

На правах рукописи

Мустафина Лилия Рамильевна

МОРФОЛОГИЯ МАТОЧНО-ПЛАЦЕНТАРНЫХ
ВЗАИМООТНОШЕНИЙ ПРИ УРОГЕНИТАЛЬНОМ ИНФИЦИРОВАНИИ

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
доктора медицинских наук

Томск – 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

Доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович

Доктор медицинских наук Юрьев Сергей Юрьевич

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор Красноженов Евгений Павлович
ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Доктор медицинских наук, профессор Склянов Юрий Иванович
ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России

Доктор медицинских наук Удут Елена Владимировна
ФГБУ НИИ фармакологии СО РАМН

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук

Защита состоится « ____ » _____ 2013 г. в ____⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.03 при ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России по адресу: 634050, г. Томск, Московский тр., 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России

Автореферат разослан « ____ » _____ 2013 г.

Ученый секретарь диссертационного совета



А.В. Герасимов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Плацентация является сложным процессом, включающим в себя множество клеточных и гуморальных факторов, различных межклеточных взаимодействий [Цирельников Н.И., 1980; Брусиловский А.И., 1986; Милованов А.П., 1999]. Выпадение или изменение любого звена в этой сложной цепи может приводить к развитию осложнений беременности и репродуктивным потерям.

Согласно данным различных исследователей, важное место в невынашивании беременности принадлежит инфекционным и аутоиммунным процессам, доля которых в последние годы значительно увеличилась [Сухих Г.Т. и др., 2012]. Кроме того, трансформация иммунного ответа в организме женщины при наступлении беременности увеличивает риск колонизации половых путей патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, а также способствует искажению иммунного ответа на присутствие инфекции [Довжикова И.В. и др., 2010; Kirk E. et al., 2008].

При возникновении риска инфицирования во время беременности защитную функцию выполняют иммуноглобулины матери и барьерные механизмы слизистых оболочек (мукозальный иммунитет) [Mor G. et al., 2011].

В ранний гестационный период воспалительная реакция в маточно-плацентарной области возможна только за счет клеток мукозального иммунитета, которые являются первой линией борьбы с инфекционными агентами. Так, например, популяция лимфоцитов, инфильтрирующих эндометрий, а также их цитотоксическая активность значительно увеличиваются в период, наиболее благоприятный для имплантации бластоцисты [Dambaeva S.V. et al., 2012].

В случае инфицирования половых путей развивается целый каскад иммунных реакций, направленных на нейтрализацию и элиминацию патогена, что при значительной выраженности процесса может вызывать прерывание беременности [Айламазян Э.К., 2008; Тухватулин А.И. и др., 2011]. Таким образом, потеря плода при инфицировании зачастую связана не только с прямым действием микроорганизма, но и с активацией эффекторных клеток местного иммунитета, к примеру, естественных киллерных клеток, принимающих непосредственное участие в лизисе трофобласта и/или в запуске цитокинового каскада [Гуревич П.С., 2011].

Воспалительные заболевания нижних отделов половых путей, ассоциированные с такими условно-патогенными микроорганизмами, как *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*, зачастую не представляют значительной угрозы для здоровья женщины, однако могут приводить к осложнениям беременности и потере плода [Карапетян Т.Э. и др., 2011]. Напротив, опасность серьезных осложнений урогенитального хламидиоза во время беременности не вызывает сомнений, однако примерно у 70 % женщин он протекает абсолютно бессимптомно и не влияет на прогрессирование гестационного процесса и своевременное родоразрешение [Horner P., 2010; Silva M.J. et al., 2011]. Учитывая важную роль мукозального иммунитета в противоинфекционной защите и в патогенезе воспалительного процесса,

однозначно ответить на вопросы, от чего зависит та или иная реакция иммунокомпетентных клеток децидуальной оболочки при контакте с условно-патогенным или патогенным микроорганизмом и в чем кроется истинная причина репродуктивных потерь, представляется затруднительным. В связи с этим значительный интерес представляет оценка параметров локальной иммунной системы при разных видах урогенитального инфицирования в области непосредственного контакта организма матери и плода, которой в последние годы уделяется повышенное внимание [Михнина Е.А., 2009; Ганковская О.А. и др., 2010; Сухих Г.Т. и др., 2012].

Цель исследования:

Выявить роль морфофункциональных изменений и локальных иммунных реакций базальной децидуальной оболочки в защите маточно-плацентарной области при контаминации половых путей беременных женщин условно-патогенной и патогенной микрофлорой.

Задачи исследования:

1. Изучить морфологические изменения в базальной децидуальной оболочке и ворсинчатом хорионе в 6-8 нед. беременности при контаминации половых путей условно-патогенной (*Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*) и патогенной (*Chlamydia trachomatis*) урогенитальной микрофлорой.
2. Определить особенности локального иммунитета базальной децидуальной оболочки в 6-8 нед. беременности при контаминации половых путей условно-патогенной и патогенной урогенитальной микрофлорой.
3. Установить зависимость морфологических изменений в базальной децидуальной оболочке и ворсинчатом хорионе в 6-8 нед. гестации от изменений локального иммунного статуса базальной децидуальной оболочки при контаминации половых путей условно-патогенной и патогенной урогенитальной микрофлорой.
4. Оценить морфологические изменения и полноценность развития компенсаторных реакций в зрелых плацентах (38-40 нед. беременности) при контаминации половых путей условно-патогенной и патогенной урогенитальной микрофлорой.
5. Вскрыть основные клеточные механизмы, сдерживающие развитие инфекционно-воспалительного процесса в базальной децидуальной оболочке в условиях контаминации половых путей условно-патогенной и патогенной урогенитальной микрофлорой.

