

УДК 618.333-08-039.76-036-092

© Коллектив авторов, 2012.

## НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ВЕДЕНИЮ ЖЕНЩИН ПОСЛЕ ЭПИЗОДА НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Л. В. Потапова, О. В. Юркова, И. Ю. Мурызина, А. Н. Тищенко, И. Ю. Плахотная

Кафедра акушерства и гинекологии №1 (зав. – профессор Н. А. Щербина), Харьковский национальный медицинский университет, г. Харьков.

### NEW APPROACHES TO MANAGEMENT OF WOMEN AFTER MISSED ABORTION

L. V. Potapova, O. V. Yurkova, I. Y. Muryzina, A. N. Tishchenko, I. U. Plachotnaja

#### SUMMARY

The study was designed to elucidate the causative factors of missed abortion and its linkage with reproductive function compromise. The research comprised 124 women and main part of them (64) had just experienced missed abortion. The signs of corpus luteum failure were subsequently revealed in most of them and that was accompanied by features of shift in Th1/Th2-cytokines compartment in genitalia in favour of Th2 and impaired oestrogen and progesterone receptor express there. Insufficient maturation of endometrium and scanty production of glycodeclin supervened leading to restricted fecundity. The new method of rehabilitation of such women was implemented in order to correct those adverse findings.

### НОВІ ПІДХОДИ ДО ВЕДЕННЯ ЖІНОК ПІСЛЯ ЕПІЗодУ ВАГІТНОСТІ, ЩО НЕ РОЗВИВАЄТЬСЯ

Л. В. Потапова, О. В. Юркова, И. Ю. Мурызина, А. Н. Тищенко, И. Ю. Плахотна

#### РЕЗЮМЕ

Дослідження було спрямовано на уточнення чинників, що можуть сприяти виникненню завмерлої вагітності, а також на виявлення наслідків цього епізоду на стан репродуктивної функції. До дослідження були залучені 124 жінки, 64 з яких щойно було виконане вишкрібання порожнини матки з приводу завмерлої вагітності. В подальшому у більшості цих жінок були виявлені ознаки недостатності лютеїнової фази, зміни Th1/Th2 мікрооточення та цитокінового профілю, експресії рецепторів статевих стероїдів в зішкрібках. Наслідком цих змін слід пояснити властиві цим жінкам неповноцінну функціональну зрілість ендометрія та продукцію його клітинами  $\alpha$ -мікроглобуліну фертильності, що може призводити до зниження фертильності. З метою усунення цих відхилень нами було запропоновано новий метод реабілітації жінок після завмерлої вагітності.

**Ключевые слова:** неразвивающаяся беременность,  $\alpha$ -микроглобулин фертильности.

Частота привычных репродуктивных потерь составляет около 2,00% [2], а в структуре их причинных факторов 68,00% признаются идиопатическими [6], как и преимущественно в случаях неразвивающейся беременности (НБ). Даже первичный эпизод НБ можно расценивать как настораживающий прогностический признак повторения ситуации в дальнейшем, что объясняет важность поиска вероятных этиопатогенетических механизмов развития НБ и разработки на их основании реабилитационных мероприятий, которые помогут восстановить фертильность женщины.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследованием было охвачено 124 женщины. В основную группу отобраны 64 женщины с подтвержденной НБ. Группа сравнения сформирована женщинами, поступавшими для операции медицинского аборта согласно их желанию, при этом обязательным условием был неосложненный соматический и гинекологический анамнез. Дополнительно в исследование были вовлечены 30 здоровых

женщин, планирующих беременность, которые и составили контрольную группу. Кроме рутинных лабораторных методов и патоморфологического исследования, после завершения рекомендуемой приказом МОЗ Украины №518 противовоспалительной и гормональной терапии все пациентки были обследованы с целью оценки состоятельности лютеиновой фазы менструального цикла (МЦ). Динамика роста фолликула и преобразования срединных структур матки контролировалась при помощи ультразвукового исследования (УЗИ), применялись тесты функциональной диагностики (базальная температура), а также изучался микробиологический спектр полости матки и цервикального канала, содержание эстрадиола (E2) и прогестерона (П) в сыворотке крови, локальный иммунологический статус на основании определения в смывах из полости матки фактора некроза опухолей (ФНО- $\alpha$ ), интерлейкинов ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, а также особого иммуносупрессора –  $\alpha$ -микроглобулина фертильности (АМГФ), а по-

