

На правах рукописи

Фохт Ольга Михайловна

**ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЕ ВВЕДЕНИЕ АНТИБИОТИКОВ
В КОМПЛЕКСНОЙ ПРОФИЛАКТИКЕ ОСЛОЖНЕНИЙ
БОЛЬНИЧНОГО АБОРТА, ВЛИЯНИЕ НА ПРОЦЕССЫ
РЕГЕНЕРАЦИИ ЭНДОМЕТРИЯ**

14.00.01 – акушерство и гинекология

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

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

Томск – 2008

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Тихоновская Ольга Анатольевна
доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Коломиец Лариса Александровна
кандидат медицинских наук Бухарина Ирина Юрьевна

Ведущая организация

Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Красноярская государственная медицинская академия им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию».

Защита состоится «__» _____ 2008 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 научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г. Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан «__» _____ 2008 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Герасимов А.В.

Актуальность проблемы. Искусственное прерывание беременности (ИПБ) является одной из ведущих причин возникновения воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин с формированием синдрома хронических тазовых болей, генитального эндометриоза, нарушения менструальной функции, патологии эндометрия и, в конечном итоге, такой трагедии для женщины, как бесплодие. Причинами развития осложнений аборта являются травма эндометрия, способствующая персистенции инфекционного агента в раневой поверхности полости матки, и нарушение рецепторной активности эндометрия (Казачкова Э.А., 2000; Куземин А.А., 2005; Кулаков В. Н., Фролова О. Г., 2005). Расстройство регенеративной способности эндометрия, инициированное ИПБ, связано с дефицитом эстрогенов, оказывающих влияние на процессы пролиферации эндометрия и его прегравидарную трансформацию, что представляет особую опасность для юных и молодых женщин с незрелой регуляцией менструальной функции. Известно, что основными регуляторами морфологических изменений функционального слоя эндометрия в течение менструального цикла являются синтезируемые в яичниках стероиды, действие которых реализуется через специализированные рецепторные системы, в основном рецепторы эстрадиола (РЭ) и рецепторы прогестерона (РП). По мнению Н.В. Зароченцевой (2003) травматическое повреждение эндометрия приводит к изменению свойств рецепторов к половым стероидам и нарушает специфический ответ матки на гормональную стимуляцию. Изучение экспрессии РЭ и РП в эндометрии в настоящее время получает всё большее распространение (Эллиниди В.Н., Давыдова Н.И., Калинина Н.М. и др., 2003), однако степень и характер повреждения рецепторного аппарата эндометрия после ИПБ при различных видах профилактики постабортных осложнений изучены недостаточно.

подавляющее большинство существующих схем профилактики осложнений больничного аборта включает назначение комбинированных оральных контрацептивов (КОК), ставшее обязательным компонентом большинства методов предупреждения отдаленных осложнений больничного аборта (Кулаков В.Н., Прилепская В.Н., Гудкова М.А., 1996; Кулаков В.Н., Фролова О.Г., 2005).

По мнению многих отечественных и зарубежных исследователей применение антибиотиков при выполнении операции искусственного аборта является обязательным, особенно у женщин с сопутствующими экстрагенитальными и гинекологическими заболеваниями (Куземин А.А., 2005, Ketting E., 1994, Ketting E., 1998). Главная причина неэффективности большинства схем антибиотикопрофилактики воспалительных осложнений после ИПБ заключается в отсутствии длительной терапевтической концентрации антибиотика в крови, необходимой для подавления генерации инфекционного агента с момента возможной интраоперационной контаминации тканей, составляющей 3-4 часа после аборта (Генинг Т.П., Мануйлов К.К., 1991, Кирдей Е.Г., Кулинич С.И., Трусов Ю.В., 1996, Косаченко А.Ж., 2001).

До настоящего времени в литературе не описаны сведения об использовании методов экстракорпоральной антибиотикотерапии (ЭАТ) в системе профилактики осложнений искусственного прерывания беременности, несмотря на изученность различных фармакологических эффектов таких методик при лечении заболеваний инфекционного генеза. Так, экспериментальными исследованиями Т.П. Генинга, Н.М. Чебана (1997) установлено, что различные технологии включения антибиотиков в эритроцитарные носители приводит к существенным изменениям их фармакокинетики, заключающейся в изменении, как скорости выведения препаратов, так и накопления антибиотиков в органах и тканях. В частности, введение антибиотика в нативные тени эритроцитов вызывает увеличение его периода полувыведения до 11 часов из цельной крови и до 2,7 часа из сыворотки. Для более широкого применения разработан доступный метод направленного транспорта антибиотика в клеточной взвеси из малых объемов крови.

Таким образом, исследования по оценке эффективности и роли ЭАТ в профилактике осложнений ИПБ, и, особенно в предупреждении повреждения рецепторного аппарата эндометрия, являются перспективными и актуальными в сложившейся социально-демографической ситуации.

Цель исследования: определить роль и эффективность сочетанного использования экстракорпорального введения антибиотиков с назначением комбинированных оральных контрацептивов и иммуномодуляторов в процессах регенерации эндометрия после больничного аборта.

Задачи исследования:

1. Разработать способ профилактики ранних, отсроченных и отдалённых осложнений искусственного прерывания беременности с использованием экстракорпорального введения антибиотика в сочетании с назначением комбинированных оральных контрацептивов и иммуномодуляторов.

