

© МАРИНКИН И.О., ИЛИЗАРОВА Н.А., КУЛЕШОВ В.М., НЕПОМНЯЩИХ
Г.И.

УДК 618.39-021.3-091.8

КЛИНИКО-ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИВЫЧНОГО НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

И.О. Маринкин, Н.А. Илизарова, В.М. Кулешов,
Г.И. Непомнящих

Новосибирский государственный медицинский университет.
ректор – д.м.н., проф. И.О. Маринкин; кафедра акушерства и гинекологии
педиатрического факультета, зав. – д.м.н., проф. И.О. Маринкин;
Научно-исследовательский институт региональной патологии и
патоморфологии Сибирского отделения РАМН,
директор – д.м.н., проф. Л.М. Непомнящих.

***Резюме.** Для поиска оптимальной схемы предгравидарной подготовки у пациенток с привычным невынашиванием беременности исследовали концентрацию центральных и периферических гормонов, морфоструктурные изменения в железистых эпителиоцитах эндометрия при различных терапевтических схемах. При назначении фемостона 1\10 и дюфастона 10 в сочетании с циклической метаболической терапией отмечали: нормализацию уровня гормонов, признаки активизации генома, синтетических и секреторных процессов в железистых эпителиоцитах, признаки активизации транспортных и обменных процессов в эндометрии, что необходимо для наступления и вынашивания беременности.*

***Ключевые слова:** невынашивание беременности, железистые эпителиоциты, эндометрий.*

Маринкин Игорь Олегович – д.м.н., проф., ректор НГМУ, зав. кафедрой акушерства и гинекологии педиатрического факультета НГМУ; тел. 8(383)2223204, e-mail: rektorngmu@yandex.ru.

Илизарова Наталья Александровна – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета НГМУ; e-mail: n.ilizarova@ngs.ru.

Кулешов Виталий Михайлович – д.м.н., проф. кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета НГМУ; e-mail: kuleshov_vm@mail.ru.

Привычное невынашивание беременности (ПНБ) является одной из наиболее сложных медико-социальных проблем. И если терапия преждевременных родов и поздних самопроизвольных выкидышей достаточно изучена, то вопрос лечения невынашивания на ранних сроках беременности до сих пор не нашел однозначного ответа.

Цель исследования – изучить патоморфогенез и обосновать стратегию терапии привычного невынашивания беременности на основе комплексного клинического и структурно-функционального изучения репродуктивной системы.

Материалы и методы

Исследованы клиническая картина и биоптаты эндометрия 80 женщин с ПНБ (1-я, 2-я и 3-я группы) с тремя схемами предгравидарной подготовки в течение 3-х менструальных циклов; 20 женщин с наличием в анамнезе беременностей с благоприятным исходом составили 4-ю, контрольную, группу. Средний возраст женщин по группам не имел значимых различий и варьировал в пределах 27 лет.

1-я группа: 20 женщин – циклическая метаболическая терапия 3 раза/сут: с 5-го по 15-й дни менструального цикла – витамин Е 100 мг, пантотенат кальция 0,1 г и липоевая кислота 0,012 г; с 16-го по 25-й день – витамин Е 100 мг, фолиевая кислота 1 мг и оротат калия 0,5 г.

2-я группа: 30 женщин – сочетание циклической метаболической терапии и натурального аналога прогестерона – дидрогестерона (дюфастона) по 20 мг в сут с 16-го по 25-й день.

3-я группа: 30 женщин – сочетание циклической метаболической и

гормональной терапии, включающей фемостон (1 мг 17β-эстрадиола и 10 мг дидрогестерона) с 1-го по 28-й день цикла с дополнительным приемом дюфастона (дидрогестерона) по 10 мг в сут с 16-го по 25-й день. Важно отметить, что доза эстрогенов снижена в 2 раза для профилактики гиперпластических реакций эндометрия.

Во всех случаях получено информированное согласие на проведение комплексного обследования и лечения. Среди критериев участия в исследовании (наряду с ПНБ) – отсутствие тяжелой экстрагенитальной патологии, онкологических заболеваний, туберкулеза и острых инфекционных заболеваний.