лученные при помощи пайпель-кюретки биоптаты эндометрия подвергались гистологическому исследованию для оценки его функциональной активности и определения экспрессии рецепторов эстрогенов (ЭР) и прогестерона (ПР) [1, 3, 4, 5, 7]. После этого начинался этап реабилитации. Для этого основная группа была разделена на две подгруппы: женщины 1-й подгруппы (31) получали монофазные комбинированные эстроген-гестагенные препараты (ЭГП) по контрацептивной схеме, а женщины 2-й подгруппы (33) получали криоконсервированный комплекс белков зоны беременности (БЗБ), полученный путём специальной обработки тканей плаценты. Препарат вводился внутримышечно по 1,8 мл через день (10, 12, 14, 16, 18 дни МЦ) в количестве 5 доз. Через 3 месяца весь спектр исследований повторялся.

Инфектологическое исследование осуществляли при помощи метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). УЗИ на 13-15 и 21-22 дни менструального цикла (МЦ) проводилось на аппарате «Siemens Sonoline 650» с трансвагинальным конвексным датчиком. Морфологический и морфометрический методы исследования соскобов и биоптатов эндометрия начинали с рутинной гистологической обработки с окраской гематоксилин-эозином, а затем подвергали иммуногистохимическому исследованию. В окрашенных препаратах подсчитывали количество положительно и отрицательно окрашенных ядер отдельно в железах и строме эндометрия. Уровень экспрессии ЭР и ПР определялся в железах и строме с помощью полуколичественного индекса IRS – иммунореактивности.  $IRS = SI \times PP$ , где SI – оптическая интенсивность окрашивания ядер, PP – процент положительно окрашенных ядер. Различалось 3 степени недостаточности: 0 (норма) – 81-100%, I ст. – 51-80%, II – 11-50%, III – 0-10%.

Содержание ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  и АМГФ в смывах из полости матки определялось иммуноферментным методом с помощью соответствующих реагентов «Протеиновый контур», а смывы получали введением 2 мл изотонического раствора в полость матки с немедленной его аспирацией пайпель-кюреткой. Статистическая обработка всех данных проведена на персональном компьютере методами вариационной статистики и ранговой корреляции с использованием пакета прикладных программ Excel'2003 для Windows'XP'Professional. Достоверность различий параметрических показателей оценивалась с помощью t-критерия Стьюдента и Фишера.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Основная группа отличалась характерным микробиологическим статусом: у 93,75% в шеечном канале персистируют различные инфекционные агенты (10,00% – моноинфекция, протозойно-вирусно-бактериальная ассоциация – 83,75%), у 25,57% был диагностирован бактериальный вагиноз, в 75,00% микроорганизмы выявлялись в полости матки

преимущественно в виде моноинфекции, которая в 25,97% случаев не совпадала с цервикальной флорой (*Chlamidia trachomatis* – 21,50%, цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ) – 19,50%, *Mycoplasma hominis* – 17,50%, вирус простого герпеса (ВПГ) – 16,50%). Ситуация в группе сравнения отличалась разительно: в составе микрофлоры шеечного канала обнаруживались грибы рода *Candida albicans*, эпидермальный стафилококк, кишечная палочка, а в соскобе из полости матки инфекционные агенты не определялись. Аналогичной была ситуация и в контрольной группе. Гистологическое исследование соскобов выявило у 34,37% женщин основной группы хорионит, у 32,47% – очаговый фиброз стромы, 80,52% – склеротические изменения стенок спиральных артерий, в 100,00% – плазматические клетки. Таким образом, часто НВ возникала на фоне хронического эндометрита.