2. Изучить морфологические и иммуногистохимические (экспрессию рецепторов стероидных гормонов) характеристики эндометрия у пациенток после больничного аборта при применении экстракорпорального введения антибиотиков в сочетании с назначением комбинированных оральных контрацептивов и иммуномодуляторов.

3. Определить состояние иммунного и гормонального статуса женщины после искусственного прерывания беременности при применении экстракорпоральной антибиотикопрофилактики.

4. Провести сравнительную характеристику эффективности применения экстракорпорального введения антибиотика в сочетании с назначением комбинированных оральных контрацептивов и иммуномодуляторов в профилактике постабортных осложнений.

Научная новизна. Впервые в комплексной профилактике ранних, отсроченных и отдаленных осложнений аборта использован метод экстракорпоральной фармакотерапии цефамизином в сочетании с

традиционным послеоперационным применением комбинированного орального контрацептива и вагинальных свечей с иммуномодулятором «Полиоксидоний».

Впервые показано, что метод реинфузии аутогенной клеточной массы крови, инкубированной с антибиотиком, повышает эффективность профилактики воспалительных осложнений искусственного прерывания беременности. Способствует быстрому купированию болевого синдрома, инволюции матки, нормализации температуры тела, показателей крови, предупреждает развитие острого эндометрита.

Предложенный метод приводит к снижению частоты развития в отсроченном и отдаленном периоде хронического эндометрита, восстановлению нормальной экспрессии рецепторов эстрадиола и прогестерона в эндометрии. Как следствие этого, экстракорпоральная антибиотикопрофилактика способствует сохранению генеративной функции, снижает частоту нарушений менструальной функции.

Новыми являются сведения о корреляции иммунорегуляторного индекса с морфологическими признаками воспаления и экспрессией рецепторов эстрадиола и прогестерона в эндометрии. Полученные данные дополняют понимание патофизиологии развития отсроченных осложнений искусственного аборта.

Теоретическая и практическая значимость. Предложен и внедрен в практическое здравоохранение новый комплексный способ профилактики ранних, отсроченных и отдаленных осложнений искусственного прерывания беременности (патент на изобретение № 2308950 от 27 октября 2007г.), основанный на предоперационном внутривенном введении антибиотика, инкубированного с аутогенной клеточной массой крови женщины, в сочетании с послеоперационным применением иммуномодулятора «Полиоксидония» и комбинированных оральных контрацептивов. Использование метода экстракорпоральной фармакотерапии предупреждает персистенцию инфекционного агента в раневой поверхности матки после больничного аборта за счет увеличения длительности терапевтической концентрации антибиотика в крови, увеличения периода полувыведения препарата, снижения общей дозы используемого лекарственного средства и кратности его введения, что существенно уменьшает антигенную нагрузку ксенобиотиками на организм и обеспечивает нормализацию его иммунореактивности. Предложенный способ повышает экономическую эффективность режима антибиотикопрофилактики, а применение «Полиоксидония» нормализует иммунореактивность.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. После искусственного прерывания беременности через 2 месяца у каждой второй женщины формируется хронический эндометрит, выраженность которого коррелирует с низкой экспрессией рецепторов эстрадиола и прогестерона при нормальном содержании этих гормонов в крови. Количество рецепторов минимально при выраженной морфологической картине хронического эндометрита и коррелирует со степенью иммунных нарушений.

2. Предоперационная реинфузия аутогенной клеточной массы крови женщины инкубированной с цефамизином способствует восстановлению до

нормальных значений экспрессии рецепторов эстрадиола и прогестерона, и соответственно, полноценной морфологической трансформации эндометрия.

3. Реинфузия аутогенной клеточной массы крови, инкубированной с цефамизином, способствует быстрому, купированию болевого синдрома, инволюции матки, повышенной температуры тела и нормализации показателей периферической крови, предупреждает развитие острого эндометрита в раннем периоде и приводит к снижению частоты хронического эндометрита, сохраняя генеративную функцию в отдаленном периоде.

Апробация диссертации. Основные материалы опубликованы в 7 печатных работах, из них 1 статья в журнале, рекомендованном ВАК РФ, 1 патент РФ на изобретение.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 120 листах машинописного текста, состоит из введения, четырёх глав, выводов, практических рекомендаций. Содержит 16 рисунков, 7 таблиц. Список литературы включает 132 отечественных и 123 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В настоящей работе представлены результаты комплексного обследования 70 пациенток в возрасте 18-25 лет, которым было выполнено искусственное прерывание беременности (ИПБ) в МЛПУ Роддома № 1 при сроках беременности 4-10 недель. Средний возраст женщин составил $22,2 \pm 3,5$ года. Критериями включения в исследование являлись: возраст от 18-и до 25-и лет; срок беременности не более 10 недель; наличие показаний для интраоперационной антибиотикопрофилактики; планируемая в дальнейшем беременность. Критерии исключения: отсутствие информированного согласия на данное исследование; непереносимость антибиотиков цефалоспоринового ряда, тяжёлые экстрагенитальные заболевания, нежелание планировать беременность в ближайшие 3 года.

Все женщины методом нумерованных конвертов были разделены на 2 группы:

1-я группа (основная): 35 пациенток, которым за 1 час до ИПБ выполнялась экстракорпоральная антибиотикопрофилактика (ЭАТ) методом реинфузии 1г. цефамизина, инкубированного с аутогенной клеточной массой крови.