Проводили комплексное клиническое исследование, включающее в себя динамическое ультразвуковое исследование органов малого таза, оценку уровня гонадотропинов и половых гормонов, исследование системы гемостаза с выявлением маркеров антифосфолипидного синдрома, изучение концентрации циркулирующих иммунных комплексов, про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови, а также баланс в системе «про- и антиоксиданты» по уровню малонового диальдегида и жирорастворимых витаминов А и Е.

Комплексное патоморфологическое исследование 196 биоптатов (соскобов) эндометрия, взятых на 23-й день менструального цикла, выполняли в соответствии с рекомендациями О.К. Хмельницкого [5] и Н.М. Аничкова [2]. Светооптическое исследование образцов проводили с помощью универсального микроскопа Leica DM 4000В (Германия).

Для электронно-микроскопического исследования биоптатов эндометрия использовали фиксацию в 4% растворе параформальдегида, после стандартной обработки ткань заливали в смесь эпона и аралдита. Морфометрическое исследование ультраструктуры железистых эпителиоцитов матки проводили с помощью закрытой тестовой системы 144 точек при конечном увеличении в 30000 раз.

Результаты и обсуждение

Клиническая характеристика пациенток с ПНБ. Изолированных причин ПНБ не выявлено. Прерывание беременности сопровождалось, как правило, неразвивающейся беременностью (51%) и самопроизвольным выкидышем (40% случаев). Отмечена высокая частота гинекологических заболеваний по группам: кольпиты (33 – 42,2%), цервициты (35,3 – 42,7%), острые сальпингоофориты (30,9 – 39,7%) и эрозия шейки матки (17,3 – 26%), сочетающиеся с хроническим тонзиллитом (28,8 – 42%), пиелонефритом (11,8 – 20%) и циститом (12,3 – 27,9%). В эндометрии и цервикальном канале выявлялись условно-патогенные штаммы и вариации микробно-вирусных ассоциаций, отражающие дисбиотические процессы, во многом обусловленные неполноценным стероидогенезом в яичниках при ПНБ.

Выявлен достаточно высокий уровень наследственно обусловленных гемостазиологических синдромов (гипергомоцистеинемия 23%, тромбофилии 22% и проявления антифосфолипидного синдрома у 20% пациенток). Привычное невынашивание беременности характеризовалось повышением концентрации провоспалительных цитокинов и сдвигом баланса в системе «про- и антиоксиданты» в сторону оксидативного стресса с неблагоприятным фоном для инициации, развития и пролонгирования беременности. В результате предгравидарной подготовки воздействие циклической гормональной и метаболической терапии на иммунные реакции способствовало усилению активности Th 2 типа, продуцирующих интерлейкин-4, и снижению интерлейкина-1 β в сыворотке крови. Антиоксидантная терапия обеспечивала направленную регуляцию активности реакций перекисного окисления липидов и снижала риск развития окислительного стресса.

Уровни концентраций ФСГ, ЛГ, эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови при ПНБ до лечения достоверно отличались от показателей контрольной группы и во всех группах имели положительную динамику, однако наиболее значимый эффект получен при метаболической и циклической гормональной терапии у пациенток 3-й группы.

Патоморфологическое исследование. Исследованы биоптаты эндометрия,

взяты на 22 – 24 день менструального цикла до и после курса терапии.

При привычном невынашивании беременности (1 – 3 группы до лечения) в среднюю стадию фазы секреции менструального цикла выражены атрофия эндометрия, в том числе атрофия желез и glandularного эпителия со значительным уменьшением количества внутридерных вакуолей. Обращал на себя внимание полиморфизм желез по степени созревания, и лишь единичные железы соответствовали стадии фазы секреции. Отмечались единичные клубки спиральных артерий – по 2 – 3 поперечных среза в поле зрения.

В биоптатах контрольной группы женщин, полноценно сохранивших детородную функцию (4-я группа), эндометрий соответствовал полноценно сформированной средней стадии фазы секреции: большое количество активно секреторных желез преимущественно пилообразной и звездчатой формы, с широким просветом, заполненным секретом. В стромальной части эндометрия густые клеточные инфильтраты, формирующиеся как за счет пролиферации, так и гипертрофии клеток. Обращало на себя внимание большое количество клубков спиральных артерий с 5 – 7 сосудистыми профилями. Покровный эпителий однорядный цилиндрический, с единичными реснитчатыми клетками, отчетливыми признаками апокриновой секреции и значительным содержанием гликогена, локализующимся и в базальной, и в апикальной части эпителиоцитов. В целом, структурными маркерами рецептивности эндометрия во второй фазе менструального цикла являлись адекватная дифференцировка эпителиоцитов на секреторные и реснитчатые клетки, высокая секреторная активность, гиперплазия спиральных артерий и децидуоподобная трансформация стромальных клеточных популяций.