Научная новизна. В работе впервые представлены данные, характеризующие морфологию базальной децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона в сроке беременности 6-8 нед. в условиях контаминации половых путей патогенной и условно-патогенной микрофлорой.

Установлены особенности изменения популяционного состава иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих базальную децидуальную оболочку, при контаминации половых путей *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *Chlamydia trachomatis*. Выявлены признаки иммунной

несостоятельности локального клеточного иммунитета базальной децидуальной оболочки при уреа- и микоплазменной контаминации, связанные с пониженной численной плотностью моноцитов/макрофагов, экспрессирующих на поверхности клеточной мембраны Толл-подобные рецепторы-2 (TLR2), а также отсутствием лимфоцитов с фенотипом CD16+CD56±CD3– (NK-клеток). При хламидийном инфицировании показаны признаки активации иммунокомпетентных клеток базальной децидуальной оболочки, что характеризовалось увеличением численной плотности плазмоцитов, удвоением численной плотности CD16+CD56±CD3– лимфоцитов и TLR2-позитивных моноцитов/макрофагов.

При всех видах урогенитального инфицирования доказана взаимосвязь между численной плотностью иммунокомпетентных клеток в базальной децидуальной оболочке и своевременностью развития гестационной трансформации спиральных сосудов, эндометриальных желез, а также своевременностью формирования ворсинчатого хориона. Обнаружено, что ускоренная гестационная перестройка децидуальной оболочки при контаминации половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* ассоциирована с отсутствием сдерживающего влияния на процесс инвазии цитотрофобласта CD16+CD56±CD3– клеток. При хламидийном инфицировании активация CD16+CD56±CD3– лимфоцитов и TLR2-позитивных моноцитов/макрофагов в базальной децидуальной оболочке способствовала замедлению гестационной модификации спиральных артерий и эндометриальных желез, замедленному формированию ворсинчатого хориона.

С помощью проведенного морфометрического исследования и статистического анализа впервые были разработаны математические модели, позволяющие оценивать соответствие морфологического строения базальной децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона сроку беременности на основании изменений численной плотности иммунокомпетентных клеток (CD16+CD56±CD3– и CD56++CD16–CD3– лимфоцитов, CD68+ и TLR2+ моноцитов/макрофагов) базальной децидуальной оболочки при контаминации половых путей *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *Chlamydia trachomatis*.

В зрелых плацентах при всех видах урогенитального инфицирования продемонстрированы развернутые компенсаторно-приспособительные реакции на фоне умеренно выраженных инволютивно-дистрофических процессов, что укладывается в рамки компенсированной и/или субкомпенсированной плацентарной недостаточности.

Практическая значимость. Получены новые знания об особенностях клеточно-тканевых взаимоотношений в маточно-плацентарной области при контаминации половых путей условно-патогенными и облигатными микроорганизмами. Представленные в диссертации математические модели, разработанные для каждого вида инфекционного агента, позволяют значительно облегчить гистологическое исследование и сократить время на диагностику соответствия маточно-плацентарных структур сроку

беременности. Данные об особенностях поведения иммунокомпетентных клеток базальной децидуальной оболочки в присутствии в половых путях *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *Chlamydia trachomatis* могут быть использованы для составления практических рекомендаций, касающихся особенностей ведения беременных с данными видами урогенитального инфицирования. Представленные сведения о снижении иммунореактивности базальной децидуальной оболочки в условиях уреаплазменного и микоплазменного инфицирования могут быть использованы для разработки новых подходов профилактики невынашивания беременности.

Внедрение. Результаты исследования используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении практических занятий со студентами лечебного и педиатрического факультетов на кафедре гистологии, эмбриологии и цитологии в разделе «Эмбриология: провизорные органы», а также на кафедре морфологии и общей патологии в разделе «Эмбриология» Сибирского государственного медицинского университета.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Морфологические изменения в базальной децидуальной оболочке и ворсинчатом хорионе при контаминации нижних отделов половых путей *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* характеризуются признаками ускоренной гестационной перестройки спиральных артерий и желез базальной децидуальной оболочки, выраженной пролиферацией стромы и эпителия ворсин хориона. При активной и персистентной форме хламидийного инфицирования половых путей наблюдается замедление процесса трансформации спиральных артерий, выраженный отек стромы, отсутствие перестройки эндометриальных желез в базальной децидуальной оболочке и замедленное формирование ворсинчатого дерева.
2. Контаминация нижних отделов половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* ассоциирована со сниженной иммунореактивностью базальной децидуальной оболочки: уменьшена численная плотность НК-клеток, TLR2-позитивной и персистентной форме хламидийного инфицирования половых путей наблюдается замедление процесса трансформации спиральных артерий, выраженный отек стромы, отсутствие перестройки эндометриальных макрофагов. Инфицирование половых путей *Chlamydia trachomatis* сопровождается выраженными изменениями локального иммунного статуса в базальной децидуальной оболочке: увеличивается содержание плазмочитов, НК-клеток и TLR2-экспрессирующих макрофагов, численная плотность гранулярных лимфоцитов снижается при активной и не изменяется при персистентной форме.
3. Гестационная перестройка спиралевидных артерий и стромы базальной децидуальной оболочки в 6-8 нед. беременности зависит от популяции НК-клеток: в условиях уреа- и микоплазменной контаминации, при отсутствии НК-клеток, гестационная модификация ускоряется, при хламидийной инфекции и увеличении НК-клеток – замедляется.