2-я группа (сравнения): 35 женщин, которым антибиотикопрофилактика осложнений ИПБ проводилась внутривенным введением 1г. цефамизина интраоперационно.

Контрольная группа (n=25) условно здоровые женщины, сходные по возрасту (18-25 лет), отсутствие в анамнезе хронических воспалительных заболеваний генитального тракта, экстрагенитальной патологии.

Всем женщинам после проведения искусственного аборта с 3-5-х суток был рекомендован прием комбинированных оральных контрацептивов (КОК), однако по различным причинам от их приема отказались 18 (подгруппа 1b) пациенток основной и 20 (подгруппа 2b) – группы сравнения. Соответственно, женщины которые принимали КОК составили 1a (n=17), 2a (n=15) подгруппы.

Кроме того комплекс профилактических мероприятий был дополнен назначением иммуномодулирующего препарата «Полиоксидоний» в виде вагинальных суппозиторий N10 с 5-х суток.

При поступлении у всех женщин изучали анамнез, проводили общее и гинекологическое обследование. Установлено, что у 65-и женщин данная беременность была первой, у 5-и женщин в анамнезе был один больничный аборт. Нарушений менструального цикла у пациенток основной группы и группы сравнения не выявлены. Очаги хронической экстрагенитальной инфекции в виде хронического тонзиллита, хронического пиелонефрита обнаружены у 22-х женщин. Ранее воспалительные заболевания нижних отделов генитального тракта (вагинит, кольпит) отметили 52 женщины, при осмотре эрозия шейки матки выявлена у 18-и человек.

Больничный аборт был выполнен по стандартной методике в условиях стационара под внутривенной анестезией.

Показаниями для назначения антибиотикотерапии с целью профилактики осложнений искусственного прерывания беременности являлись: первое прерывание беременности при не реализованной детородной функции, наличие в анамнезе воспалительных заболеваний генитального тракта и экстрагенитальная патология.

ЭАТ заключалась в том, что за 2 часа до предстоящей операции искусственного прерывания беременности из периферической вены беременной в асептических условиях производили забор 20 мл крови в шприц объемом 20 см³, содержащий 10 Ед гепарина. Шприц с кровью и антикоагулянтом смешивали и помещали вертикально канюлей вверх на 1 час для спонтанного осаждения клеток крови. После осаждения 50% объема крови, держа шприц канюлей вверх, удаляют плазму и в полученную клеточную массу добавляют 1,0 АТФ и 1г цефамизина, которые смешивают и помещают в термостат. Инкубируют при температуре 37° С в течение 30 минут, периодически покачивая шприц каждые 10 минут. После извлечения из термостата клеточную массу разводят 0,9% раствором натрия хлорида до 20 мл. Шприц помещают в шприцевой дозатор «Утес» и устанавливают скорость 20 мл/час.

В дальнейшем эффективность профилактических мероприятий оценивали на 3-е и 7-е сутки на основании жалоб, общего и гинекологического статуса женщин, а также по данным ультрасонографии органов малого таза.

Через 2 месяца после больничного аборта оценивали менструальную функцию женщин, проводили ультрасонографию органов малого таза, определяли иммунный статус, содержание прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови, морфологическое и иммуногистохимическое исследование аспирата эндометрия. Ультразвуковое исследование матки и ее придатков было выполнено в реальном масштабе времени аппаратом «ALOKA-SSD500» (Япония).

Исследование иммунного статуса обследованных женщин выполняли в лаборатории клинической фармакологии ГУ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН. О состоянии клеточного звена иммунитета судили по данным

субпопуляций Т-лимфоцитов, полученных из периферической крови на градиенте плотности фиколл-верографина по А. Vouum (1968). На 20-22-й день менструального цикла в сыворотке крови определялась концентрация прогестерона и на 2-3-й день – эстрадиола. Исследование проводилось с использованием наборов Sea-Ire-Sorin (Франция).

Морфологическое состояние эндометрия и экспрессию его рецепторов к прогестерону и эстрадиолу оценивали на 20–22-й день менструального цикла с помощью аспирационной биопсии (Pipelle de Cornie). Гистологическое исследование проводилось в патологоанатомической лаборатории СибГМУ, препараты окрашивали гематоксилином-эозином, а так же определяли экспрессию рецепторов прогестерона и эстрадиола в эндометрии через 2 месяца на 20-22-й день менструального цикла методом непрямой иммуногистохимической реакции на парафиновых срезах толщиной 3–5 мкм. Использовали аспират эндометрия с длительностью фиксации не более 12 часов. Депарафинированные по стандартной методике срезы помещали в цитратный буфер (pH = 6,0) и обрабатывали в микроволновой печи мощностью 650 Вт двукратно по 5 мин с перерывом в 1 минуту. Охлаждали 15–20 минут при комнатной температуре и промывали в трис-буфере (pH = 7,4–7,6). Для иммунного окрашивания использовали непрямой стрептавидин - биотиновый метод (Эллиниди В.Н., Аникеева Н.В., Максимова Н.А., 2002). После обработки срезов первичными и вторичными биотилированными антителами проводили инкубацию со стрептавидином, меченным ферментом щелочной фосфатазой, которую выявляли с помощью хромогена Fast Red, дающего красное окрашивание. Готовые срезы докрашивали гематоксилином и эозином. Контрольные негативные реакции выполняли без первичных антител, а контрольные позитивные реакции проводили с использованием 1-антител к плазматическим клеткам исследуемой ткани. Подсчет результатов осуществляли при помощи окулярной сетки Автандилова в 10 произвольно выбранных полях зрения при увеличении 400. Оценку иммуногистохимической метки производили по двум параметрам: а) степень распространения и б) интенсивность окраски.