1-я группа (циклическая метаболическая терапия). К особенностям эндометрия в условиях метаболической терапии относились отсутствие четкого послойного деления на поверхностный и губчатый слои, выраженный полиморфизм секреторного компартмента – преимущественно извитая форма желез, в меньшем числе – звездчатая и пилообразная. Последние имели высокий призматический эпителий, и лишь в просветах некоторых из них

визуализировался секреторный материал. Доминирующие извитые железы выстланы атрофированным эпителием при отсутствии каких-либо признаков секреции. Клубки спиральных артерий состояли преимущественно из 2 – 3 сосудистых профилей. Покровный эпителий отличался значительной гетерогенностью, с трансформацией от однорядного, лишенного каких-либо признаков секреции, до многорядного, активно секретирующего и содержащего гликоген как в базальной, так и в апикальной зоне, нередко в ассоциации с липидными вакуолями.

В целом, в этой группе доминировала секреторная дисфункция в связи с незрелостью секреторного компартмента, что свидетельствовало о недостаточности гормонов желтого тела или снижении чувствительности рецепторов клеток желез и стромы к прогестероновому воздействию.

2-я группа (циклическая метаболическая терапия в сочетании с дюфастоном). Отмечена более позитивная картина в сравнении с 1-й группой, отражающая соответствующие срокам менструального цикла структурные изменения эндометрия. Это касалось, в первую очередь, железистого компартмента, в котором доминировали железы звездчатой и пилообразной формы с широкими просветами, складчатыми контурами, заполненные компонентами слизистого секрета. Одновременно в некоторых участках эндометрия имелись железы без признаков секреторной функции. Децидуальная реакция стромы имела преимущественно периваскулярный характер и была более значительной в сравнении с предыдущей группой. Гетерогенность отмечена и в развитии сосудистого компартмента – одновременно с полностью сформированной сетью клубков спиральных артерий (5 – 7 профилей) обнаружена недостаточно развитая сеть с меньшим числом поперечных срезов. Поверхностный эпителий представлен полиморфным цилиндрическим эпителием с более высоким содержанием гликогена и апокриновой секрецией. В целом, в эндометрии развивалась более значительная, чем в 1-й группе, но неоднородная секреторная реакция.

3-я группа (сочетание циклической метаболической и циклической

гормональной терапии). Отмечена значительная модификация эндометрия, основу которой составила выраженная и диффузная секреторная функция преимущественно за счет гиперплазии желез, а также синхронная гипертрофия и гиперплазия стромальных клеток и активная продуктивная регенераторная реакция сосудов. Отмечены наиболее существенное развитие секреторного аппарата, равномерная диффузная секреторная трансформация желез (широкие складчатые просветы, пилообразная и звездчатая форма, апокриновая секреция и слизь в просветах). Децидуальная реакция стромы также была диффузной и равномерной. Во всех слоях эндометрия формировались клубки спиральных артерий с 5 – 8 сосудистыми профилями. Покровный эпителий эндометрия состоял из одно- и двурядного эпителия, преимущественно крупных эпителиоцитов с выраженными признаками секреторной активности по апокриновому типу. В большинстве эпителиоцитов выявлялись многочисленные крупные конгломераты гликогена. Таким образом, структурные изменения эндометрия в 3-й группе соответствовали полноценно сформировавшейся средней стадии фазы секреции и почти не отличались от структурной организации в контрольной группе.

Иммуногистохимическое исследование. При ПНБ (1 – 3 группы до лечения) на 23-й день менструального цикла в эндометрии определялась слабая экспрессия рецепторов к эстрогенам и прогестерону – позитивно окрашивались 15 и 12% клеток желез и 19 и 10% клеток стромы соответственно. В контрольной (4-й) группе структура эндометрия соответствовала сформированной средней стадии фазы секреции, и количество иммунопозитивных клеток желез и стромы эндометрия составило к эстрогенам 37 и 53%, к прогестерону – 60 и 57% соответственно.