4. Компенсаторные процессы в зрелых плацентах при контаминации половых путей *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* и *Chlamydia trachomatis* неспецифичны и характеризуются пролиферацией синцитиального покрова ворсин с формированием синцитиальных почек, синцитио-капиллярных мембран и ангиоматозом терминальных ворсин.

Апробация работы. Материалы диссертации доложены и обсуждены на X конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2009); X Конгрессе Международной ассоциации морфологов (Ярославль, 2010); 15-й международной научно-практической конференции «Клинические и фундаментальные аспекты репродуктивных проблем и здоровья женщины» (Кемерово, 2011); на XII открытой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука» (Киров, 2011); на 39-й конференции молодых ученых Смоленской медицинской академии (Смоленск, 2011); на юбилейной межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВА в Кузбассе «Медицина XXI века» (Новокузнецк, 2011); на XII конгрессе молодых ученых с международным участием «Науки о человеке» (Томск, 2011); на V Международной конференции молодых ученых «Современные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии» (Москва, 2011); на всероссийской научно-практической конференции «Проблемы репродуктологии: от планирования беременности до вспомогательных технологий» (Томск, 2011); на летнем медицинском Интернет-форуме-2011 (Саратов, 2011); на IV Международной научно-практической конференции «Интеллектуальный потенциал молодых ученых России и зарубежья» (Москва, 2012); на XI конгрессе Международной ассоциации морфологов (Самара, 2012); на VI Региональном форуме «Мать и Дитя. Ростов-на-Дону» (Ростов-на-Дону, 2012).

Публикации. По материалам работы опубликованы 32 печатные работы, из них 17 публикаций в изданиях, рекомендованных ВАК.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 273 страницах машинописного текста и состоит из четырех глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов) и выводов. Работа иллюстрирована 109 рисунками и содержит 21 таблицу. Библиографический список включает 462 источника, из них 216 на русском и 246 на иностранных языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования служили базальные децидуальные оболочки и ворсинчатый хорион человека, полученные после искусственных абортов по немедицинским показаниям в сроке гестации 6-8 нед. (n=136) и плаценты человека, полученные после срочных родов в гестационном сроке 38-40 нед. (n=155). Набор материала осуществляли в родильных домах г. Томска (МБЛПУ «Родильный дом № 1», МБЛПУ Родильный дом им. Н.А. Семашко, МАУЗ «Роддом № 4»). Исследования были одобрены этическим комитетом

ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (протокол заседания № 1278 от 01.03.2010) и проводились с письменного согласия пациенток.

Критериями включения в исследование являлись случаи нормально прогрессирующей беременности у женщин с уреоплазменной, микоплазменной или хламидийной инфекцией половых путей к моменту аборта или родов, отсутствие указанных инфекций у беременных контрольной группы. Возраст беременных женщин, включенных в исследование, составлял 19-37 лет.

Исключали из исследования беременных с наличием венерических, аутоиммунных и декомпенсированных экстрагенитальных заболеваний. Женщин, лечившихся по поводу уреоплазменной, микоплазменной или хламидийной инфекции до наступления настоящей беременности, также исключали из исследования.

Перед оперативным вмешательством (медицинским абортом) в I триместре беременности и непосредственно перед родами всем женщинам проводили клиническую оценку вагинально-цервикального биоценоза на основании анализа уретральных, влагалищных и цервикальных мазков с окраской по Граму. Идентификацию уреоплазм, микоплазм и хламидий осуществляли методом ПЦР при исследовании соскобов эпителия уретры и цервикального канала. Критерием диагностики персистентной формы хламидийной инфекции являлось обнаружение в сыворотке крови антител класса G к рекомбинантному белку теплового шока Hsp60 *Cl. trachomatis*.

Всего в исследовании был проанализирован биологический материал от 291 пациентки. В зависимости от наличия/отсутствия инфекционного агента в каждом из изучаемых сроков беременности выделяли 5 групп исследования:

1-я группа – беременные женщины, в нижних отделах половых путей которых выявлялась *U. urealyticum* с микробным числом $>10^4$ КОЕ (в 6-8 нед. беременности n=18; в 38-40 нед. беременности n=35);

2-я группа – беременные женщины, в нижних отделах половых путей которых выявлялась *M. hominis* с микробным числом $>10^4$ КОЕ (в 6-8 нед. беременности n=16; в 38-40 нед. беременности n=24);

3-я группа – беременные женщины с активной формой хламидиоза (в 6-8 нед. беременности n=24; в 38-40 нед. беременности n=17);

4-я группа – беременные женщины с персистентной формой хламидиоза (в 6-8 нед. беременности n=12; в 38-40 нед. беременности n=16);

5-я группа – беременные женщины без уреоплазменного, микоплазменного и хламидийного инфицирования (контрольная группа; в 6-8 нед. беременности n=66; в 38-40 нед. беременности n=63).

