

РОЛЬ ЭНДОТОКСЕМИИ И МЕХАНИЗМОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

М. С. Селихова, О. А. Кузнецова, С. В. Вдовин, Г. В. Дмитриенко

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра акушерства и гинекологии ВолгГМУ*

Проведен ретроспективный анализ частоты неразвивающейся беременности в регионе, который показал возрастание данной патологии с 2003 по 2010 г. в 2,3 раза, отмечено увеличение замершей беременности среди первобеременных пациенток. Были изучены показатели врожденного иммунитета, цитокинов и уровня эндотоксина в сыворотке крови у 38 пациенток с неразвивающейся беременностью (основная группа), у 32 женщин с угрозой прерывания беременности в ранние сроки (до 12 недель), которые составили группу сравнения. Для оценки данных показателей при физиологическом течении беременности проведено обследование 30 женщин, обратившихся для прерывания непланируемой беременности. Результаты проведенных исследований выявили достоверное увеличение уровня эндотоксина в крови, провоспалительных цитокинов (TNF, ИЛ-1, ИЛ-6) и активацию механизмов врожденного иммунитета (экспрессия Toll 2, Toll 4) у пациенток с замершей беременностью. Полученные данные подчеркивают значимую роль хронической инфекции в патогенезе данного осложнения беременности.

Ключевые слова: физиологическое и осложненное течение беременности, неразвивающаяся беременность, хронический эндометрит, Toll-рецепторы, уровень эндотоксина, цитокины.

ROLE OF INBORN IMMUNITY MECHANISM IN NON-DEVELOPING PREGNANCY PATHOGENESIS

M. S. Selikhova, S. V. Vdovin, O. A. Kuznetsova, G. V. Dmitrienko

A retrospective analysis of regional cases of non-developing pregnancy showed a 2,3 times increase of this condition within the period from 2003 to 2010; there was also an increase in non-developing pregnancy cases among primiparas. Parameters of inborns' immunity, of cytokines and endotoxin level in blood serum of 38 female patients with non-developing pregnancy (main group) and 32 female patients with threatening miscarriage in early period before 12 weeks (control group) were studied. To evaluate these findings in physiological pregnancy, 30 women who presented for an abortion of unintended pregnancy were tested. The test results showed a stable increase in endotoxin level in blood, proinflammatory cytokines (TNF, IL-1, IL-6) and an inborn immunity mechanism activation (expression Toll 2, Toll 4) among patients with non-developing pregnancy. These data emphasize the importance of chronic infection in the pathogenesis of pregnancy complication.

Key words: physiological pregnancy and feto-maternal disease, non-developing pregnancy, chronic endometritis, Toll-receptors, endotoxin level, cytokines.

В последнее десятилетие отечественные и зарубежные специалисты уделяют все больше внимания проблеме невынашивания беременности, «...с максимальным акцентом на неразвивающуюся беременность» (Радзинский В. Е., 2009). Это обусловлено значительным увеличением частоты встречаемости данной патологии в последние годы. По данным статистики, в России 11 % первых беременностей заканчиваются хирургическим абортom, частота невынашивания беременности достигает 20 % в популяции, при этом неразвивающаяся беременность составляет 45—88 % от числа самопроизвольных абортов (Радзинский В. Е., 2009, Тихомиров А. Л., 2008 и др.).

В настоящее время ведущее место в этиологии замершей беременности отводится персистирующей вирусно-бактериальной инфекции, и в основе патогенеза данной патологии лежит хронический эндометрит. Так, по данным Дворниковой З. Г. (2008), генитальная инфекция выявлена у 96 % женщин с неразвивающейся беременностью. Наличие хронического эндометрита доказано гистологически в 100 % случаев неразвивающейся беременности, по результатам исследований Лаура Н. С. (2008).

Хронический эндометрит выделен как отдельная нозологическая форма в Международной классификации болезней в 1975 г. и рассматривается как клинко-морфологический синдром, при котором в результате персистирующего повреждения эндометрия инфекционным агентом возникают множественные вторичные морфофункциональные изменения, нарушающие циклическую трансформацию и рецептивность слизистой оболочки тела матки.

Изменения при хроническом эндометрите препятствуют нормальной имплантации и плацентации и формируют патологический ответ на беременность, что обуславливает ранние репродуктивные потери (Краснопольский В. И., 2008). Исследования Фофановой И. Ю. (2009) свидетельствуют, что в условиях хронического эндометрита происходит оплодотворение, эмбриогенез и развитие беременности практически у каждой четвертой женщины.

Вместе с тем диагноз «хронический эндометрит» крайне редко встречается в историях болезни, что обусловлено сложностью его верификации. Данные анамнеза, физикального и лабораторного обследования не специфичны. Окончательно диагноз можно подтвердить только гистологически, что предполагает внутриматочное вмешательство.

Это диктует необходимость поиска новых неинвазивных высокочувствительных маркеров инфекционно-воспалительных изменений, особенно при беременности.