В биоптатах пациенток, получавших циклическую метаболическую терапию (1-я группа), индекс меченых клеток составил 16 и 13% для эпителия желез и 20 и 11% для клеток стромы эндометрия. Вероятно, при назначении метаболической терапии сохраняется недостаточный уровень гормонов желтого тела, и/или снижена чувствительность рецепторов клеток желез и

стромы к прогестерону. Сочетание циклической метаболической терапии и дюфастона (2-я группа) индуцировало экспрессию стероидных рецепторов в 36 и 55% эпителиоцитов желез и 20 и 27% клеток стромы, оставаясь ниже пределов контрольных значений. При применении циклической метаболической и циклической гормональной терапии в течение 3-х циклов (3-я группа) экспрессия эстрогеновых и прогестероновых рецепторов достигла уровня контрольной группы – 37 и 58% в клетках эпителия и 38 и 55% – в строме эндометрия и сопровождалась позитивными структурными перестройками, соответствующими секреторной фазе цикла.

Ультраструктурное морфометрическое исследование эпителиоцитов эндометрия на 23-й день цикла у пациенток с ПНБ до лечения выявило резкое снижение белоксинтезирующей и секреторной активности. На 73% снижена объемная плотность ядрышек при отсутствии внутриядерных канальцев; при этом ядрышки были мелкими, плотными, встречались в единичных ядрах. Слабо развит и цитоплазматический белоксинтезирующий компартмент – на 44 и 43% соответственно снижена численная плотность свободных и прикрепленных полисом с синхронным уменьшением (на 65%) объемной плотности митохондрий.

В результате циклической метаболической терапии (1-я группа) не отмечали выраженных структурных признаков активации функции ядрышек как в поверхностных, так и в железистых эпителиоцитах. Редко встречающиеся ядрышки имели компактное строение (объемная плотность оставалась в 2 раза меньшей по сравнению с контрольной группой), и лишь в единичных случаях формировались одиночные элементы внутриядерных канальцев. Структурная плотность цитоплазматических органелл не обнаруживала достоверной позитивной динамики, значимо не отличаясь от показателей до лечения. Сохранялись сниженными численная плотность прикрепленных (на 36%) и свободных (на 41%) рибосом, а также объемная плотность митохондрий (на 60%) и концентрация их крист (на 39%). Содержание гликогена повысилось в 2 раза, но не достигло контрольной группы (меньше на 55%). Апикальная

мембрана секреторных клеток формировала полиморфные микроворсинки и одиночные пиноподии; реснитчатые клетки окаймлены нерегулярными ресничками. В целом, ультраструктурный анализ свидетельствовал о неполноценности секреторных преобразований эпителиоцитов эндометрия в лютеиновой фазе, что сопровождалось недостаточным развитием белоксинтезирующего и энергетического компартментов.

Во 2-й группе в результате применения комплексной циклической метаболической терапии, в сочетании с дюфастоном, отмечена индукция биосинтетических реакций покровного и железистого эпителия, сопровождающаяся достоверным (на 64% превосходящим показатель контроля) возрастанием объемной плотности ядрышка без синхронного возрастания структурной плотности белоксинтезирующих органелл. Сохранялось редуцированное количество митохондрий, но возросшая плотность их крист, по-видимому, компенсировала это несоответствие. Объемная плотность отложений гликогена и лизосом достоверно не отличалась от значений контрольной группы.

В 3-й группе (сочетание циклической метаболической и циклической гормональной терапии) резко увеличена объемная плотность ядрышек, на 70% возросла численная плотность свободных и прикрепленных рибосом, в 2 раза повысилась объемная плотность митохондрий, с формированием мегамитохондрий, на 75% увеличилась концентрация их крист. Высокая биосинтетическая активность и гиперплазия элементов комплекса Гольджи обеспечили полноценную реализацию секреторного потенциала эпителиоцитов, в которых на 50% увеличена объемная плотность гликогена, и в 3 раза – лизосом, способствующих экстрюзии секрета.

