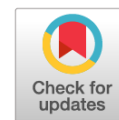


УДК 618.39-021.3-07

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD82972>

# Результаты комплексного молекулярно-морфологического исследования абортного материала при неразвивающейся беременности первого триместра

О.А. Романова, В.А. Печеникова

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

**Обоснование.** Неразвивающаяся беременность является главной причиной репродуктивных потерь I триместра, а генетические причины выходят на первое место в этиологии данного заболевания. В настоящее время широко обсуждаются иммунологические аспекты системы мать – плод. В связи с этим изучение особенностей иммунологических взаимоотношений между организмом матери и плодом при неразвивающейся беременности в зависимости от кариотипа хориона, а также после репродуктивных потерь является актуальной задачей, так как может оптимизировать методы обследования пациенток с замершей беременностью и выявить факторы, способствующие развитию привычного невынашивания беременности.

**Цель** — изучить морфологические и иммуногистохимические особенности абортусов при неразвивающейся беременности в зависимости от наличия хромосомных аномалий хориона и анамнеза пациенток по репродуктивным потерям.

**Материалы и методы.** Проведено комплексное морфологическое и иммуногистохимическое исследование (CD56, HLA-DR-II) абортного материала 273 случаев неразвивающейся беременности. Первую группу составили пациентки с различными вариантами хромосомных аномалий хориона ( $n = 169$ ), вторую — с нормальным кариотипом хориона ( $n = 104$ ). Данные анализировали с учетом анамнеза пациенток в зависимости от наличия репродуктивных потерь.

**Результаты.** В исследовании выявлены морфологические особенности абортного материала при неразвивающейся беременности в случаях с хромосомными аномалиями хориона: значительный отек, склероз, некроз ворсин хориона, более грубые воспалительные изменения в виде умеренной и выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации децидуальной ткани и эндометрия, наличие в них скоплений лейкоцитов по типу микроабсцессов. Доказано, что на степень выраженности воспалительных изменений абортусов влияет только кариотип хориона и не влияет длительность нахождения нежизнеспособного плодного яйца в полости матки и наличие в анамнезе у пациентки репродуктивных потерь. Показано, что уровень CD56 и HLA-DR II класса в абортном материале зависит от анамнеза пациентки по репродуктивным потерям и не зависит от кариотипа хориона.

**Заключение.** Таким образом, у пациенток с неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом при первой неразвивающейся беременности для выявления причины замершей беременности целесообразно только установление кариотипа хориона, а иммуногистохимическое исследование абортного материала с определением маркеров CD56 и HLA-DR II класса имеет значение при повторных неразвивающихся беременностях независимо от кариотипа хориона.

**Ключевые слова:** неразвивающаяся беременность; хромосомные аномалии хориона; репродуктивные потери; иммуногистохимическое исследование; эндометрий; CD56; HLA-DR.

#### Как цитировать:

Романова О.А., Печеникова В.А. Результаты комплексного молекулярно-морфологического исследования абортного материала при неразвивающейся беременности первого триместра // Журнал акушерства и женских болезней. 2022. Т. 71. № 1. С. 79–90. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD82972>

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD82972>

# Comprehensive molecular and morphological study of abortion material in missed abortion of the first trimester

Olga A. Romanova, Victoria A. Pechenikova

North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** Missed abortion is the main cause of reproductive loss in the first trimester, and genetic causes come first in the etiology of this disease. The immunological aspects of the mother-fetus system are currently widely discussed. In this regard, the study of the immunological relationship between the mother's body and the fetus in missed abortion, depending on the chorion karyotype, as well as after suffering reproductive loss, is a topical task, as it can optimize the methods of examining patients with missed abortion and identify factors that contribute to the development of recurrent miscarriage.

**AIM:** The aim of this study was to investigate the morphological and immunohistochemical characteristics of abortion material in missed abortion, depending on the presence of chorionic chromosomal abnormalities and the patient's history of reproductive losses.

**MATERIALS AND METHODS:** We performed a comprehensive morphological and immunohistochemical study (CD56, HLA-DR-II) of abortion material in 273 cases of missed abortion. Group 1 consisted of patients with different variants of chorionic chromosomal abnormalities ( $n = 169$ ); group 2 included subjects with a normal karyotype of the chorion ( $n = 104$ ). The data analysis was carried out taking into account the anamnesis of patients, depending on the presence of reproductive losses.

**RESULTS:** We revealed the morphological features of the abortion material in missed abortion in cases with chromosomal abnormalities of the chorion: pronounced edema, sclerosis, necrosis of chorionic villi, more pronounced inflammatory changes in the form of moderate and severe macrophage infiltration of the decidual tissue and endometrium, and accumulations of leukocytes as microabscesses. It has been proven that the severity of inflammatory changes in abortuses depends only on the chorion karyotype and does not depend on either the duration of the presence of an unviable fetal egg in the uterine cavity, or the patient's history of reproductive losses. It was shown that the CD56 and HLA-DR-II expressions in the abortion material depend on the patient's history of reproductive losses, regardless of the chorion karyotype.

**CONCLUSIONS:** In patients with an unburdened obstetric and gynecological history in the first missed abortion, it is advisable only to determine the chorion karyotype in order to identify the cause of missed abortion. The immunohistochemical study of the abortion material with the determination of the CD56 and HLA-DR-II expressions is important in repeated missed abortions, regardless of the chorion karyotype.

**Keywords:** missed abortion; chromosomal abnormalities of the chorion; reproductive loss; immunohistochemical study; endometrium; CD56; HLA-DR.

**To cite this article:**

Romanova OA, Pechenikova VA. Comprehensive molecular and morphological study of abortion material in missed abortion of the first trimester. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2022;71(1):79–90. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD82972>

Received: 09.10.2021

Accepted: 03.12.2021

Published: 28.02.2022

## ОБОСНОВАНИЕ

Сохранение репродуктивного здоровья женщин является актуальной задачей современного акушерства и гинекологии и имеет не только медицинскую, но и социальную значимость. Около 80 % антенатальных потерь происходит в I триместре беременности, среди них неразвивающаяся беременность занимает ведущее место, составляя, по данным разных авторов, от 40 до 85 % [1–3]. Важную роль в этиологии замершей беременности в I триместре (более 50 %) играют хромосомные аномалии хориона, возникающие *de novo*. Перенесенная ранее неразвивающаяся беременность негативно влияет на репродуктивное здоровье женщины, увеличивает риск повторного прерывания последующих беременностей, обуславливает формирование хронического эндометрита. Отсутствие единых стандартов обследования пациенток, перенесших неразвивающуюся беременность, определяет научный и практический интерес к данному вопросу.