Для основной группы характерными были: укорочение II фазы до 3-8 дней (в среднем  $6,40 \pm 1,43$  дня), недостаточный подъём базальной температуры на  $0,2-0,3^\circ\text{C}$ , отставание толщины эндометрия в средней стадии секреции ( $8,65 \pm 0,85$  мм) от показателя группы сравнения ( $10,00 \pm 0,95$  мм), часто ультразвуковые признаки секреторной трансформации эндометрия были слабо выражены. Размеры доминантного фолликула в основной группе ( $14,27 \pm 2,12$  мм) были на 25,99% меньше значения в группе контроля ( $19,28 \pm 0,45$  мм). Значения E2 отвечали нижней границе нормы для секреторной фазы (табл. 1), а П достоверно уступал показателям групп сравнения и контроля ( $p < 0,05$ ). Содержание ИЛ-10 в смывах из полости матки, полученных в секреторную фазу основной группы, было в 2,9 раза ниже, чем в других группах, а ИЛ-6, напротив, в 4,1 раза выше, несмотря на проведенную противовоспалительную терапию. Подобной была и ситуация с другими Th1-цитокинами: ИЛ-1 $\beta$  был повышен в 5,4 раза, а ФНО- $\alpha$  – в 3,1 раза ( $p < 0,05$  в сравнении с двумя другими группами). Значения АМГФ в смывах из полости матки групп сравнения и контроля, как и другие показатели этих групп, достоверно между собой не различались ( $p > 0,05$ , табл. 1), тогда как показатель АМГФ основной группы уступал им в 6,3 раза ( $p < 0,05$ ). Оценка морфофункционального состояния эндометрия, полученного при помощи аспирационной пайпель-кюретки на 21-23 день МЦ, показала, что в основной группе в 85,79% случаев отмечалось отставание в созревании эндометрия: в 25,00% – «незначительное», 28,12% – «умеренное», 32,67% – «выраженное», тогда как в группах сравнения и контроля лишь в единичных случаях встречалось «незначительное» отставание. Эта картина подтверждалась спектром экспрессии PЭ и PП: IRS PЭ и PП как в железах, так и в строме на 21-23 дни МЦ в группах сравнения и контроля были очень близки между собой ( $p > 0,05$ , табл. 1), тогда как в основной группе IRS PЭ в железах уступал группам сравнения в 2,3 раза, в строме – в 2,0 раза. Аналогично IRS PП в основной группе был снижен в 5,3 раза в железах, в 2,8

раза – в строме ( $p < 0,05$  в сравнении с другими группами, табл. 1). Таким образом, несмотря на тотальную недостаточность как РЭ, так и РП (преимущественно II-III ст. – у 72,09%) в секреторном эндометрии основной группы, соотношение в пользу РЭ свидетельствует о недостаточности лютеиновой фазы (НЛФ).

После первого курса комплексной антибактериальной, противовирусной, иммунокорректирующей терапии, включающей комплекс БЗБ, ПЦР не определяла бактериально-вирусные ассоциации в материале из полости матки у 24 пациенток (72,72%), а у 9 женщин (27,27%) повторно выявлены ВПП, ЦМВ. В подгруппе с применением ЭГП только у 12 женщин (38,70%) достигнут успех санации после первого курса, а после повторного – у 51,61%, тогда как в 25,80% желаемый эффект не был получен. Полноценное восстановление кривой базальной температуры во II фазе отмечено у 30 (90,91%) пациенток подгруппы с применением БЗБ, при этом показатели фолликулометрии были достаточными у 28 (84,85%) женщин, тогда как в подгруппе ЭГП эти показатели были менее обнадеживающими: у 21 (67,74%) и 17 (54,84%) соответственно.

Уровень E2 и П повышался по мере лечения в обеих подгруппах. В подгруппе с БЗБ, E2 возрос в сравнении с исходными данными в 1,6 раза ( $p < 0,05$ , табл. 1), достигнув контрольной группы ( $p > 0,05$ ). Показатель П увеличился до  $19,50 \pm 1,40$  нмоль/л – в 2,3 раза ( $p < 0,05$ ) и достоверно тоже не отличался от контрольной группы и группы сравнения ( $p > 0,05$ ). В подгруппе с применением ЭГП уровень E2 возрос в 1,6 раза и достоверно не отличался от других групп. Обращает на себя внимание

показатель П в этой подгруппе, который после лечения составил  $24,32 \pm 2,41$  нмоль/л, что в 2,9 раза выше показателя до лечения и сравнимо с показателями групп контроля и сравнения ( $p < 0,05$ ).