В последние десятилетия многочисленными исследованиями доказана роль баланса цитокинов в процессе инвазии трофобласта и дальнейшем развитии беременности (Михайлова Ю. В., 2007, Тихомиров А. Л., 2008 и др.). Значение адаптивного иммунитета при физиологически протекающей и патологической беременности достаточно подробно представлено в ряде монографий (Сухих Г. Т., 2003, Сотникова Н. Ю., 2005 и др.). В последние годы в литературе появляются отдельные публикации, посвященные показателям врожденного иммунитета при невынашивании беременности (Макаров О. В. с соавт., 2007). TLR-рецепторы непосредственно не участвуют в процессах поглощения и киллинга микробов, но они инициируют механизмы, направленные на элиминацию возбудителя. Рецепторы врожденного иммунитета распознают и обеспечивают быструю элиминацию патогенов, предотвращают инфекцию на ранних этапах, когда механизмы адаптивного иммунитета еще отсутствуют. При взаимодействии Toll-подобных рецепторов с микроорганизмами фагоциты секретируют провоспалительные цитокины. Наиболее широким спектром специфичности из всех идентифицированных Toll-подобных рецепторов обладает TLR2. Наиболее изученным рецептором является TLR4, который распознает эндотоксин грамотрицательных бактерий. Работ, отражающих показатели врожденного иммунитета при неразвивающейся беременности, в доступной нам литературе мы не встретили.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Определение значимости хронической генитальной инфекции в патогенезе неразвивающейся беременности на основе изучения показателей врожденного иммунитета и «ранних» цитокинов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью определения распространенности неразвивающейся беременности был проведен ретроспективный анализ данных 4 гинекологических стационаров Волгограда с 2003 по 2010 гг.

Проспективная часть исследования включала обследование 38 пациенток, поступивших с гинекологическими стационары с замершей беременностью в сроках до 12 недель (основная группа), 32 беременных женщин, получающих лечение в стационаре по поводу угрозы прерывания беременности (группа сравнения). Контрольную группу составили 30 клинически здоровых пациенток, поступивших в гинекологический стационар с целью прерывания непланируемой беременности. При обследовании пациенток изучались анамнестические, лабораторные (клинические, биохимические, бактериоскопические) данные, а также проводились специальные методы исследования.

Уровень цитокинов ИЛ-1b, ИЛ-6 и ФНО-α в крови определялся иммуноферментным методом с помощью на-

бора реагентов ЗАО «БЕКТОР-БЕСТ» (ФЛ № 99-04-000086). Метод обладает высокой специфичностью, чувствительность 98 %, коэффициент вариации результатов не превышает 8 %. Результаты иммуно-ферментного анализа (ИФА) регистрировались с помощью спектрофотометра с измерением оптической плотности в двухволновом режиме.

Определение в сыворотке крови эндотоксина грамотрицательных бактерий проводилось методом активированных частиц с помощью наборов реагентов МАЧ-Endotox.spp, разработанных в Научном Центре сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН. Чувствительность метода — до 14 пг/мл, специфичность 97,4—98,3 %.

Определение экспрессии TLR2 и TLR4 проводилось методом полимеразной цепной реакции. При этом определялось как абсолютное количество, так и процентное отношение от лейкоцитов и гранулоцитов.

При неразвивающейся беременности все специальные исследования проводились до момента опорожнения матки.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный нами анализ показателей гинекологических стационаров Волгограда свидетельствует, что в последние годы количество пациенток с замершей беременностью от числа всех гинекологических больных, получавших стационарное лечение, имеет четкую тенденцию к увеличению: 2003 г. — 2,2 %, 2004 г. — 2,3 %, 2005 г. — 2,4 %, 2006 г. — 3,5 %, 2007 г. — 3,6 %, 2008 г. — 4,3 %, 2009 г. — 4,8 %, 2010 г. — 4,6 %. Таким образом, частота неразвивающейся беременности возросла за 7 лет более чем в два раза.

Особую тревогу вызывает тот факт, что все чаще имеет место замершая беременность у молодых первобеременных женщин. Если в 2003 г. среди пациенток с замершей беременностью подавляющее большинство (87,2 %) были повторнобеременные, а первобеременные женщины составили 12,8 %, то в 2010 г. процент первобеременных возрос до 29,3 %, что отражает крайне неблагоприятный репродуктивный потенциал здоровья у молодых женщин.

Результаты гистологического исследования выявили воспалительные изменения у большинства (76 %) пациенток с неразвивающейся беременностью. На протяжении семи лет этот показатель достоверно не изменялся. В морфологической картине преобладали очаговый фиброз стромы и склеротические изменения стенок спиральных артерий эндометрия, что характерно для длительно протекающего хронического эндометрита. Полученные нами данные совпадают с результатами исследования других авторов.

Определение уровня эндотоксина в сыворотке крови свидетельствует, что эндотоксин отсутствовал (1СА) у большинства (57 %) пациенток контрольной группы, у 39,5 % обследованных клинически здоровых беременных он определялся в минимальной концентрации (2-я степень активированных частиц (2СА) и только у одной (3,3 %) выявлена 3-я степень активированных частиц (3СА).