Гистологическое исследование абортного материала при замершей беременности в настоящее время носит рутинный характер, но данные литературы об особенностях морфологии абортусов в зависимости от кариотипа хориона немногочисленны и противоречивы. Иммуногистохимическое исследование дополняет гистологическое и улучшает качество диагностики патологических процессов в эндометрии.

В настоящее время широко обсуждаются иммунологические аспекты имплантации. Известно, что нормальная беременность протекает в состоянии локальной иммуносупрессии по отношению к трофобласту со стороны эндометрия. Изучение особенностей иммунологических взаимоотношений между организмом матери и плодом при неразвивающейся беременности в зависимости от кариотипа хориона, а также после репродуктивных потерь не только представляет научный интерес, но и имеет большое практическое значение, так как может позволить оптимизировать методы обследования пациенток с замершей беременностью и выявить факторы, способствующие развитию привычного невынашивания беременности. Важную роль в этом направлении отводят НК-клеткам и системе главного комплекса гистосовместимости, участвующей в распознавании антигенов.

Доказано, что натуральные киллеры являются самой многочисленной популяцией лимфоцитов в эндометрии [4–6], при наступлении беременности они составляют 70–80 % общего количества лимфоцитов [6–8]. Маточные натуральные киллеры выполняют регуляторную функцию и активно экспрессируют CD56, в отличие от цитотоксических НК-клеток периферической крови, высоко экспрессирующих CD16 [6, 7, 9]. Не сложилось единого мнения в отношении роли НК-клеток в течении беременности. Однако большинство авторов сходятся во мнении, что маточные натуральные киллеры вносят важный вклад в сохранении беременности, так как они формируют

иммунотолерантность в системе мать – плод, регулируют глубину инвазии трофобласта в процессе имплантации, защищают плацентарное ложе от инфекционных факторов, участвуют в ангиогенезе и ремоделировании спинальных артерий [4, 9, 10].

В системе главного комплекса гистосовместимости HLA-DR являются генами II класса, основная их функция состоит в распознавании антигенов. Впервые их значение было изучено и описано в конце XX в. в группе пациентов, перенесших трансплантацию органов [11]. Было доказано, что выраженная экспрессия HLA-DR приводит к отторжению трансплантированных органов, а при низком уровне даже отмена иммуносупрессивной терапии не вызывает реакции отторжения трансплантата [12, 13]. В акушерстве и гинекологии HLA-DR также активно изучают, выявлено значительное повышение уровня данного маркера в крови во время беременности [14]. В связи с тем что плод для организма матери является наполовину чужеродным, исследование роли HLA-DR в эндометрии во время беременности несомненно имеет большое значение для выяснения локальных механизмов иммунологического отторжения плодного яйца.

**Цель исследования** — изучить морфологические и иммуногистохимические особенности абортусов при неразвивающейся беременности в зависимости от кариотипа хориона и анамнеза пациенток по репродуктивным потерям.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено наблюдательное ретроспективное когортное исследование на базе кафедры акушерства и гинекологии в клинике гинекологии ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ и в центральной клинике ООО «АВА-ПЕТЕР». В исследование вошли 273 пациентки с диагнозом несостоявшегося выкидыша при беременности I триместра, обследованные в 2005–2008 и 2015–2019 гг. в Санкт-Петербурге. Диагноз устанавливали на основании результатов ультразвукового исследования. Критериями включения были репродуктивный возраст пациенток, срок беременности до 12 нед., самостоятельная беременность, наступившая без использования вспомогательных репродуктивных технологий. Критерии невключения: наличие гинекологических заболеваний, таких как клинически значимая миома матки и эндометриоз, диагностированные во время данной беременности сексуально-трансмиссивные инфекции.

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» МЗ РФ (протокол № 10 от 07.11.2018). Все пациентки подписали добровольное информированное согласие.

Клиническая часть исследования включала анализ данных историй болезни и анкетирование пациенток с помощью специально разработанной анкеты, содержащей вопросы по поводу жалоб пациенток, особенностей

акушерско-гинекологического и соматического анамнеза, течения и исходам предшествующих беременностей, наследственности со стороны близких родственников, а также симптомам, указывающим на возможное наличие наследственных тромбофилий. Всем пациенткам выполняли стандартные предоперационные клинико-лабораторные исследования.

Хирургическое лечение проводили в объеме выскабливания полости матки. При визуальном осмотре соскобов из полости матки отбирали ворсины хориона, которые помещали в изотонический раствор натрия хлорида с целью дальнейшего генетического исследования и выполнения полимеразной цепной реакции для выявления основных патогенных микроорганизмов. Оставшийся соскоб фиксировали 10 % формалином в течение 24–48 ч, проводили через серию изопропилового спирта и заливали в парафин для дальнейшего гистологического исследования.

Цитогенетическое исследование ворсин хориона осуществляли методом кариотипирования (Q-бэндинга) с применением ускоренной «прямой» методики. По результатам кариотипирования пациентки были разделены на группы: первую — с различными вариантами хромосомных аномалий хориона (169 пациенток), вторую — с нормальным кариотипом хориона (104 наблюдения).

Инфекционный фактор исключали в результате исследования abortного материала путем полимеразной цепной реакции с выявлением ДНК *Chlamidia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, цитомегаловируса и вируса простого герпеса 1-го и 2-го типов.

Для гистологического исследования из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 5–6 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. При морфологическом исследовании под микроскопом «Мик Мед» при увеличении  $\times 100$  подробно изучали ворсины хориона, децидуальную ткань и эндометрий. Степень лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации эндометрия и децидуальной ткани оценивали при увеличении микроскопа  $\times 100$  с помощью морфометрической сетки Автандилова. Слабой считали инфильтрацию при выявлении до 20 лейкоцитов в поле зрения, умеренной — при обнаружении 21–60 лейкоцитов, выраженной — свыше 61.

Для иммуногистохимического исследования были выбраны пациентки без воспалительных заболеваний матки и придатков в анамнезе, с отсутствием инфекций, передаваемых половым путем, по результатам исследования abortного материала с помощью полимеразной цепной реакции и с наиболее часто встречающимися вариантами хромосомных аномалий (полиплоидиями, трисомиями по хромосомам 15 и 16).