В обеих подгруппах после лечения изменилось соотношение Th1- и Th2-цитокинов в пользу последних. ИЛ-10 увеличился в БЗБ-подгруппе в 2,9 раза, в ЭГП-подгруппе – в 1,7 раза ( $p < 0,05$  в сравнении с исходными данными и  $p > 0,05$  между подгруппами, табл. 1) и был сравним с показателями групп контроля и сравнения ( $p > 0,05$ ). Провоспалительные интерлейкины (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6) заметно снижались в обеих подгруппах ( $p < 0,05$  в сравнении с исходными данными): ИЛ-1 $\beta$  в БЗБ-подгруппе снизился в 4,7 раза, а в ЭГП – в 2,5 раза, хотя в обеих подгруппах приближался к уровню групп контроля и сравнения ( $p > 0,05$ ). Выявлено достоверное изменение в сторону снижения ФНО- $\alpha$  в 4,0 раза ( $p < 0,05$ ) со сходной динамикой в обеих подгруппах ( $p > 0,05$  между подгруппами), приближающейся к показателям контрольной группы. ИЛ-6 достоверно снижался: в БЗБ-подгруппе в 4,6 раза, а в ЭГП – в 2,0 раза ( $p < 0,05$  в динамике). Однако в I подгруппе данный показатель приближался к контрольным ( $p > 0,05$ ), а во II подгруппе сохранялось достоверное отличие как от групп контроля и сравнения ( $p < 0,05$ ), так и I-й подгруппы. Уровень АМФГ в БЗБ-подгруппе возрастал в 7,5 раза ( $p < 0,05$ , табл. 1), сравнявшись с контрольными значениями ( $p > 0,05$ ). В подгруппе с лечением ЭГП этот показатель увеличился лишь в 2,1 раза, что достоверно отстаёт как от контрольных показателей ( $p < 0,05$ ), так и значений I-й подгруппы, отражая недостаточную готовность «окна имплантации» в эндометрии вследствие НЛФ.

Таблица 1

Исследуемые показатели всех групп

Показатели	Основная группа n=64			Группа сравнения n=30	Контроль n=30	
	До лечения	ЭГП	БЗБ			
ИЛ-10, пг/мл	8,5 $\pm$ 2,4*а	15,2 $\pm$ 2,3*г	24,3 $\pm$ 4,4	21,1 $\pm$ 4,4	25,3 $\pm$ 5,3	
ИЛ-1 $\beta$ , пг/мл	23,6 $\pm$ 5,3*а	9,2 $\pm$ 2,3	5,0 $\pm$ 1,4	4,3 $\pm$ 1,5	5,2 $\pm$ 1,6	
ФНО- $\alpha$ , пг/мл	14,7 $\pm$ 3,1*а	4,3 $\pm$ 1,1	3,6 $\pm$ 1,8	4,6 $\pm$ 1,6	2,9 $\pm$ 1,4	
ИЛ-6, пг/мл	53,5 $\pm$ 8,9*а	25,8 $\pm$ 4,7*г	11,5 $\pm$ 4,5	14,5 $\pm$ 4,4	12,9 $\pm$ 3,8	
АМФГ, нг/мл	1678,5 $\pm$ 656,7*а	3535,4 $\pm$ 2132,6*	12734,3 $\pm$ 356,4 $\Gamma$	9787,3 $\pm$ 2325,7	10674,4 $\pm$ 2768,5	
E2, нмоль/л	0,33 $\pm$ 0,12	0,41 $\pm$ 0,08	0,53 $\pm$ 0,02	0,48 $\pm$ 0,03	0,56 $\pm$ 0,05	
П, нмоль/л	8,35 $\pm$ 1,35*а	24,32 $\pm$ 2,41	19,50 $\pm$ 1,40	20,81 $\pm$ 1,43	22,87 $\pm$ 2,44	
IRS РЭ, нмоль/ мл	железы	22,29 $\pm$ 2,71*а	16,22 $\pm$ 1,21*	45,21 $\pm$ 3,22 $\Gamma$	44,56 $\pm$ 3,81	48,41 $\pm$ 4,54
	строма	33,71 $\pm$ 3,54*а	23,33 $\pm$ 3,21*	59,34 $\pm$ 5,67 $\Gamma$	63,76 $\pm$ 7,45	68,45 $\pm$ 5,61
IRS РП, нмоль/ мл	железы	20,95 $\pm$ 4,46*а	21,11 $\pm$ 4,81*	98,34 $\pm$ 9,34 $\Gamma$	95,02 $\pm$ 10,45	110,21 $\pm$ 12,48
	строма	31,29 $\pm$ 5,83*а	37,76 $\pm$ 3,65*	82,54 $\pm$ 6,08 $\Gamma$	79,45 $\pm$ 6,41	86,37 $\pm$ 7,98

Примечание: \* – различия в сравнении с контрольной группой достоверны при  $p < 0,05$ ; а – различия между основной и группой сравнения достоверны при  $p < 0,05$ ; в – различия результатов основной группы до лечения и после лечения при  $p < 0,05$ ; г – различия между ЭГП и БЗБ подгруппами при  $p < 0,05$ .