Для оценки **морфологических изменений** в течение 10-15 мин после оперативного вмешательства/родов абортивный материал/плаценты фиксировали в 10-процентном нейтральном формалине, жидкости Карнуа и заливали в парафин. После приготовления срезов толщиной 4-6 мкм проводили окрашивание гематоксилином и эозином, гематоксилином-

пикрофуксином по Ван-Гизону, метиловым-зеленым и пиронином по Браше, полихромным красителем по Маллори, альтиановым синим, ШИК-реакцию.

Для **иммуногистохимического исследования** материал фиксировали в 10-процентном нейтральном забуференном формалине (рН 7,4-7,6) в течение 24 часов при комнатной температуре, затем заливали в парафин. На депарафинированные срезы наносили блокирующий реагент (Peroxidase-Blocking Solution, Dako, Дания), после чего проводили высокотемпературную обработку срезов в СВЧ в соответствующем буферном растворе (в зависимости от протокола окрашивания к каждому конкретному моноклону). На остывшие срезы раскапывали следующие антитела: CD3, CD56, CD68 (Dako, Дания), CD16 (Novocastra, Великобритания), TLR2 (BD Biosciences, США). В случае выявления экспрессии TLR2 этап высокотемпературной демаскировки пропускали. Инкубацию с TLR2 проводили в течение ночи при +4°C, с остальными антителами – в течение 1 часа при +25°C. Для выявления окрашивания на срезы наносили раствор диаминобензидина (Dako REAL™ EnVision™ Detection System, Дания), ядра докрашивали гематоксилином Майера.

Материал, фиксированный в 2,5-процентном глутаровом альдегиде, постфиксировали в 1-процентном растворе четырехоксида осмия, дегидратировали в спиртах восходящей концентрации и заливали в эпон. Приготовленные на ультратоме LKB-4 (Швеция) полутонкие срезы окрашивали толуидиновой синью. Ультратонкие срезы помещали на медную сетку, контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца [Reynolds E.S., 1963]. Просмотр и фотографирование полутонких срезов производили на световом микроскопе «Axiostar plus» (Carl Zeiss, Германия), ультратонких – на электронном микроскопе JEM-7A (Япония).

Количественную оценку структурных компонентов abortивного материала проводили с помощью окулярной сетки Автандилова на 50 точек. Для этого в десяти независимых полях зрения определяли удельные объемы (%) спиральных артерий, стромы базальной децидуальной оболочки (БДО), децидуальных клеток, эндометриальных желез, стромы ворсин хориона, хориального эпителия, фетальных сосудов, фибриноида, межворсинчатого пространства, синцитиальных почек, кровоизлияний и некротических очагов в строме БДО.

При помощи окулярной вставки с известной площадью (0,05 мм²) подсчитывалась численная плотность децидуальных клеток разного типа (1-й тип – преддецидуальные, 2-й тип – промежуточные, 3-й тип – зрелые), CD56-CD16-CD3-лимфоцитов, гранулярных лимфоцитов с фенотипом CD56++CD16-CD3-, НК-клеток с фенотипом CD16+CD56±CD3-, плазмоцитов, полиморфноядерных лейкоцитов, CD68+ моноцитов и макрофагов в 1 мм² среза БДО. В ворсинах хориона подсчитывалась численная плотность клеток Кашенко-Гофбауэра в 1 мм² среза.

Для исследования плацент, полученных после родов, забирали фрагменты из центральной, парацентральной и краевой зоны, из участков без макроскопических видимых патологических изменений. Количественную

оценку структурных компонентов плаценты проводили при помощи окулярной сетки Автандилова, для чего в десяти независимых полях зрения определяли удельные объемы (%) базальной и хориальной пластинки, межворсинчатого пространства, очагов тромбоза межворсинчатого пространства, фибриноида, кальцинатов, периферических трофобластических элементов, трофобластического эпителия, фетальных сосудов, некрозов. Подсчет, просмотр и фотографирование микропрепаратов осуществляли на микроскопе «Аxiostar plus» (Carl Zeiss, Германия), ок. х 10, об. х 40, х 90.

Статистическую обработку данных проводили при помощи компьютерной программы SPSS 11.5. Анализ полученных данных осуществляли методами описательной статистики с вычислением медианы (Me) и интерквартильного интервала (Q_1-Q_3). Для оценки различий использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия между показателями в разных группах считали значимыми при $p < 0,05$, при $p = 0,55-0,60$ высказывались о тенденции. Корреляционная связь – прямая (положительное значение критерия) и обратная (отрицательное значение критерия) – оценивалась при помощи ранговой корреляции Спирмена. Тесноту связи оценивали как слабую ($r = 0,10-0,50$), умеренную ($r = 0,51-0,70$) и сильную ($r > 0,71$). При построении математической модели использовали метод обобщенных линейных моделей, являющийся модификацией однофакторного дисперсионного анализа и объединяющий в себе многофакторный дисперсионный и ковариационный анализ, и метод полиномиальной регрессии. Результаты количественного анализа изображали в виде формул, графиков и таблиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Морфологические изменения базальной децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона в 6-8 недель беременности при контаминации половых путей уреа- и микоплазмами