Степень распространения окраски определяли путем подсчета количества окрашенных ядер по отношению к общему числу ядер (в %). Результаты оценивали в баллах: окраска 0–25% клеток – 100 баллов, 26–50% – 200 баллов, 50–75% – 300 баллов, 76–100% – 400 баллов. Интенсивность окраски 100 баллов – отсутствующая или слабая (синее окрашивание ядер), 200 баллов – умеренная (лиловое окрашивание ядер), 300 баллов – сильная (красное окрашивание ядер) (Эллиниди В.Н., Давыдова Н.И., Калинина Н.М., 2003).

При оценке иммуногистохимического значения по способу Histochemical score (H-score) (McCarthy et al, 1985) подсчитывали число ядер с разной интенсивностью окраски на 500 клеток и результаты были оценены по формуле $H\text{-score} = 1x\% \text{ слабо позитивных клеток} + 2x\% \text{ умеренно позитивных клеток} + 3x\% \text{ сильно позитивных клеток}$.

В течение 6, 12, 18 месяцев оценивали менструальную и репродуктивную функции, состояние органов малого таза при объективном и ультразвуковом

исследовании.

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с применением программного пакета Statistica 6,0 (StatSoft Inc., USA). Для оценки различий между показателями, полученными в динамике в одной и той же группе пациенток, применен критерий Wilcoxon для парных сравнений. Для сравнения отличий между группами – критерий Mann-Whitney. Применялся также корреляционный анализ по Spearman.

СОБСТВЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность экстракорпоральной антибиотикопрофилактики осложнений больничного аборта по данным клинических и лабораторно-инструментальных исследований

Применение экстракорпоральной антибиотикотерапии (ЭАТ) во время проведения больничного аборта способствовало уменьшению количества клинических симптомов, расцениваемых как осложнения больничного аборта.

На 3-е сутки после операции в основной группе болевой симптом регистрировали у 5-и (14,3%) пациенток, в группе сравнения - у 13-и (37,1%) женщин. При влагалищном исследовании субинволюция матки установлена у одной женщины основной и у 4-х (11,4%) пациенток группы сравнения. Повышение температуры свыше $37,3^{\circ}\text{C}$ выявлено у 2-х женщин основной группы и 5-и (14,3%) пациенток группы сравнения. Неполный больничный аборт и патологические выделения из половых путей не наблюдались ни у одной женщины. Частота появления указанных выше симптомов в группе пациенток, которым проводилась ЭАТ достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группе сравнения.

Обращение на 7-е сутки после больничного аборта с жалобами на непрекращающиеся кровянистые выделения из половых путей, субфебрильную температуру, тянущие боли внизу живота имело место у 3-х пациенток группы сравнения. При обследовании этих больных был диагностирован острый эндометрит, что было подтверждено лабораторными и ультразвуковыми исследованиями. Данным больным проведена базисная терапия в условиях стационара в течение 7 суток.

Наблюдение женщин в течение 2, 6, 12, 18 месяцев после больничного аборта показало, что нарушения менструальной функции в виде дисменореи, гиперполименореи, либо вторичной олигоменореи были отмечены у 5-и (14,3%) пациенток основной, и у 11-и (32,5%) пациенток группы сравнения ($p < 0,05$).

Определение содержания эстрадиола (на 2-3-й день менструального цикла) и прогестерона (на 20–22-й день менструального цикла) в сыворотке крови осуществляли через 2 месяца после больничного аборта. Содержание изучаемых гормонов в сыворотке крови в обеих группах не отличалось в среднем от контроля. Так, в основной группе показатели эстрадиола составляли $350,8 \pm 51,4$ пг/мл, а содержание прогестерона - $28,6 \pm 3,9$ нмоль/л. Содержание эстрадиола и прогестерона в группе сравнения составляло $323,6 \pm 40,4$ пг/мл и

26,3±5,2 нмоль/л, соответственно ($p>0,05$).

Данные исследования субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+) и гуморального иммунитета у женщин через 2 месяца после искусственного аборта в сравниваемых группах представлены в табл. 1.

Таблица 1
Показатели Т- и В-клеточного и гуморального иммунитета у женщин через 2 месяца после искусственного аборта, $X\pm m$

Показатель	Основная группа (n=35)	Группа сравнения (n=35)	Контрольная группа (n=25)
CD3, %	67±1#	63,8±1*	72,2±1,3
CD4, %	37,9±1,8#	34,5±1,9*	41,3±2,2
CD8, %	26±1,5	26±1,5	27,3±1,4
CD4/CD8	1,6±0,3#*	1,3±0,3*	1,8±0,1
CD19, %	15,2±1,3*	15,6±1,6*	13,8±1,4
IgA, г/л	1,3±0,2	1,4±0,1	1,5±0,4
IgM, г/л	1,2±0,1#	1,4±0,2*	1,2±0,1
IgG, г/л	11,5±0,7#	9,1±0,5*	12,7±2,2
ЦИК, усл.ед.	84,7±5,5#*	118,4±9,1*	68,2±2,4

Примечание: * - показатели достоверно ($p<0,05$) отличаются от контрольных; # - достоверное ($p<0,05$) отличие показателей в сравниваемых группах.