При возникновении угрозы прерывания беременности у 26,4 % пациенток эндотоксин в крови не определялся — 1-я степень активированных частиц (1СА). У большинства женщин группы сравнения определялся эндотоксин, соответствующей 2СА, то есть в минимальной концентрации. Следует обратить внимание, что у каждой десятой обследованной данной группы эндотоксин соответствовал 3СА. Причем у 6 (18,6 %) женщин данной группы беременность не удалось сохранить, произошел самопроизвольный аборт. У всех пациенток с неразвивающейся беременностью при обследовании в крови обнаружен эндотоксин, у 4 (13,2 %) из них он соответствовал 3СА.

Определение показателей TLR2 и TLR4 в обследованных группах указывает на достоверное возрастание экспрессии рецепторов врожденного иммунитета при патологическом течении беременности в сравнении с показателями клинически здоровых беременных. Наиболее выраженные изменения мы наблюдали в экспрессии TLR2, который увеличился в 3,7 раза при угрозе прерывания беременности, и в 4,1 — при замершей беременности. Разница в показателях основной и группы сравнения была недостоверной.

Уровень TLR4 у пациенток с неразвивающейся беременностью возрос в 2,8 раза в сравнении с контрольной группой. При явлениях угрозы прерывания беременности в I триместре динамика изменений TLR4 была менее значима, выявлено увеличение в 1,9 раза по сравнению с показателями здоровых беременных. Таким образом, при осложненном течении беременности выявлены существенные изменения показателей врожденного иммунитета, что указывает на активацию его механизмов. Более выраженными изменения были при замершей беременности по сравнению с угрозой самопроизвольного аборта.

Изучение показателей цитокинов выявило наиболее значимые изменения при замершей беременности ИЛ-6, уровень которого возрос в 2,8 раза по сравнению с контрольной группой. Достоверное увеличение наблюдалось и в показателях TNF как при угрозе прерывания беременности, так и при неразвивающейся беременности. Выявлена прямая корреляционная зависимость ($r=0,7$) уровня TNF с уровнем эндотоксина в сыворотке крови.

Одним из основных механизмов в развитии хронических воспалительных заболеваний гениталий является эндогенная интоксикация, обусловленная эндо- и экзотоксинами патогенных микроорганизмов. Механизмы, способствующие персистенции микроорганизмов, связаны с различными нарушениями в иммунной системе. В ряде случаев при выраженной иммунодепрессии воспаление может развиваться и в результате активации эндогенной условно-патогенной флоры.

Выявление в крови эндотоксина у клинически здоровых беременных, причем у некоторых 2СА и 3СА, может свидетельствовать о высокой распространенности хронических воспалительных заболеваний гениталий в популяции и подтверждает тот факт, что в большинстве случаев они протекают без выраженной клинической симптоматики, проявляясь репродуктивными

потерями. Достоверное увеличение уровня эндотоксина в крови и активация механизмов врожденного иммунитета у пациенток с замершей беременностью подчеркивает значимую роль хронической инфекции в патогенезе данного осложнения беременности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования указывают на достоверное отличие показателей эндотоксина и рецепторов врожденного иммунитета, а также уровня провоспалительных цитокинов при физиологическом и осложненном течении беременности и подтверждают на молекулярно-биологическом уровне данные клинических наблюдений о высоком уровне инфицированности женщин и свидетельствуют о значимости генитальной персистирующей инфекции в патогенезе с неразвивающейся беременностью.

Полученные данные диктуют необходимость проведения прегравидарной подготовки всем женщинам, планирующим беременность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Доброхотова Ю. Э., Джобава Э. М., Озерова Р. И. Неразвивающаяся беременность. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 134 с.
2. Исаева Л. В., Урвачева Е. Е., Богатырева Л. Н. и др. // Вестник ВолГМУ. — 2007. — № 4. — С. 8—11.
3. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. — СПб., 2008. — 552 с.
4. Кулаков А. В., Серов В. Н., Адамян Л. В. Руководство по охране репродуктивного здоровья. — М.: Триада-Х, 2001. — 568 с.
5. Макаров О. В., Ковальчук Л. В., Ганковская Л. В. и др. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. — 175 с.
6. Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Акиншина С. В. Синдром системного воспалительного ответа в акушерстве. — М., 2006. — 442 с.
7. Пересада О. А. Репродуктивное здоровье женщин — М., 2009. — 678 с.
8. Радзинский В. Е., Димитрова В. И., Майскова И. Ю. Неразвивающаяся беременность. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 196 с.
9. Стрижаков А. Н., Игнатко И. В. Потеря беременности. — М., 2007. — 223 с.
10. Сидельникова В. М. Привычная потеря беременности. — М.: Триада-Х, 2005. — 304 с.
11. Сидельникова В. М., Сухих Г. Т. Невынашивание беременности. — М., 2010. — 534 с.
12. Тихомиров А. Л., Лубнин Д. М. Практическая гинекология. — М., 2009. — 432 с.

Контактная информация

Селихова Марина Сергеевна — д. м. н., профессор кафедры акушерства и гинекологии Волгоградского государственного медицинского университета, врач акушер-гинеколог высшей категории, e-mail: selichovamarina@yandex.ru