При уреаплазменной контаминации БДО содержала клубки спиралевидных артерий, стенки которых замещались полосками фибриноида. Эндотелиальная выстилка сосудов в большинстве случаев утрачивалась, замещаясь клетками внутрисосудистого цитотрофобласта. Просвет некоторых спиральных артерий был полностью закрыт «цитотрофобластическими пробками», что приводило к нарушению кровотока, появлению локальных некрозов и кровоизлияний в строме БДО. Железы эндометрия разрушались клетками инвазивного цитотрофобласта, эпителиоциты зачастую были слущены в просвет. Строму представляли два типа децидуальных клеток: промежуточные и зрелые, расположенные чаще всего плотным пластом или на некотором расстоянии друг от друга, чему способствовали отечные явления. Децидуальные клетки промежуточного типа имели веретеновидную форму с увеличенным в перинуклеарной зоне объемом цитоплазмы, крупное ядро с одним-двумя пиронинофильными ядрышками. Зрелые децидуальные клетки характеризовались четко очерченной перичеселлюлярной мембраной,

округлой или овальной формы, слабо базофильной цитоплазмой, имели одно-два ядра с деконденсированным хроматином. Ультрамикроскопически зрелые децидуоциты содержали в цитоплазме палочковидные митохондрии, расширенные цистерны гладкой эндоплазматической сети, что указывало на высокую синтетическую активность децидуоцитов.

Наряду с децидуальными клетками в строме БДО определялись мононуклеарные клетки, расположенные диффузно или в виде мелких очагов вокруг спиральных артерий и желез. Такое сосредоточение мононуклеаров представляло собой миграцию гранулярных лимфоцитов и моноцитарно-макрофагальных клеток, оказывающих модифицирующее влияние на строму, спиралевидные артерии и эндометриальные железы БДО [Le Bouteiller P., El Costa H., Aguerre-Girr M. et al., 2009; Croy B.A., Zhang J., Tayade C. et al., 2010]. При постановке иммуногистохимической реакции подавляющее большинство составляли клетки моноцитарно-макрофагального ряда с фенотипом CD68+. Несколько меньшим содержанием, по сравнению с моноцитами и макрофагами, отличались гранулярные лимфоциты с иммунофенотипом CD56++CD16-CD3-, распределенные в строме, а также интраэпителиально – отдельные клетки визуализировались в эпителии сохранившихся эндометриальных желез. Естественные киллерные, или НК-клетки, с фенотипом CD16+CD56±CD3-, распространялись в децидуальной оболочке диффузно или в виде отдельных периваскулярных инфильтратов.

Оценка активности клеток мукозального иммунитета БДО при помощи иммуногистохимического метода окрашивания позволила визуализировать Толл-подобные рецепторы-2 (TLR2) на мембранах моноцитов, макрофагов, а также на мембранах и, нередко, в цитоплазме отдельных эндотелиальных клеток в просвете спиралевидных артерий. Интенсивная экспрессия TLR2 довольно часто наблюдалась и в цитоплазме децидуальных клеток, что, вероятно, было связано с присутствием TLR2 на мембранах внутриклеточных органелл [Abrahams V.M., Vole-Aldo P., Kim Y.M. et al., 2004; Koga K., 2008].

Ворсинчатое дерево содержало преимущественно незрелые промежуточные ворсины с мезенхимальной стромой, в которой имелись стромальные каналы со свободно расположенными в них плацентарными макрофагами. Сосудистое русло ворсинчатого дерева формировало сеть тонкостенных капилляров, содержащих эритробласты. В отдельных ворсинах наблюдалось субэпителиальное расположение капилляров, прилежащих непосредственно к трофобластическому эпителию. Поверхность ворсинок была покрыта непрерывным слоем синцитиотрофобласта, под которым выявлялись лежащие в один слой клетки цитотрофобласта. В редких случаях отмечалось нарушение синцитиального покрова ворсин, участки которого замещались материнским фибриноидом. Межворсинчатое пространство было заполнено материнской кровью с небольшими гомогенными конгломератами фибриноида.

При **микоплазменной контаминации** нижних отделов половых путей спиралевидные артерии формировали клубки, просветы их на бóльшем протяжении были частично или полностью облитерированы клетками

инвазирующего цитотрофобласта, вокруг выявлялись мелкоочаговые кровоизлияния. Эндометриальные железы подвергались гестационной перестройке, однако продолжали вырабатывать слизь, гликопротеины и гликоген. Стромальные клетки БДО были представлены промежуточными и зрелыми формами. Кроме децидуальных клеток состав стромы БДО был представлен в большей степени моноцитарно-макрофагальными клетками и в несколько меньшей – лимфоцитами. Указанные клетки располагались диффузно или формировали инфильтраты вокруг спиральных желез и артерий. Периваскулярные клеточные инфильтраты были представлены преимущественно гранулярными лимфоцитами с фенотипом CD56⁺⁺CD16-CD3-, что свидетельствует об их активном участии в процессе гестационной трансформации сосудов [Maghazachi A.A., 2010]. На мембране CD68⁺ моноцитов и макрофагов, а также эндотелиальных клеток регистрировалась положительная экспрессия рецепторов врожденного иммунитета – TLR2.

Строение ворсинчатого хориона соответствовало сроку беременности, и было представлено в основном промежуточными незрелыми ворсинами. Отростчатые мезенхимальные клетки в строме ворсинок формировали рыхлую сеть стромальных каналов, содержащих плацентарные макрофаги. Среди стромальных каналов располагались тонкостенные капилляры, заполненные эритроцитами. Поверхность ворсинок была покрыта цито- и синцитиотрофобластом. В межворсинчатом пространстве содержалась материнская кровь с небольшими гомогенными конгломератами фибриноида.