Как видно из представленных данных, в группе сравнения имеется снижение практически всех субпопуляций Т-клеточного иммунитета, снижение концентрации IgG, с одновременным повышением ЦИК, что свидетельствует о значимой реакции иммунной системы на оперативное прерывание беременности.

Установлено достоверное ($p<0,05$) снижение иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+) до 1,3±0,3 по сравнению с контролем (1,8±0,1). Уровень IgG в группе сравнения составлял 9,1±0,5 мг/л, что достоверно ($p<0,05$) меньше контрольного значения (12,7±2,2 мг/л.). В основной группе наблюдались лишь незначительные изменения, и средние показатели были близки к контрольным значениям. Показатели клеточного и гуморального иммунитета практически не зависели от приёма КОК.

Таким образом, использование ЭАТ в сочетании с применением иммуномодуляторов после аборта способствует сохранению показателей Т-клеточного и гуморального иммунитета на уровне нормальных значений, в то время как при традиционной профилактике в группе сравнения происходит снижение этих показателей выраженность которых коррелирует с воспалительными изменениями в эндометрии.

При ультразвуковом исследовании органов малого таза у 5-и (14,3%) пациенток основной и у 12-и (34,3%) пациенток группы сравнения выявлены

признаки нарушения трансформации эндометрия в виде несоответствия толщины эндометрия фазе менструального цикла, отсутствия четкой дифференцировки срединного М-эхо от миометрия, усиления сосудистой реакции (табл. 2). Ультразвуковые признаки хронического эндометрита (ХЭ) в основной группе установлены у 9-и пациенток (25,7%), что было достоверно реже, чем в группе сравнения - у 15-и (42,9%) женщин. Зависимости частоты этих показателей от приёма КОК не наблюдалось.

Таблица 2

Ультрасонографические показатели органов малого таза через 2 месяца после больничного аборта на 20-22-й день менструального цикла

Показатели	2 группа (основная) n=35		1 группа (сравнения) n=35	
	абс	%	абс	%
Несоответствие М-эхо фазам менструального цикла	5	14,3	12	34,3*
Расширение полости матки	2	5,7	5	14,3*
Нарушение эхоструктуры эндометрия	9	25,7	15	42,9*
Плохая дифференцировка М-эхо от миометрия	3	8,6	5	14,3*

Примечание: *достоверное отличие в сравниваемых группах ($p < 0,05$).

Оценка генеративной функции обследуемых после прерывания беременности показала, что в последующие 12-18 месяцев беременность наступила у 10-и (55%) из 18-и женщин, планировавших беременность основной группы, что достоверно чаще ($p < 0,05$) чем в группе сравнения, где беременность наступила у 6-и (35%) пациенток из 17-и планируемых.

Таким образом, такие осложнения больничного аборта как болевой синдром, субинволюция матки, острый эндометрит, изменение иммунной системы, нарушение менструальной функции и бесплодие при применении ЭАТ в сочетании с назначением иммуномодуляторов и КОК встречаются достоверно реже, чем при применении традиционного интраоперационного внутривенного введения антибиотика.

Эффективность экстракорпоральной антибиотикопрофилактики осложнений больничного аборта по данным морфологических и иммуногистохимических исследований

Морфологическое исследование аспирата эндометрия проводилось через 2 месяца после прерывания беременности на 20-22-е сутки менструального цикла. При световой микроскопии гистологических срезов, окрашенных гематоксилином и эозином, нормальная морфологическая картина эндометрия наблюдалась у 26-и (74,3%) женщин основной группы, что достоверно ($p < 0,05$) чаще, чем в группе сравнения, где она обнаружена у 19-и (54,3%)

обследованных. Эндометрий характеризовался нормальным соотношением желёз и стромы, обычной формой и величиной желёз.

Воспалительные инфильтраты различной степени выраженности обнаруживались в 9-и (25,7%) случаях в основной группе, что достоверно ($p < 0,05$) реже, чем в группе сравнения, где эти признаки обнаружены у 16-и (46,7%) обследованных. Зачастую воспалительные процессы в эндометрии протекали клинически мало- или бессимптомно, что является современной особенностью хронического эндометрита (ХЭ).

Почти всеми морфологами, изучавшими ХЭ, подчеркивается обязательное присутствие в препаратах плазматических клеток (Кузнецова А.В., Пауков В.С., Волощук И.Н., 2001; Эллиниди В.Н., Давыдова Н.И., Калинина Н.М., 2003). В то же время имеются сведения о том, что отсутствие плазматических клеток в эндометрии не всегда исключает диагноз ХЭ, и ряд авторов употребляет термин «неполная картина хронического эндометрита» (Шуршалина А.В., 2007). Как в основной, так и в группе сравнения в 17-20% можно было обнаружить неполную морфологическую картину ХЭ, то есть наличие только очаговой и/или рассеянной лимфомоноцитарной инфильтрации стромы эндометрия без плазматических клеток.

Инфильтраты чаще располагались в виде очагов, перигландулярно и периваскулярно или диффузно, в базальном и функциональном слоях эндометрия. При этом обнаруживались лимфомоноцитарные инфильтраты в виде очагов вблизи маточных желёз, полиморфноядерные лейкоциты.