По сравнению со 2-й группой, в 3-й выявлена более позитивная динамика внутриклеточных регенераторных реакций – объемная плотность ядрышек и внутриядерных канальцев выше на 48%, митохондрий – в 3,7 раза с возрастанием концентрации их крист на 70%, а также в 2 раза – гликогена. Более, чем в два раза возросла численная плотность свободных и

прикрепленных рибосом. В целом, в ультраструктурной организации эпителиоцитов отмечали признаки активации биосинтетической и секреторной функции, обеспеченные гипертрофией митохондриального компартмента, не обнаруживаемые в других группах.

По результатам комплексного клиничко-патоморфологического исследования ПНБ, в динамике трех схем предгравидарной терапии, сочетающих индукцию метаболических процессов и гормональной рецепции, сформулирована новая концепция патоморфогенеза. Впервые дополнительно к эндокринным, иммунным и тромбофилическим нарушениям при ПНБ продемонстрирована метаболическая дисфункция клеточных популяций эндометрия, являющаяся структурным эквивалентом универсального синдрома регенераторно-пластической недостаточности [4]. Основными ультраструктурными маркерами синдрома регенераторно-пластической недостаточности при ПНБ являются уменьшение числа белоксинтезирующих цитоплазматических органелл и отсутствие систем внутриядерных канальцев в эпителиоцитах слизистой оболочки матки со снижением их секреторной активности и экспрессии рецепторов к эстрогенам и прогестерону. Сущность синдрома регенераторно-пластической недостаточности состоит в нарушении процессов внутриклеточной регенерации и формировании пластического дефицита. В развитии патологии репродуктивной функции женщин регенераторно-пластическая недостаточность имеет системный характер, что продемонстрировано с помощью радиоавтографического исследования *in vitro* биосинтетических реакций клеточных популяций яичников при бесплодии [3] и нейрообменно-эндокринном синдроме [1].

Основу стратегии терапии ПНБ составила индукция регенераторных реакций в эпителиальных и эндотелиальных клеточных популяциях эндометрия, что способствовало активации рецепторной чувствительности и позитивным структурно-функциональным преобразованиям. Циклическая гормональная терапия в сочетании с комплексной метаболической на этапе предгравидарной подготовки стимулировала секреторную функцию эндометрия и способствовала

наступлению беременности у 87% пациенток с ПНБ: у 20, 40 и 47% женщин 1-й, 2-й и 3-й группы соответственно. Доношенные дети с оценкой по шкале Апгар 8–9 баллов родились в 1-й группе – у 2 женщин, во 2-й – у 8, в 3-й – в 14 случаях.

CLINICAL AND PATHOMORPHOLOGICAL ASPECTS OF HABITUAL MISCARRIAGE OF PREGNANCY

I.O. Marinkin, N.A. Pizarova, V.M. Kuleshov, G.I. Nepomnyshix
Novosibirsk State Medical University

Abstract. We studied concentration of central and peripheral hormones, morpho structural changes in glandular epitheliocytes of endometrium in different therapeutical schemes of pregravid preparation of women with habitual miscarriage of pregnancy. During Phemoston 1\10 and Duphaston 10 appointment we revealed normalization of hormones rate, signs of genome, synthetic and secretary processes in glandular epitheliocytes activation, symptoms of transport and metabolic processes in endometrium activation during which are necessary for pregnancy onset and bearing.

Key words: miscarriage of pregnancy, glandular epitheliocytes, endometrium.

Литература

1. Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И., Галкина Ю.В. и др. Роль патологии фолликулярной ткани яичников в развитии овариальной дисфункции // Бюл. Эксперим. биол. и медицины- 2007.- Т. 144, № 10.- С. 452-457.
2. Аничков Н.М. Патоморфология эндометрия при гормональных воздействиях // Арх. патологии. – 2001.- № 6.- С. 3-8.
3. Кулешов В.М. Морфогенез и клинические аспекты патологии яичников у женщин репродуктивного возраста при различных формах гонадной дисфункции и ее коррекция: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Новосибирск, 1998.- 43 с.

4. Непомнящих Г.И. Пограничные ткани (слизистые оболочки и кожа) в морфогенезе общепатологических процессов. Актовая речь. - Новосибирск: НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН, 1996.- 39 с.

5. Хмельницкий О.К. Патоморфологическая диагностика гинекологических заболеваний. - С-Пб.: СОТИС, 1994.- 480 с.