В БЗБ-подгруппе заметно увеличился уровень IRS РЭ как в железах, так и в строме (в 2,0 и 1,8 раза соответственно, табл. 1), достоверно не отличаясь от показателей групп контроля и сравнения. Аналогично и в железах, и в строме возрос IRS РП (соответственно в 4,7 и 2,7 раза), почти сравнявшись с данными контрольной группы ( $p > 0,05$ ). При этом картина недостаточности экспрессии РЭ в этой подгруппе распределилась таким образом: 0 ст. – 56,40% и 46,50% в железах и строме соответственно, I ст. – 43,60% и 53,50%, а по степени тяжести недостаточности экспрессии РП в железах: 0 ст. – 34,50%, I ст. – 56,70%, II ст. – 8,80%; в строме: 0 ст. – 44,60%, I ст. – 55,40%.

После лечения ЭГП показатели IRS РЭ в железах и строме имели даже тенденцию к снижению ( $p > 0,05$ , табл. 1). IRS РП и в железах, и в строме тоже оставался на низком уровне. Недостаточность экспрессии РЭ в железах и строме соответствовала I и II ст. у 84,20%, в 15,80% оставаясь на уровне III ст., в то время как экспрессия РП была II ст. недостаточности в железах в 76,50% случаев, а в строме – в 56,70%, то есть восстановление экспрессии РЭ и РП происходило медленными темпами.

Затруднительно точно установить механизм нарушений, ведущих к НБ. В качестве причинного фактора можно рассматривать персистирующую инфекцию, которая приводит к изменению чувствительности ЭР и ПР, а следовательно, и извращению эффектов половых стероидов в отношении морфофункциональных преобразований эндометрия, нарушению иммунного микроокружения за счёт рассогласования цитокинового баланса, когда потеря принципа обратной связи влечёт за собой непредсказуемые комбинации цитокинов, например, полученные в нашем исследовании высокие значения как ФНО- $\alpha$ , так и ИЛ-10. Высокий уровень ФНО- $\alpha$  может препятствовать адекватной инвазии трофобласта, ИЛ-6 путём нарушения гемокоагуляционных свойств может приводить к гибели плодного яйца, однако высокий ИЛ-10 нарушает процесс его иммунного отторжения. Восстановление фертильности даже после санации очага инфекции может затрудняться нарушенными гормонально-цитокиновыми связями,

определяющими полноценный МЦ с адекватной функциональной активностью эндометрия, отражающейся должной продукцией АМГФ. Применение нативных комплексов БЗБ может способствовать возвращению этого баланса.

#### ВЫВОДЫ

НБ является результатом нарушения иммуно-эндокринно-тканевых взаимоотношений в генитальном тракте, что в дальнейшем может приводить к стойкому снижению фертильности женщины. Криоконсервированный комплекс БЗБ, введённый в план реабилитационных мероприятий после НБ, позволяет значительно повысить их эффективность.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Запорожан В. М. Эндогенна імунорегуляція вагітності / В. М. Запорожан, Ю. І. Бажора, І. М. Годзієва // Інтегративна антропологія. – 2003. – № 2. – С. 20–27.
2. Реабилитация репродуктивного здоровья / Л. В. Посисеева, Е. Л. Бойко, Н. Ю. Борзова [и др.] // Вестник Росс. ассоциации акуш.-гинекол. – 1995. – № 4. – С. 42–46.
3. Татаринов Ю. С. Специфический альфа2-микроглобулин (гликоделин) репродуктивной системы человека: 20 лет от фундаментальных исследований до внедрения в клиническую практику / Татаринов Ю. С., Посисеева Л. В., Петрунин Д. Д. – М.: Иваново, 1998. – 128 с., ил.
4. Шмагель К. В. Иммуитет беременной женщины / К. В. Шмагель, В. А. Черешнёв. – М., 2003. – 226 с.
5. Human endometrial protein secretion relative to implantation / M. Seppala, M. Andervo, R. Koistinen [et al.] // Bailliere's Clin. Obstet. Gynaecol. – 1991. – Vol. 5, № 1. – P. 61–72.
6. Incidence of early pregnancy loss / A. J. Wilcox, C. R. Weinberg, J. F. O'Connor [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1988. – Vol. 319. – P. 189.
7. Luteal phase concentration of a progestogen-associated endometrial protein (PEP) in serum of cycling women with adequate or inadequate endometrium / S. G. Joshi, R. Rao, E. E. Henriques [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1986. – Vol. 63. – P. 1247–1249.