Реже наблюдалась диффузная инфильтрация поверхностных и глубоких слоев эндометрия лимфоцитами и плазматическими клетками с очаговыми кровоизлияниями по ходу сосудов артериального типа или признаками васкулита. Воспалительные инфильтраты были представлены мононуклеарными клетками и состояли из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов, окруженных фибробластами.

Фиброз стромы и склероз спиральных артерий имел различную выраженность. Необходимо отметить, что выраженный фиброз, который мог бы свидетельствовать о наличии ХЭ до больничного аборта наблюдался в обеих группах в единичных случаях.

Вокруг воспалительных инфильтратов эндометрий был низкий, гипопластичный, либо находился в состоянии атрофии. У 4-х пациентов из группы сравнения с морфологическими признаками ХЭ была обнаружена очаговая гиперплазия эндометрия, что согласуется с данными литературы о роли воспаления в формировании гиперпластических процессов (Dahmoun M., Voman K., Cajander S. et al., 1999).

CD4/CD8

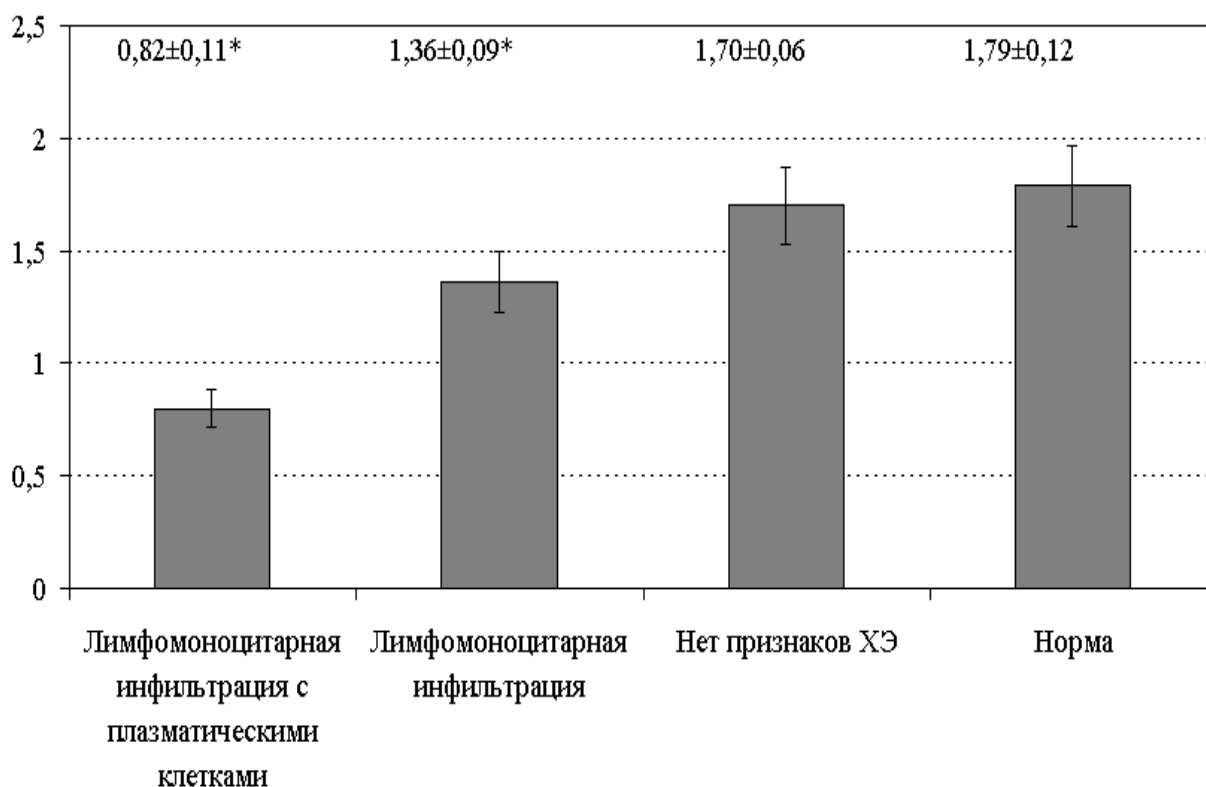


Рис. 1 Иммунорегуляторный индекс у женщин в отсроченный период после больничного аборта в зависимости от результатов морфологического исследования эндометрия (* - $p < 0,05$ с контрольной группой).

Необходимо отметить, что морфологические признаки ХЭ наблюдались с одинаковой частотой как при приёме КОК, так и при отказе от них, несмотря на то, что ряд авторов (Куземин А.А., 2000; Савельева И.С., 2001) указывали на основную роль КОК в профилактике постабортных осложнений.

У пациенток с признаками хронического эндометрита были снижены показатели клеточного и гуморального иммунитета (рис. 1).

Таким образом, после больничного аборта с традиционной антибиотикопрофилактикой осложнений в 46,7% случаев в аспиратах эндометрия в отсроченном периоде выявляются морфологические признаки хронического эндометрита, а применение ЭАТ в сочетании с иммуномодуляторами и КОК позволяет снизить частоту хронического эндометрита почти в 2 раза.

Исследование экспрессии рецепторов эстрадиола (РЭ) и прогестерона (РП) в эндометрии показало, что имеются достоверные отличия в характере экспрессии в основной и группе сравнения.