Имуногистохимическое окрашивание проводили с использованием иммунных сывороток к маркерам CD56 (Daco clone 123C3 — M7304) и HLA-DR-II (Leica clone LN-3 — NCL-LN3). Положительную реакцию фиксировали по коричневой окраске клеточных мембран. Результаты

анализировали количественным методом путем подсчета положительно окрашенных клеток при увеличении  $\times 400$  в 10 полях зрения и определения среднего значения с расчетом ошибки среднего. Микрофотографии гистологического и иммуногистохимического исследования выполнены при помощи цифровой фотокамеры Nikon.

Статистический анализ полученных клинических и морфологических результатов осуществляли в программе STATISTICA 10.0 фирмы StatSoft. Частотные характеристики качественных параметров сравнивали с применением критерия  $\chi^2$  с поправкой Йетса и критерия Фишера. Количественные показатели представляли в виде средней арифметической и среднеквадратичного отклонения и сравнивали с использованием критериев Колмогорова – Смирнова, Манна – Уитни и медианного  $\chi^2$ . Критический уровень достоверности различий для всех видов анализа определяли как  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

При анализе структуры хромосомных аномалий хориона при неразвивающейся беременности выявлено, что ведущее место занимают анеуплоидии — 129 случаев (76,33 %), на второе место по частоте выходят полиплоидии (26 из 169 — 15,38 %), мозаичный кариотип хориона отмечен в 8,28 % случаев (14 из 169). Полиплоидии в 76,92 % случаев (20 из 26) были представлены триплоидиями и в 23,08 % — тетраплоидиями (6 из 26). В структуре анеуплоидий трисомии составили 88,37 % (114 из 129), моносомии — 11,63 % случаев (15 из 129). Трисомии распределялись следующим образом: 26,32 % из всех трисомий (30 из 114) составили трисомии по хромосоме 16, 14,03 % (16 из 114) — по хромосоме 22, трисомии по хромосомам 21 и 13 наблюдались с частотой 13,16 % (15 из 114) и 12,28 % (14 из 114) соответственно, реже встречались смешанные трисомии и трисомии по хромосоме 15 — 8,77 (10 из 114) и 7,02 (8 из 114). Другие варианты трисомий отмечены в единичных случаях.

При анализе клинико-анамнестических данных пациенток выявлено, что группу с хромосомными аномалиями хориона составили пациентки более старшего возраста —  $33,7 \pm 6,09$  года, медиана — 34 [LQ 29; UQ 38] года. В группе с нормальным кариотипом хориона средний возраст был достоверно ниже и составил  $31,66 \pm 4,99$  года, медиана — 32 [LQ 28; UQ 36] года ( $p < 0,05$ ). Сроки, на которых беременность прекращала развиваться, между группами достоверно не отличались:  $7,11 \pm 1,83$  нед. в группе с хромосомными аномалиями (медиана — 6,5 [LQ 6; UQ 8] нед.) и  $6,85 \pm 1,92$  нед. в группе с нормальным кариотипом (медиана — 6,5 [LQ 5; UQ 8,25] нед.) ( $p > 0,05$ ). По длительности нахождения плодного яйца в полости матки с момента прекращения его жизнедеятельности до хирургического лечения отличий между группами также не наблюдалось:  $2,54 \pm 1,75$  нед. при хромосомных

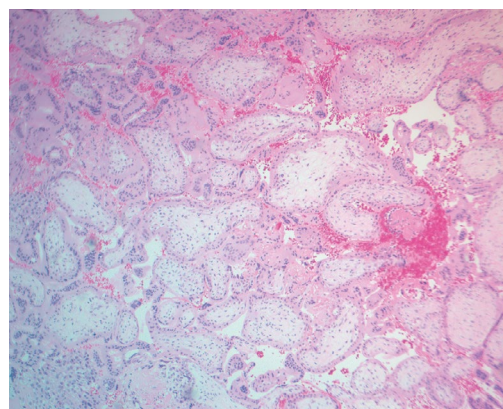
**Таблица 1.** Степень выраженности отека и склероза ворсин хориона в исследуемых группах

Признак	Хромосомные аномалии хориона, <i>n</i> = 169		Нормальный кариотип хориона, <i>n</i> = 104		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Отек ворсин хориона:					
нет отека	46	27,22	15	14,42	0,041
слабый	34	20,12	24	23,08	
умеренный	61	36,09	51	49,04	
выраженный	28	16,57	14	13,46	
Склероз ворсин хориона:					
нет склероза	71	42,01	61	58,65	0,026
слабый	45	26,63	20	19,23	
умеренный	30	17,75	17	16,35	
выраженный	23	13,61	6	5,77	
Степень выраженности фибриноидного некроза:					
нет некроза	126	74,56	93	89,42	0,019
слабый	16	9,47	5	4,81	
умеренный	17	10,06	4	3,85	
выраженный	10	5,92	2	1,92	

аномалиях хориона (медиана — 2 [LQ 1; UQ 3,5] нед.) и  $2,34 \pm 1,56$  нед. при нормальном кариотипе (медиана — 2 [LQ 1; UQ 3,5] нед.) ( $p > 0,05$ ).

По структуре акушерского анамнеза группы были однородны: примерно одну четвертую часть пациенток составили первобеременные: при хромосомных аномалиях — 24,85 % (42 из 169), при нормальном кариотипе хориона — 27,88 % (29 из 104) ( $p > 0,05$ ), у остальных пациенток было от 1 до 7 беременностей в анамнезе. Достоверные отличия между группами отсутствовали, при этом предыдущая беременность закончилась родами у 58,58 % (99 из 169) пациенток первой и 52,88 % (55 из 104) второй группы. Потери предыдущих беременностей встречались с частотой 31,73–37,28 % в обеих группах, но привычное невынашивание беременности (потеря двух беременностей и более) в анамнезе при нормальном кариотипе хориона наблюдалось достоверно чаще (8,65 % — 9 из 104), чем в группе с хромосомными аномалиями (1,18 % — 2 из 169) ( $p < 0,05$ ).

Морфологически ворсинчатый хорион в обеих группах был представлен гипоплазированными, в основном бессосудистыми ворсинами. При нормальном кариотипе выявлены слабый и умеренный отек стромы ворсин, незначительные склеротические изменения (табл. 1). Более грубые структурные изменения стромы в виде выраженного отека и склероза ворсин зарегистрированы в группе с хромосомными аномалиями хориона (см. табл. 1). Кроме того, некроз трофобласта и скопления полей фибриноидного некроза в межворсинчатом пространстве в группе с хромосомными аномалиями наблюдались в 2,4 раза чаще по сравнению с эуплоидной группой ( $p < 0,05$ ) (см. табл. 1, рис. 1). Такие изменения, по данным литературы, могут являться косвенными признаками реакции иммунологического отторжения беременности [1].