Таким образом, в 6-8 нед. беременности при контаминации нижних отделов половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* были выявлены сходные морфологические изменения: в БДО наблюдался незначительный отек стромы и признаки ее ускоренной гестационной перестройки, активность иммунокомпетентных клеток проявлялась выраженной экспрессией маркеров CD56 и TLR2. Со стороны ворсинчатого хориона отмечалось преждевременное сокращение эпителиально-капиллярной дистанции и мелкоочаговые повреждения синцитиотрофобластического покрова ворсин с замещением дефектов материнским фибриноидом.

Морфологические изменения базальной децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона в 6-8 недель беременности при инфицировании *Chlamydia trachomatis* в активной и персистентной форме

При активной форме хламидийной инфекции БДО характеризовалась слабо выраженными признаками гестационной перестройки спиральных маточных артерий. В отличие от спиралевидных артерий в группе неинфицированных беременных стенки сосудов характеризовались слабо выраженным фибриноидным набуханием без признаков внутрисосудистой инвазии. Эндометриальные железы не претерпевали значительных изменений, были расширены, заполнены слизистым секретом. В просветах единичных желез и перигландулярно наблюдались скопления

полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов. Среди стромальных клеток преобладали зрелые децидуоциты. В отдельных участках определялись децидуальные клетки крупных размеров со светлой, ячеистого вида цитоплазмой и пикнотически измененным ядром, ультрамикроскопически в них выявлялось резкое расширение цистерн гладкой ЭПС, полностью заполнявших цитоплазму, сдавливая ядро, другие органеллы при этом не определялись. Описанные децидуоциты плотно прилежали друг к другу. Однако на большем протяжении децидуальные клетки были расположены на значительном расстоянии друг от друга в связи с выраженным отеком стромы БДО. Среди иммунокомпетентных клеток в строме были равномерно распределены CD68+ моноциты и макрофаги, на мембранах которых отмечалась выраженная экспрессия TLR2. CD56++CD16-CD3- и CD16+CD56±CD3- лимфоциты локализовались преимущественно вокруг сосудов и желез.

В составе ворсинчатого дерева преобладали незрелые промежуточные ворсины. Строма единичных ворсин характеризовалась выраженным отеком, содержала стромальные каналы с незначительным содержанием или полным отсутствием клеток Кашенко-Гофбауэра. Поверхность ворсин была покрыта двумя слоями трофобластического эпителия, при этом синцитиотрофобласт местами был значительно истончен, нередко имел дефекты, замещенные фибриноидом. Синцитиальные почки, образующиеся на поверхности ворсин, зачастую содержали в цитоплазме вакуоли, являющиеся, вероятно, следствием дистрофических изменений в синцитиальном эпителии. В межворсинчатом пространстве отмечались гемодинамические нарушения в виде очагового тромбоза. Наблюдались также отдельные ворсинки с дистрофически измененной стромой, частично или полностью лишенные трофобластического покрова, окруженные со всех сторон фибриноидом.

Персистентная форма хламидийной инфекции половых путей, как и активная, характеризовалась замедленной гестационной трансформацией спиралевидных артерий. Последние формировали клубки, однако стенки их не содержали элементов инвазивного цитотрофобласта, и лишь в отдельных артериях отмечалось фибриноидное набухание наружной оболочки. Единичные сосуды были тромбированы, вокруг наблюдались очаговые некротические изменения с зоной отграничительного воспаления, а также обширные кровоизлияния в БДО. Железы эндометрия характеризовались активной секрецией слизи и гликопротеинов. Децидуоциты были представлены промежуточными и зрелыми формами, последние преобладали. Строма характеризовалась умеренно выраженным отеком. Иммунокомпетентные клетки БДО были представлены CD68+ моноцитами и макрофагами, экспрессировавшими на своей поверхности TLR2. Как и при активной форме хламидийной инфекции, наблюдалась выраженная и распространенная экспрессия CD16+CD56±CD3- лимфоцитов, гранулярные лимфоциты выявлялись в меньшем количестве.

В структуре ворсинчатого хориона преобладали незрелые промежуточные ворсины, содержащие рыхлую строму с клетками Кашенко-Гофбауэра и тонкостенными капиллярами. В отдельных полях зрения

встречались бессосудистые ворсинки с выраженной фиброзной стромой. Трофобластический покров был образован двумя слоями эпителиальных клеток. Наружный, синцитиальный слой местами истончался, встречались участки с пикнотически измененными ядрами. В межворсинчатом пространстве встречались мелкие очаги тромбоза с заключенными в них дистрофически измененными ворсинками, а также отдельные ворсины, «замурованные» в фибриноид, трофобластический покров у которых утрачивался, строма подвергалась дистрофии и склерозу.

Таким образом, в 6-8 нед. беременности при активной и персистентной форме хламидийной инфекции в БДО отмечались признаки замедленной гестационной трансформации желез и спиральных маточных артерий, отек межклеточной стромы. Активная форма хламидиоза характеризовалась также пери- и интрагландулярной клеточной инфильтрацией. При иммуногистохимическом исследовании наблюдалась интенсивная экспрессия CD16 на мембране лимфоцитов и TLR2 на мембране моноцитов/макрофагов. Ворсинчатый хорион характеризовался дистрофией и деструкцией синцитиотрофобласта и отдельных ворсин, очаговым тромбозом межворсинчатого пространства, кистозными полостями в цитоплазме свободных симпластов.