Таблица 3

Показатели экспрессии рецепторов эстрадиола и прогестерона в эндометрии через 2 месяца после аборта на 20-22 день менструального цикла

Индекс H-score	1 группа (основная), n=35		2 группа (сравнения), n=35	
	абс	%	абс	%
Экспрессия рецепторов эстрадиола, эпителий				
0-50	1	2,9	10	28,6*
51-100	3	8,6	8	22,9*
101-200	9	25,7	9	25,7
Более 201	22	62,9	8	22,9*
Экспрессия рецепторов эстрадиола, строма				
0-50	0	0,0	5	14,3*
51-100	3	8,6	5	14,3
101-200	10	28,6	10	28,6
Более 201	22	62,9	15	42,9*
Экспрессия рецепторов прогестерона, эпителий				
0-50	2	5,7	10	28,6*
51-100	3	8,6	7	20,0
101-200	10	28,6	9	25,7
Более 201	20	57,1	9	25,7*
Экспрессия рецепторов прогестерона, строма				
0-50	1	2,9	10	28,6*
51-100	1	2,9	9	25,7*
101-200	8	22,9	8	22,9
Более 201	25	71,4	8	22,9*

Примечание: *достоверные различия показателей в группах сравнения ($p < 0,05$).

Так, отрицательная экспрессия РЭ в эпителии в основной группе наблюдалась всего у 1-й женщины, тогда как в группе сравнения у 28,6% пациенток ($p < 0,05$). Высокий уровень экспрессии рецепторов эстрадиола у пациенток основной группы наблюдался чаще, чем в группе сравнения. Отрицательная экспрессия РЭ в строме эндометрия в основной группе не наблюдалась, а в группе сравнения обнаружено у 14,3% женщин. Высокий уровень экспрессии РЭ, напротив, наблюдался достоверно ($p < 0,05$) чаще в основной группе. Аналогичные закономерности обнаружены и при анализе методом H-score прогестеронрецепторной системы эндометрия. Отрицательная экспрессия РП в эпителии желез в основной группе наблюдалась всего у 2-х женщин, в группе сравнения у 28,6% человек ($p < 0,05$). Высокий уровень экспрессии РП в эпителии желез наблюдался чаще у пациенток основной группы. Отрицательная экспрессия РП в строме эндометрия в основной группе наблюдалась только в 1-ом случае, в группе сравнения у 10-и (28,6%) женщин.

Высокий уровень экспрессии РП в строме наблюдался достоверно чаще у пациенток основной группы. Средние значения H-score составили для РЭ эпителия желез $197,8 \pm 12,4$ в основной группе и $124,4 \pm 11,4$ в группе сравнения ($p < 0,05$); для РЭ стромы $200,6 \pm 16,5$ и $161,7 \pm 14,5$ ($p < 0,05$); для РП эпителия желез $193,9 \pm 17,9$ и $125,6 \pm 16,2$ ($p < 0,05$); для РП стромы $215 \pm 16,9$ и $142,8 \pm 17$ ($p < 0,05$), соответственно.

Снижение экспрессии РЭ и РП в сочетании с полной морфологической картиной ХЭ наблюдалось у обследованных женщин при нормальном содержании эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови.

Обнаружена выраженная зависимость экспрессии РЭ и РП в эпителии эндометрия от его морфологического состояния. Так, минимальные значения H-score (РЭ - $87,2 \pm 11,2$; РП - $65,7 \pm 7,7$) наблюдались у тех пациенток, у которых при микроскопии биоптатов эндометрия обнаруживалась полная морфологическая картина ХЭ. Зависимости H-score от приёма КОК в исследованных подгруппах не наблюдалось.

Установлена корреляция экспрессии РЭ и РП с иммунологическими показателями плазмы крови. Низкие показатели экспрессии РЭ и РП в эпителии эндометрия имели положительную корреляционную связь с иммунорегуляторным индексом С4+/С8+ ($r=0,37$ и $r=0,32$, соответственно, $p < 0,05$).

Таким образом, экспрессия стероидных гормонов в эндометрии матки у женщин через 2 месяца после больничного аборта достоверно выше при применении в составе комплексной профилактики осложнений ЭАТ, при этом она не зависит от содержания эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови, а связана с наличием хронического воспаления в эндометрии и с сопутствующей ему перестройкой иммунной системы.

Полученные данные свидетельствуют о выраженном клеточном дисбалансе в эндометрии на фоне хронического воспаления, что самостоятельно без учёта других патологических процессов может выступать в дальнейшем причиной нарушения процессов имплантации и плацентации. ХЭ является удобной биологической моделью для рассмотрения нарушений рецептивности, так как эндометрий – это ключевая структура в реализации имплантации, которая, по сути, является процессом сложной интеграции и обмена сигналами между плодным яйцом и клетками эндометрия. Потеря эндометрием способности к взаимодействию при значительном повреждении влечет за собой срыв процесса имплантации или развитие её патологических вариантов (Шуршалина А.В., 2007).

ВЫВОДЫ

1. Реинфузия аутогенной клеточной массы крови, инкубированной с цефамизином, способствует быстрому купированию болевого синдрома, инволюции матки, нормализации температуры тела, показателей крови, предупреждает развитие острого эндометрита.

2. Метод экстракорпоральной антибиотикотерапии в комплексной профилактике постабортных осложнений способствует сохранению и восстановлению генеративной функции, снижает нарушение менструальной функции, способствует более частому наступлению желаемых беременностей в течение 1,5 лет.