**Рис. 1.** Ворсины хориона при хромосомных аномалиях: сочетание выраженного склероза и отека, некроз трофобласта, поля фибриноидного некроза в межворсинчатом пространстве. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 100$

Децидуальная ткань в обеих группах характеризовалась наличием в 68,27–69,23 % случаев гиалиноза стенок спиральных артерий. Лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация в эуплоидной группе чаще была умеренная (51,92 %) и в 25 % случаев слабая (табл. 2). Группа с различными вариантами хромосомных аномалий хориона отличалась достоверно более выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией (в 30,18 % наблюдалась выраженная инфильтрация и в 67,46 % — умеренная) (см. табл. 2). Кроме того, при хромосомных аномалиях достоверно чаще выявляли скопления лейкоцитов по типу микроабсцессов и некротические изменения децидуальной ткани (рис. 2).

Эндометрий в группе с хромосомными аномалиями хориона также в большинстве случаев (88,13 %) отличался умеренной и выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией (табл. 3). При этом скопления



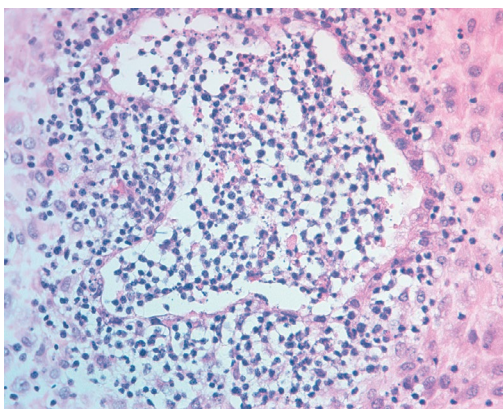
**Таблица 2.** Морфология децидуальной ткани в исследуемых группах

Признак	Хромосомные аномалии хориона, <i>n</i> = 169		Нормальный кариотип хориона, <i>n</i> = 104		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Степень выраженности лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации:					
слабая	4	2,37	26	25,00	<0,001
умеренная	114	67,46	54	51,92	<0,001
выраженная	51	30,18	24	23,08	<0,001
Скопления лейкоцитов по типу микроабсцессов	84	49,70	38	36,54	0,033
Степень выраженности некроза:					
нет некроза	14	8,28	29	27,88	<0,001
слабый	35	20,71	36	34,62	<0,001
умеренный	77	45,56	21	20,19	<0,001
выраженный	43	25,44	18	17,31	<0,001

**Таблица 3.** Морфология эндометрия в исследуемых группах

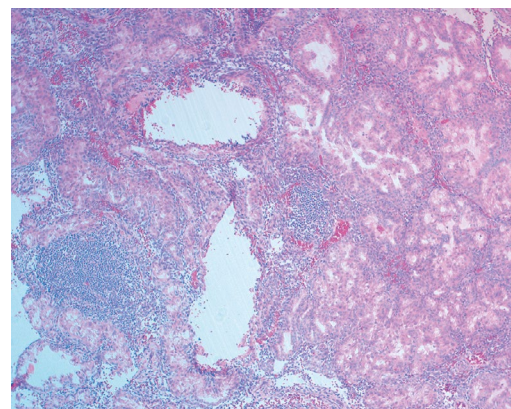
Признак	Хромосомные аномалии хориона, <i>n</i> = 169		Нормальный кариотип хориона, <i>n</i> = 104		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Степень выраженности лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации:					
слабая	19	11,24	32	30,77	<0,001
умеренная	103	60,95	41	39,42	<0,001
выраженная	47	27,81	31	29,81	<0,001
Скопления лейкоцитов по типу микроабсцессов	72	42,60	16	15,38	<0,001
Недостаточность гравидарной трансформации эндометрия	23	13,61	37	35,58	<0,001

лейкоцитов по типу микроабсцессов формировались практически в 3 раза чаще по сравнению с эуплоидной группой ( $p < 0,001$ ) (рис. 3). Группа с нормальным кариотипом характеризовалась недостаточностью гравидарной трансформации примерно в одной трети случаев, а также слабой или умеренной воспалительной инфильтрацией (см. табл. 3).

**Рис. 2.** Децидуальная ткань при хромосомной аномалии хориона («микроабсцесс»). Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 100$ 

Описанные воспалительные изменения в абортном материале наблюдались независимо от сроков беременности и длительности нахождения нежизнеспособного плодного яйца в полости матки до момента хирургического вмешательства.

Воспалительные изменения в эндометрии часто связывают с перенесенными репродуктивными поте-

**Рис. 3.** «Микроабсцессы» эндометрия при хромосомной аномалии хориона. Окраска гематоксилином и эозином, ув.  $\times 100$

**Таблица 4.** Морфологическая оценка соскобов из полости матки в зависимости от анамнеза пациенток по репродуктивным потерям

Признак	Первая потеря беременности, <i>n</i> = 177		С репродуктивными потерями в анамнезе, <i>n</i> = 96		<i>p</i>
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
Степень выраженности лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации децидуальной ткани:					
слабая	21	11,86	9	9,38	>0,05
умеренная	112	63,28	56	58,33	>0,05
выраженная	44	24,86	31	32,29	>0,05
Скопления лейкоцитов по типу микроабсцессов в децидуальной ткани	78	44,07	44	45,83	>0,05
Степень выраженности некроза децидуальной ткани:					
нет некроза	85	48,02	46	47,92	>0,05
слабый	50	28,25	29	30,21	>0,05
умеренный	30	16,95	19	19,79	>0,05
выраженный	12	6,78	2	2,08	>0,05
Степень выраженности лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации эндометрия:					
слабая	34	19,21	17	17,71	>0,05
умеренная	90	50,85	54	56,25	>0,05
выраженная	53	29,94	25	26,04	>0,05
Скопления лейкоцитов по типу микроабсцессов в эндометрии	60	33,90	28	29,17	>0,05