Количественная оценка морфологических изменений в 6-8 нед беременности при контаминации половых путей различными видами урогенитальных микроорганизмов

Удельные объемы стромы БДО в группах с уреоплазменной и микоплазменной контаминацией не отличались от показателей в контроле (табл. 1). При активной и персистентной форме хламидийной инфекции наблюдалось увеличение удельных объемов стромы вдвое по сравнению с показателями контрольной группы.

Удельные объемы сосудов БДО в группах с наличием уреоплазм и микоплазм характеризовалась недостоверным увеличением по сравнению с показателями в группе контроля, что было связано с некоторым опережением гестационной перестройки спиралевидных артерий. При хламидийном инфицировании удельные объемы сосудов были значимо ниже таковых в контроле, отражая замедленную гестационную трансформацию спиральных маточных артерий.

Удельные объемы эндометриальных желез значимо отличались от показателей группы контроля лишь при уреоплазменной контаминации, снижаясь более чем в 4 раза, что, вероятно, также свидетельствует в пользу ускоренной перестройки эндометриальной стромы. В других сравниваемых группах статистически значимых отличий не наблюдалось.

Удельные объемы кровоизлияний в БДО были минимальными в группах с уреа- и микоплазменной контаминацией. Значимое увеличение показателя отмечалось лишь при персистентной форме хламидийного инфицирования.

Таблица 1

Удельные объемы различных структур базальной децидуальной оболочки в 6-8 недель беременности ($Me (Q_1-Q_3)$), %

Структуры БДО	Группа 1: U. ur. (n=18)	Группа 2: M. hom. (n=16)	Группа 3: Cl. tr. АФ (n=24)	Группа 4: Cl. tr. ПФ (n=12)	Группа 5: Контроль (n=66)
Строма БДО	7,8^{3,4} (0,00-13,7)	13,4³ (4,9-19,5)	24,8^{1,2,5} (20,4-30,4)	19,4¹ (11,0-29,7)	9,8¹ (5,0-21,4)
Сосуды БДО	5,6 (0,0-8,1)	5,6^{3,4} (2,0-7,3)	1,9² (1,3-4,0)	1,6^{2,5} (0,5-3,6)	3,1⁴ (1,3-7,7)
Эндометриальные железы	0,3^{3,4,5} (0,0-2,3)	2,2 (0,3-3,5)	2,8¹ (1,1-3,8)	3,5¹ (0,5-4,8)	1,8¹ (0,2-3,4)
Кровоизлияния в БДО	0,0 (0,0-14,9)	0,0^{3,4} (0,0-2,4)	4,1² (2,2-11,4)	10,0² (3,2-18,8)	4,6 (0,0-13,0)
Некроз в БДО	0,0	0,0	0,0	0,0 (0,0-7,3)	0,0
Децидуальные клетки	39,6 (0,0-71,9)	59,8^{3,4} (36,5-76,9)	18,6^{2,5} (15,7-21,4)	19,4^{2,5} (12,3-29,6)	47,3^{3,4} (18,2-74,0)

Примечание: ^{1, 2, 3, 4, 5} – здесь и далее цифрами обозначены статистически значимые отличия от соответствующей группы ($p < 0,05$); АФ – активная форма; ПФ – персистентная форма; БДО – базальная децидуальная оболочка; МВП – межворсинчатое пространство.

Удельные объемы децидуальных клеток в группах, контаминированных *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis*, не отличались от показателей в контрольной группе. Хламидийная инфекция, независимо от ее формы, вызывала значимое снижение удельных объемов децидуальных клеток по сравнению с таковыми в остальных группах исследования.

При подсчете численной плотности децидуальных клеток различного типа в 1 мм^2 среза БДО было выявлено следующее их распределение в строме (табл. 2).

Таблица 2

Распределение децидуальных клеток при контаминации половых путей разными видами урогенитальных микроорганизмов в 6-8 недель беременности ($Me (Q_1-Q_3)$), клеток/ мм^2 среза БДО

Количество клеток в 1 мм^2 среза БДО	Группа 1: U. ur. (n=18)	Группа 2: M. hom. (n=16)	Группа 3: Cl. tr. АФ (n=24)	Группа 4: Cl. tr. ПФ (n=12)	Группа 5: Контроль (n=66)
ДК 1-го типа	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
ДК 2-го типа	739,26 (0,00-1774,224)	1133,53 (246,42-2562,77)	492,84 (0,00-2464,20)	591,41 (0,00-1922,08)	344,99 (0,00-2759,90)
ДК 3-го типа	1577,09 (0,00-3351,31)	1379,95 (591,41-2464,20)	2119,21 (295,70-3104,89)	2217,78 (739,26-2858,47)	2020,64 (394,27-3055,61)

Примечание: ДК – децидуальные клетки.

Предецидуальные клетки (1-го типа) не отмечались ни в одной из исследуемых групп. Численная плотность промежуточных децидуальных клеток (2-го типа) значимо не отличалась между группами. Однако при уреоплазменной контаминации средние показатели вдвое, а при микоплазменной – втрое превышали значения контрольной группы. Зрелые децидуальные клетки (3-го типа) преобладали во всех исследованных случаях и не отличались между группами.