3. Искусственное прерывание беременности в 46,7% случаев сопровождается в отсроченном периоде разной степени выраженности клиническими, ультрасонографическими и морфологическими признаками хронического эндометрита, а применение экстракорпоральной антибиотикотерапии в комплексной профилактике осложнений аборта позволяет снизить частоту хронического эндометрита почти в 2 раза.

4. В отсроченный период после аборта происходит значимая реакция иммунитета в виде снижения иммунорегуляторного индекса, выраженность которого коррелирует с воспалительными изменениями в эндометрии. Применение экстракорпоральной антибиотикотерапии в комплексной профилактике осложнений аборта способствует восстановлению показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

5. В эпителии и строме эндометрия через 2 месяца после аборта подавляется экспрессия рецепторов эстрадиола и прогестерона при нормальных значениях этих гормонов в крови. Количество рецепторов минимально при выраженной морфологической картине хронического эндометрита, иммуногистохимические индексы экспрессии рецепторов эстрадиола и прогестерона в эпителии коррелируют с иммунорегуляторным индексом CD4+/CD8+.

6. Метод экстракорпоральной антибиотикотерапии в комплексной профилактике постабортных осложнений способствует восстановлению рецепторов эстрадиола и прогестерона в эндометрии, выраженность их экспрессии не зависит от приема комбинированных оральных контрацептивов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Показаниями для назначения экстракорпоральной антибиотикофилактики являлись первое прерывание беременности при нереализованной детородной функции, наличие в анамнезе воспалительных заболеваний генитального тракта, применение внутриматочной контрацепции, экстрагенитальная патология.

2. Наибольшей эффективностью обладает способ патогенетической профилактики воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин при проведении больничного аборта, заключающийся в однократной внутривенной реинфузии β-лактаминового антибиотика, инкубированного с аутогенной клеточной массой крови женщины, назначением с 3-5-х суток монофазных комбинированных оральных контрацептивов (КОК) и вагинальных суппозиторий полиоксидония в течение 10-ти дней.

3. Способ экстракорпоральной антибиотикофилактики осуществляется следующим образом. За 2 часа до предстоящей операции искусственного

прерывания беременности из периферической вены беременной в асептических условиях производят забор 20 мл крови в шприц объемом 20 см³, содержащий 10 Ед гепарина. Шприц с кровью и антикоагулянтом смешивают и помещают вертикально канюлей вверх на 1 час для спонтанного осаждения клеток крови. После осаждения 50% объема крови, держа шприц канюлей вверх, удаляют плазму и в полученную клеточную массу добавляют 1,0 АТФ и 1 г цефамицина, которые смешивают и помещают в термостат. Инкубируют при температуре 37°С в течение 30 минут, периодически покачивая шприц каждые 10 минут. После извлечения из термостата, клеточную массу разводят 0,9% раствором натрия хлорида до 20 мл. Шприц помещают в шприцевой дозатор «Утес» и устанавливают скорость 20 мл/час.

Реинфузию аутогенной клеточной массы крови, инкубированной с цефамизином, осуществляют за 1 час до аборта внутривенно с помощью шприцевого дозатора под контролем гемодинамики (артериальное давление и пульс). Длительность процедуры реинфузии 60 минут. Число сеансов: 1.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Аномальные маточные кровотечения (морфологические и иммуногистохимические аспекты) / И.П. Таюкина, О.А. Тихоновская, Л.Р. Мустафина, О.М. Фохт // Вестник перинатологии акушерства и гинекологии.- Красноярск: Издательство. - КрасГМА, 2007. - С 368-373.

2. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика эндометрия у пациенток в программе ВРТ / И.П. Таюкина, О.А. Тихоновская, Л.Р. Мустафина // Материалы 9 Всероссийского Научного Форума «Мать и дитя». - Москва, 2007. - С.535.

3. Новые возможности профилактики эндометрита после больничного аборта / О.М. Фохт, О.А. Тихоновская, И.П. Таюкина и др // Вестник перинатологии акушерства и гинекологии.- Выпуск 14. - Красноярск: Издательство. - КрасГМА, 2007. - С.397-401.

4. Состояние рецепторов половых стероидных гормонов эндометрия после больничного прерывания беременности / О.М. Фохт, О.А. Тихоновская, И.П. Таюкина и др // Сборник научных трудов межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии».- Красноярск: изд-во ООО «Версо», 2008 – С. 154-157.

5. Тихоновская, О.А. Эффективность восстановления эндометрия после больничного аборта при экстракорпоральной антибиотикопротекции / О.А. Тихоновская, О.М. Фохт, С.В. Логвинов // Бюллетень сибирской медицины, №3, 2008. – С. 23-27.

6. Соотношение морфологических и иммуногистохимических показателей эндометрия после больничного аборта О. А. Тихоновская, О.М. Фохт, И.П. Таюкина, С.В. Логвинов // Морфология №5. – 2008. - С. 97-98.

7. Патент РФ на изобретение № 2308950 от 26 июня 2006г. Способ профилактики воспалительных заболеваний органов малого таза после больничного аборта Опубл. 27.10.2007, Бюл. № 30.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

КОК	Комбинированные оральные контрацептивы
ИПБ	Искусственное прерывание беременности
РП	Рецепторы прогестерона
РЭ	Рецепторы эстрадиола
ЭАТ	Экстракорпоральная антибиотикотерапия
ХЭ	Хронический эндометрит
H-score	Histochemical score (гистохимический счёт)