**Таблица 5.** Результаты иммуногистохимического исследования в зависимости от кариотипа хориона

Маркер	Хромосомные аномалии хориона, <i>n</i> = 169			Нормальный кариотип хориона, <i>n</i> = 104			<i>p</i>
	min	max	<i>M</i> ± <i>m</i>	min	max	<i>M</i> ± <i>m</i>	
CD56:							
в эндометрии	28,17	265,00	164,00 ± 90,47	37,67	247,50	115,43 ± 87,16	>0,05
в децидуальной ткани	17,00	230,50	128,25 ± 82,07	5,67	254,33	96,79 ± 86,36	>0,05
HLA-DR-II:							
в эндометрии	28,50	415,67	135,92 ± 143,80	29,33	204,50	107,64 ± 69,50	>0,05
в децидуальной ткани	1,00	82,50	26,06 ± 29,18	11,00	99,00	40,13 ± 32,86	>0,05

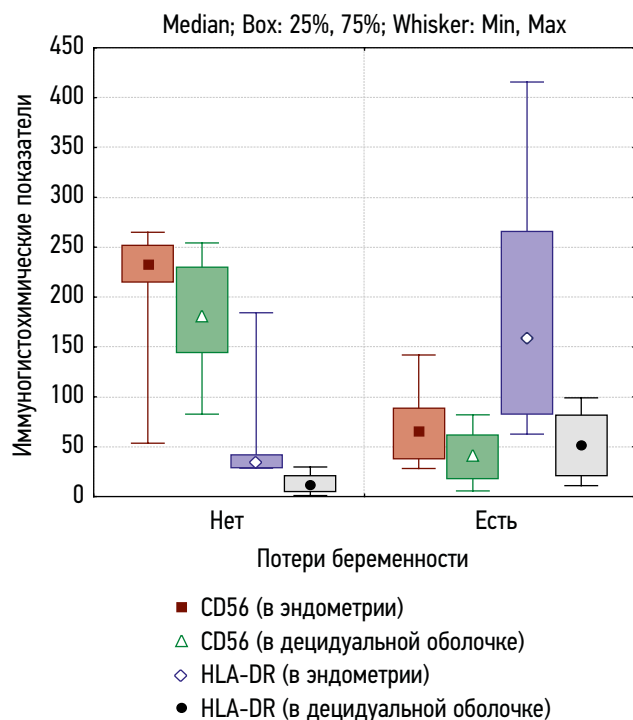
рями. По данным литературы, хронический эндометрит при невынашивании беременности диагностируют в 60,5–86,7 % случаев [15, 16]. В связи с этим проведен сравнительный анализ результатов гистологического исследования abortного материала у пациенток с первой потерей беременности и с потерями беременности в анамнезе. На основании полученных результатов достоверной связи между репродуктивными потерями в анамнезе и степенью лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации эндометрия и децидуальной ткани не выявлено (табл. 4).

При иммуногистохимическом исследовании CD56 в эндометрии обнаружен в основном в скоплениях лейкоцитов в цитогенной строме, а также вокруг желез эндометрия, в децидуальной ткани отмечены как разрозненное расположение положительно окрашенных клеток, так

и скопления в микроабсцессах. HLA-DR II класса наблюдался преимущественно вблизи желез эндометрия, чаще скоплениями, а в эндометриальной строме и децидуальной ткани в основном разрозненно. При сравнении уровня данных маркеров у пациенток исследуемых групп достоверных различий в зависимости от кариотипа хориона выявлено не было (табл. 5).

При анализе результатов иммуногистохимического исследования с учетом акушерского анамнеза пациенток выявлена достоверная связь между репродуктивными потерями в анамнезе и уровнем CD56 и HLA-DR II класса.

У первобеременных пациенток независимо от кариотипа хориона содержание CD56 было достоверно больше, в отдельных препаратах НК-клетки покрывали все поля зрения в децидуальной ткани, в эндометрии в основном



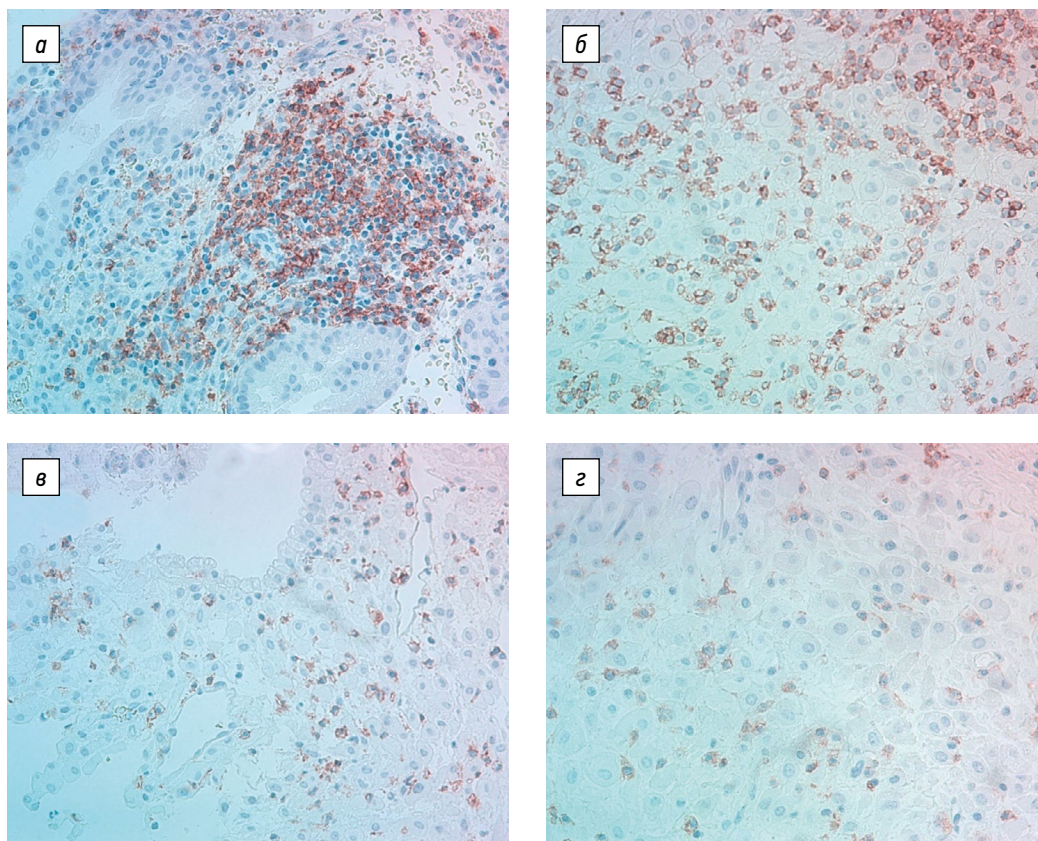
**Рис. 4.** Иммуногистохимическое исследование CD56 и HLA-DR II класса в эндометрии и децидуальной ткани при неразвивающейся беременности у пациенток в зависимости от репродуктивных потерь в анамнезе

располагались в скоплениях лейкоцитов в строме и сплошь вокруг желез. При репродуктивных потерях в анамнезе наблюдалось достоверное уменьшение количества CD56 в эндометрии ( $71,61 \pm 11,92$ ) и децидуальной ткани ( $42,39 \pm 6,59$ ) по сравнению с первобеременными пациентками ( $207,82 \pm 20,48$  и  $182,65 \pm 5,41$  соответственно) ( $p < 0,001$ ) (рис. 4, 5).

