник Смоленской медицинской академии, специальный выпуск.* – Смоленск, 2011. – С. 45.

10. Хон Е.В. Особенности изменения популяции НК-клеток decidua basalis при беременности, осложненной хламидийной инфекцией / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Вестник Смоленской медицинской академии, специальный выпуск. – Смоленск, 2011. – С. 70.

11. Хон Е.В. Клинико-морфологические особенности беременности в первом триместре на фоне урогенитальной инфекции / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Вестник РГМУ. – 2011. – Специальный выпуск № 2. – С. 168.

12. Хон Е.В. Изменение количества больших гранулярных лимфоцитов в децидуальной оболочке при микоплазменном инфицировании / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Вестник РГМУ. – 2011. – Специальный выпуск № 2. – С. 160.

13. Хон Е.В. Ассоциация клинических и эхографических признаков урогенитальной инфекции в первом триместре беременности / Е.В. Хон // Вестник РГМУ. – 2011. – Специальный выпуск № 2. – С. 167–168.

14. Хон Е.В. Клинико-морфологические аспекты профилактики осложнений постабортного периода у женщин с микоплазменной инфекцией / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Науки о человеке: сб. ст. по материалам 12-го российского конгресса молодых ученых с международным участием. – Томск, 2011. – С. 53–54.

15. Хон Е.В. Влияние урогенитальной инфекции на гестационную трансформацию спиралевидных артерий / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Науки о человеке: сб. ст. по материалам 12-го российского конгресса молодых ученых с международным участием. – Томск, 2011. – С. 68–69.

16. Хон Е.В. Особенности течения и отдаленные результаты лечения микоплазменной инфекции в первом триместре беременности / Е.В. Хон // Материалы 45-й всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Актуальные проблемы теоретической, экспериментальной, клинической медицины и фармации». – Тюмень, 2011. – С. 96–97.

17. Хон Е.В. Характеристика популяции НК-клеток decidua basalis при беременности, осложненной хламидийной инфекцией / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий». – Томск, 2011. – С. 36–38.

18. Хон Е.В. К вопросу о иммунопатогенезе внутриутробной инфекции, ассоциированной с условно-патогенными микроорганизмами / С.Ю. Юрьев, Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий». – Томск, 2011. – С. 39–42.

19. Хон Е.В. Оптимизация спектра инфекционного предоперационного обследования методом ПЦР в системе профилактики развития постабортного эндометрита / Е.В. Хон, С.Ю. Юрьев // Сб. тр. 7-й всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2010». – М., 2010. – С. 273–274.

20. Хон Е.В. Сравнительная характеристика содержания децидуальных лимфоцитов на фоне антибактериальной терапии при урогенитальной инфекции / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Материалы 6-й всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине». – Казань, 2011. – С. 22.

21. Хон Е.В. Характеристика популяции плацентарных макрофагов при уреа- и микоплазменной контаминации / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Материалы 6-й всероссийской научно-практической конференции «Молодые ученые в медицине». – Казань, 2011. – С. 132–133.

22. Хон Е.В. Клеточный состав инфильтрата в базальной децидуальной оболочке в ранние сроки беременности при инфицировании урогенитальными микоплазмами / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // Морфология. – 2011. – Т. 139, № 3. – С. 72–76.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БГЛ – большие гранулярные лимфоциты

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЦНИЛ – центральная научно-исследовательская лаборатория

CD – кластер дифференцировки

Тираж 100 экз. Заказ 1012.
Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники.
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.
Тел. (3822) 533018.