Исследование HLA-DR II класса показало положительные результаты: у пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе был достоверно повышен уровень HLA-DR II класса как в эндометрии ( $184,99 \pm 23,8$ ), так и в децидуальной ткани ( $52,83 \pm 2,95$ ) по сравнению с группой первобеременных ( $58,57 \pm 10,62$  и  $13,35 \pm 0,15$  соответственно) ( $p < 0,001$ ) (рис. 4, 6).

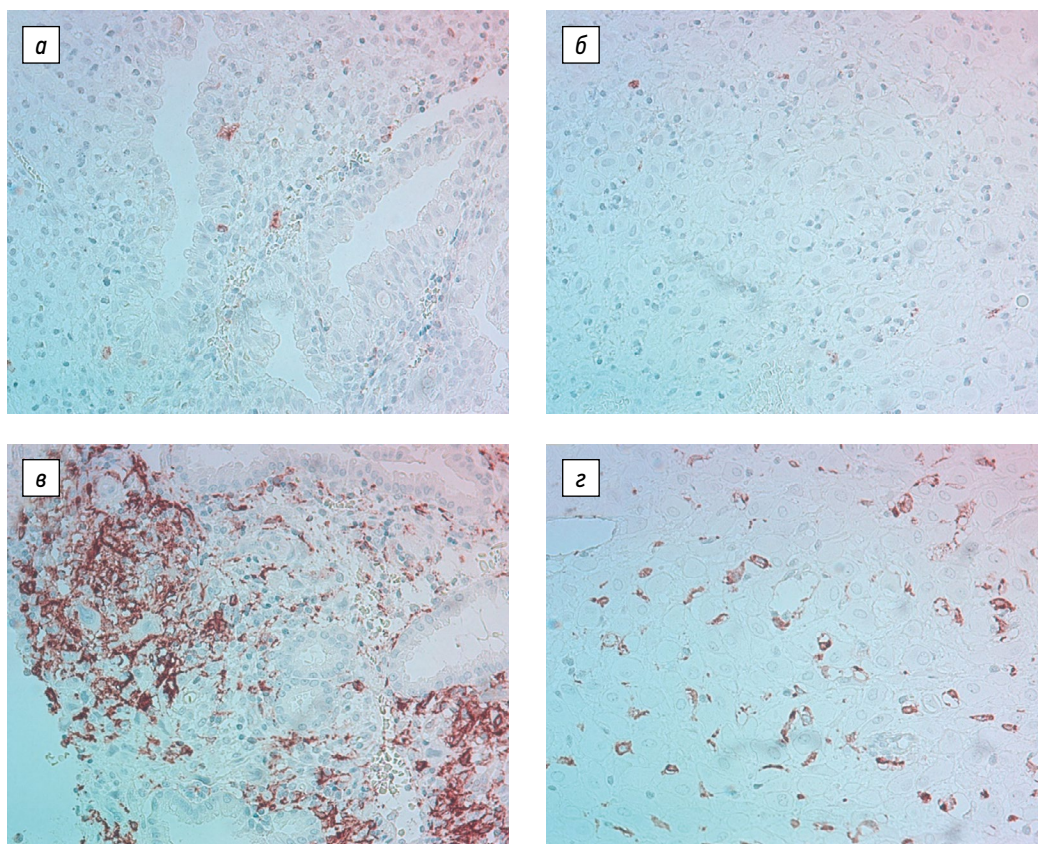
## ОБСУЖДЕНИЕ

На основании результатов исследования можно утверждать, что неразвивающаяся беременность, ассоциированная с хромосомными аномалиями хориона, возникла у пациенток с преимущественно неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом. Замершая беременность с эуплоидным кариотипом хориона зарегистрирована у женщин с более отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, кроме того, достоверно



**Рис. 5.** Микрофотографии иммуногистохимического исследования CD56: а — в эндометрии у пациентки с первой неразвивающейся беременностью; б — в децидуальной ткани у пациентки с первой неразвивающейся беременностью; в — в эндометрии у пациентки с репродуктивными потерями в анамнезе; з — в децидуальной ткани у пациентки с репродуктивными потерями в анамнезе. Иммуногистохимическое исследование, ув.  $\times 400$





**Рис. 6.** Микрофотографии иммуногистохимического исследования HLA-DR II класса: *а* — в эндометрии у пациентки с первой неразвивающейся беременностью; *б* — в децидуальной ткани у пациентки с первой неразвивающейся беременностью; *в* — в эндометрии у пациентки с репродуктивными потерями в анамнезе; *з* — в децидуальной ткани у пациентки с репродуктивными потерями в анамнезе. Иммуногистохимическое исследование, ув.  $\times 400$

чаще у пациенток данной группы диагностировали привычное невынашивание беременности в анамнезе. Несмотря на указанные анамнестические данные и отсутствие достоверных различий между группами по срокам гестации и длительности нахождения нежизнеспособного плодного яйца в полости матки, в случаях с хромосомными аномалиями хориона наблюдались более грубые структурные и некротические изменения ворсин хориона, более выраженная воспалительная инфильтрация эндометрия и децидуальной ткани. Лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрация эндометрия является показателем воспалительного процесса, а в сочетании с плазматическими клетками свидетельствует о хроническом воспалительном процессе [1, 17]. Морфологические изменения ворсинчатого хориона, такие как отек, гипоплазия трофобласта, связывают с наличием хромосомных аномалий [1, 18].

Некрозы ворсин хориона и поля фибриноидного некроза в межворсинчатом пространстве одни авторы объясняют перенесенным воспалением на фоне сексуально-трансмиссивных заболеваний [19, 20], другие — тромботическими осложнениями [17], третьи считают, что дистрофическая и воспалительная трансформация ворсин хориона, а также массивное отложение фибриноида в межворсинчатом пространстве служат косвенными

признаками реакции иммунного отторжения беременности [1].

Отсутствие достоверной связи между степенью описанных воспалительных изменений abortного материала и репродуктивными потерями в анамнезе дополнительно подтверждает, что выявленные морфологические особенности зависят только от кариотипа хориона.

Иммуногистохимическое исследование показало резкое снижение уровня CD56 и увеличение HLA-DR II класса в эндометрии и децидуальной ткани при повторных репродуктивных потерях в отличие от первобеременных пациенток. При этом зависимости экспрессии исследуемых маркеров от кариотипа хориона не обнаружено. Таким образом, у первобеременных пациенток с неотягощенным анамнезом при неразвивающейся беременности имеет смысл только установить кариотип хориона, а иммуногистохимическое исследование абортусов с определением маркеров CD56 и HLA-DR II класса целесообразно при повторных неразвивающихся беременностях независимо от кариотипа хориона. Дальнейшее изучение особенностей экспрессии NK-клеток и показателей главного комплекса гистосовместимости в I триместре беременности необходимо для понимания иммунного генеза механизмов формирования привычного невынашивания беременности.

## ВЫВОДЫ

1. При неразвивающейся беременности в случаях с хромосомными аномалиями хориона абортусы характеризуются значительным отеком в сочетании со склерозом ворсин хориона, более грубыми воспалительными изменениями в виде некроза ворсин хориона, умеренной и выраженной лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрации децидуальной ткани (67,46 и 30,18 % соответственно) и эндометрия (60,95 и 27,81 %), с наличием в них скоплений лейкоцитов по типу микроабсцессов. При отсутствии возможности выполнения генетического исследования данные гистологические характеристики могут быть использованы патоморфологами в качестве косвенных признаков хромосомных аномалий хориона.
2. Степень выраженности воспалительных изменений abortного материала зависит только от кариотипа хориона и не зависит ни от срока беременности, ни от длительности нахождения нежизнеспособного
3. У пациенток с неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом при первой неразвивающейся беременности целесообразно только определение кариотипа хориона для выявления причины замершей беременности.
4. Иммуногистохимическое исследование abortного материала с определением маркеров CD56 и HLA-DR II класса показано при повторных неразвивающихся беременностях независимо от кариотипа хориона.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНО

**Источник финансирования.** Исследование выполнено без использования спонсорских средств и финансового обеспечения.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Траль Т.Г., Толибова Г.Х., Сердюков С.В., Полякова В.О. Морфофункциональная оценка причин замершей беременности в первом триместре // Журнал акушерства и женских болезней. 2013. Т. 62. № 3. С. 83–87. DOI: 10.17816/JOWD62383-87
2. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. Москва: Триада-Х, 2005.
3. Bulletti C., Flamigni C., Giacomucci E. Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage // Hum. Reprod. Update. 1996. Vol. 2. No. 2. P. 118–136. DOI: 10.1093/humupd/2.2.118
4. Сотникова Н.Ю., Воронин Д.Н., Анциферова Ю.С. Роль децидуальных CD56<sup>+</sup> естественных киллеров в регуляции локального иммунного ответа в ранние сроки беременности // Вестник Уральской медицинской академической науки. 2011. № 2–1 (35). С. 68–69.
5. Козырева Е.В., Давидян Л.Ю. Иммуногистохимические особенности хронического эндометрита при бесплодии и невынашивании беременности // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2015. № 4 (36). С. 124–136.
6. Агнаева А.О., Беспалова О.Н., Соколов Д.И. и др. Роль естественных киллеров (NK-клеток) в репродуктивных потерях // Журнал акушерства и женских болезней. 2017. Т. 66. № 3. С. 143–156. DOI: 10.17816/jowd663143-156
7. Михайлова В.А., Сельков С.А., Соколов Д.И. Фенотипические и функциональные характеристики NK-клеток при беременности // Акушерство и гинекология. 2011. № 5. С. 4–9.
8. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss // Int. J. Dev. Biol. 2014. Vol. 58. No. 2–4. P. 219–229. DOI: 10.1387/ijdb.140109ss
9. Zhang X., Li J., Gu Yi. et al. A pilot study on environmental and behavioral factors related to missed abortion // Environ. Health Prev. Med. 2011. Vol. 16. No. 4. P. 273–278. DOI: 10.1007/s12199-010-0196-4
10. Мустафина Л.Р., Хон Е.В., Логвинов С.В., Юрьев С.Ю. Клеточный состав инфильтрата в базальной децидуальной оболочке в ранние сроки беременности при инфицировании урогенитальными микоплазмами // Морфология. 2011. Т. 139. № 3. С. 72–76.
11. Reinke P., Volk H.D. Diagnostic and predictive value of an immune monitoring program for complications after kidney transplantation // Urol. Int. 1992. Vol. 49. No. 2. P. 69–75. DOI: 10.1159/000282398
12. Reinke P., Fietze E., Docke W.D. et al. Late acute rejection in long-term renal allograft recipients. Diagnostic and predictive value of circulating activated T cells // Transplantation. 1994. Vol. 58. No. 1. P. 35–41.
13. Henny F.C., Weening J.J., Baldwin W.M. et al. Expression of HLA-DR antigens on peripheral blood T lymphocytes and renal graft tubular epithelial cells in association with rejection // Transplantation. 1986. Vol. 42. No. 5. P. 479–483. DOI: 10.1097/00007890-198611000-00007
14. Loewendorf A.I., Nguyen T.A., Yesayan M.N. et al. Normal human pregnancy results in maternal immune activation in the periphery and at the uteroplacental interface // PLoS One. 2014. Vol. 9. No. 5. P. e96723. DOI: 10.1371/journal.pone.0096723
15. Эллиниди В.Н., Давыдова Н.И., Калинина Н.М. и др. Современные возможности диагностики хронического эндометрита // Журнал акушерства и женских болезней. 2003. Т. 52. № 3. С. 64–68.

16. Демидова Е.М. Привычный выкидыш (патогенез, акушерская тактика): дис. ... д-ра мед. наук. Москва, 1993. [дата обращения 16.08.2021]. Доступ по ссылке: <http://medical-diss.com/docreader/405801/a?#?page=1>

17. Акулич Н.С., Рунец У.Ф., Юдина О.А., Шевяко А.Д. Морфологические критерии невынашивания беременности ранних сроков // Медицинский журнал. 2017. № 3 (61). С. 49–52.

18. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний шейки и тела матки. Санкт-Петербург: СОТИС, 1999.

19. Перетятко Л.П., Фатеева Н.В., Кузнецов Р.А., Малышкина А.И. Сравнительная морфология ворсинчатого хориона 5–12 недель беременности при хроническом эндометрите, осложненном привычным невынашиванием, и искусственных абортах // Таврический медико-биологический вестник. 2017. Т. 20. № 2–2. С. 98–103.

20. Захаров Г.А., Галиулина Е.В., Заречнова Н.Н. Строение плодного яйца abortивного материала эмбрионов человека при замершей беременности на фоне болезней, передающихся половым путем // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2014. Т. 19. № 6. С. 2001–2003.

## REFERENCES

1. Tral TG, Tolibova GK, Serdiukov SV, Polyakova VO. Morphofunctional evaluation of the causes of stilled pregnancy in the first trimester. *Journal of obstetrics and women's diseases*. 2013;62(3):83–87. (In Russ.). DOI: 10.17816/JOWD62383-87

2. Sidelnikova VM. *Privychnaya poterya beremennosti*. Moscow: Triada-X; 2005. (In Russ.)

3. Bulletti C, Flamigni C, Giacomucci E. Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. *Hum Reprod Update*. 1996;2(2):118–136. DOI: 10.1093/humupd/2.2.118

4. Sotnikova NYu, Voronun DN, Anciferova YuS. The role of decidual CD56+ natural killers in regulation of the local immune response during early pregnancy. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2011;2–1(35):68–69. (In Russ.)

5. Kozyreva EV, Davidyan LY. Immunohistochemical features of chronic endometritis in case of infertility and miscarriage (review of literature). *University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2015;4(36):124–136. (In Russ.)

6. Agnaeva AO, Bepalova ON, Sokolov DI, et al. Role of natural killer cells in reproductive failure. *Journal of obstetrics and womans diseases*. 2017;66(3):143–156. (In Russ.). DOI: 10.17816/jowd663143-156

7. Mikhailova VA, Selkov SA, Sokolov DI. Phenotypic and functional characteristics of NK cells in pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*. 2011;(5):4–9. (In Russ.)

8. Sharma S. Natural killer cells and regulatory T cells in early pregnancy loss. *Int J Dev Biol*. 2014;58(2–4):219–229. DOI: 10.1387/ijdb.140109ss

9. Zhang X, Li J, Gu Yi, et al. A pilot study on environmental and behavioral factors related to missed abortion. *Environ Health Prev Med*. 2011;16(4):273–278. DOI: 10.1007/s12199-010-0196-4

10. Mustafina LR, Khon EV, Logvinov SV, Yuriyev SYu. Cellular composition of decidua basalis infiltrate during early pregnancy in urogenital mycoplasma infection. *Morphology*. 2011;139(3):72–76. (In Russ.)

11. Reinke P, Volk HD. Diagnostic and predictive value of an immune monitoring program for complications after kidney transplantation. *Urol Int*. 1992;49(2):69–75. DOI: 10.1159/000282398.

12. Reinke P, Fietze E, Docke WD, et al. Late acute rejection in long-term renal allograft recipients. Diagnostic and predictive value of circulating activated T cells. *Transplantation*. 1994;58(1):35–41.

13. Henny FC, Weening JJ, Baldwin WM, et al. Expression of HLA-DR antigens on peripheral blood T lymphocytes and renal graft tubular epithelial cells in association with rejection. *Transplantation*. 1986;42(5):479–483. DOI: 10.1097/00007890-198611000-00007

14. Loewendorf AI, Nguyen TA, Yesayan MN, et al. Normal human pregnancy results in Maternal Immune Activation in the Periphery and at the Uteroplacental Interface. *PLoS One*. 2014;9(5):e96723. DOI: 10.1371/journal.pone.0096723

15. Ellinidi VN, Davydova NI, Kalinina NM, et al. Modern opportunities for diagnostics of chronic endometritis. *Journal of obstetrics and womans diseases*. 2003;52(3):64–68. (In Russ.)

16. Demidova EM. *Privychnyj vykidysh (patogenez, akusherskaja taktika) [dissertation]* Moscow; 1993. (In Russ.). [cited 16 Aug 2021.] Available from: <http://medical-diss.com/docreader/405801/a?#?page=1>

17. Akulich NS, Runets UF, Yudina OA, Sheviako AD. Morphological criteria for miscarriage of early pregnancy. *Medical Journal*. 2017;3(61):49–52. (In Russ.)

18. Khelnitsky OK. *Tsitologicheskaya i gistologicheskaya diagnostika zabolevaniy sheyki i tela matki*. St. Petersburg: SOTIS; 1999. (In Russ.)

19. Peretyatko LP, Fateeva NV, Kuznetsov RA, Malysheva AI. The comparative morphology of the villous chorion at 5–12 week pregnancy at the chronic endometritis complicated by habitual miscarriage and artificial abortions. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskij Vestnik*. 2017;20(2–2):98–103. (In Russ.)

20. Zakharov GA, Galiulina EV, Zarechnova NN. Structure of ovum of abortive material of human embryos with non-viable pregnancy with sexually transmitted diseases. *Tambov University Reports. Series Natural and Technical Sciences*. 2014;19(6):2001–2003. (In Russ.)

## ОБ АВТОРАХ

**\* Ольга Алексеевна Романова;**

адрес: Россия, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41;  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2637-5620>;  
Researcher ID: AAB-2136-2021; eLibrary SPIN: 5740-7953;  
e-mail: romanova-roa@yandex.ru

**Виктория Анатольевна Печеникова, д-р мед. наук, доцент;**

Researcher ID: AAB-2105-2021; eLibrary SPIN: 9603-5645;  
e-mail: p-vikka@mail.ru

## AUTHORS INFO

**\* Olga A. Romanova, MD;**

address: 41 Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russia;  
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2637-5620>;  
Researcher ID: AAB-2136-2021; eLibrary SPIN: 5740-7953;  
e-mail: romanova-roa@yandex.ru

**Victoria A. Pechenikova, MD, Dr. Sci. (Med.), Assistant Professor;**

Researcher ID: AAB-2105-2021; eLibrary SPIN: 9603-5645;  
e-mail: p-vikka@mail.ru

---

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author