CD68-позитивные моноциты и макрофаги составляли подавляющее большинство клеточных элементов БДО (табл. 3). При подсчете численная плотность CD68+ клеток в 1 мм² среза децидуальной оболочки значимо не различалась между сравниваемыми группами.

Таблица 3

Численная плотность клеточного инфильтрата базальной децидуальной оболочки при контаминации половых путей разными видами урогенитальных микроорганизмов в 6-8 недель беременности (Me (Q₁-Q₃)), клеток/мм² среза БДО

Количество клеток в 1 мм ² среза БДО	Группа 1: U. ur. (n=18)	Группа 2: M. hom. (n=16)	Группа 3: Cl. tr. АФ (n=24)	Группа 4: Cl. tr. ПФ (n=12)	Группа 5: Контроль (n=66)
Плазмоциты	0,00 (0,00-197,14)	0,00 (0,00-49,28)	98,57 (0,00-197,14)	49,28 (0,00-197,14)	0,00 (0,00-98,57)
Лимфоциты CD56-CD16-CD3-	788,54 (689,98-887,11)	689,98 (640,69-1182,82)	591,41 (443,56-1084,25)	837,83 (591,41-1182,82)	689,98 (492,84-985,68)
Полиморфоядерные лейкоциты	0,00	0,00	0,00 (0,00-492,84)	0,00	0,00
CD68+ моноциты/ макрофаги	2612,05 (2267,06-3351,31)	2205,46 (1774,22-3351,31)	2323,51 (1978,52-2759,90)	2809,19 (2020,64-3449,88)	2217,78 (1774,22-2858,47)
TLR2+ моноциты/ макрофаги	1889,22^{2,5} (1478,52-2329,79)	915,27^{1,3,4} (657,12-1478,52)	2329,79^{2,5} (1807,08-2822,63)	2279,39^{2,5} (2136,79-2576,21)	1284,37^{1,3,4} (1026,75-1548,93)
НК-клетки CD16+CD56±CD3-	0,00^{3,4} (0,00-197,14)	0,00^{3,4} (0,00-24,64)	542,12^{1,2} (394,27-1232,10)	591,41^{1,2} (147,85-640,69)	271,06 (0,00-492,84)
Гранулярные лимфоциты CD56++CD16-CD3-	788,54 (492,84-1133,53)	1121,21 (542,12-1478,52)	492,84 (0,01-1379,95)	788,54 (98,57-1823,51)	788,54 (295,70-1379,95)

Несколько в меньшем количестве определялись гранулярные лимфоциты с фенотипом CD56++CD16-CD3-. Численная плотность клеток статистически значимо не различалась между исследованными группами. Между тем их содержание в группе с микоплазменной контаминацией в 1,5 раза превышало таковое в контрольной группе, а при активной форме хламидийной – было в 1,5 раза снижено.

НК-клетки с фенотипом CD16+CD56±CD3- в незначительном количестве определялись при уреа- и микоплазменной контаминации, при хламидиозе же их численная плотность вдвое превышала контрольные значения.

Иммунонегативные лимфоциты (CD56⁻, CD16⁻, CD3⁻) определялись в количествах, сравнимых с долей моноцитарно-макрофагальных клеток и гранулярных лимфоцитов, без значимых отличий между исследованными группами. Плазматические клетки в строме БДО встречались в незначительных количествах, преимущественно при хламидийной инфекции, но без статистически значимых различий между группами.

Полиморфноядерные лейкоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) в незначительном количестве наблюдались при активной форме хламидийного инфицирования половых путей, не отличаясь, однако, от показателей остальных сравниваемых групп.

Иммунопозитивное окрашивание с целью выявления на мембране клеток рецепторов к TLR2 позволило установить увеличение количества TLR2-позитивных моноцитов/макрофагов при уреаплазменном и хламидийном инфицировании по сравнению с показателями контрольной группы. Не выявлено статистически значимых отличий между значениями в группе контроля и при микоплазменной контаминации, при этом децидуальная оболочка при наличии в нижних отделах половых путей *Mycoplasma hominis* характеризовалась снижением экспрессии TLR2 в 1,4 раза по сравнению с таковой в контроле.

Корреляционный анализ позволил установить следующие статистически значимые взаимосвязи. При уреаплазменной контаминации умеренная прямая зависимость выявлена между численной плотностью гранулярных лимфоцитов (CD56⁺⁺CD16⁻CD3⁻) и NK-клетками (CD16⁺CD56[±]CD3⁻) ($r=0,54$; $p=0,021$), прямая выраженная связь между TLR2⁺ макрофагами и NK-клетками ($r=0,78$; $p=0,014$). При микоплазменной контаминации обратная, умеренно выраженная взаимосвязь наблюдалась между иммунонегативными лимфоцитами и NK-клетками ($r=-0,67$; $p=0,005$), прямая – между CD68⁺ клетками и иммунонегативными лимфоцитами ($r=0,67$; $p=0,005$). При активной форме инфицирования половых путей *Chlamydia trachomatis* отмечалась умеренная обратная корреляция между CD68⁺ и TLR2-позитивными клетками ($r=-0,51$; $p=0,013$). В присутствии персистентной формы *Chlamydia trachomatis* умеренно выраженные взаимосвязи были отмечены между CD68⁺ и TLR2⁺ клетками ($r=-0,58$; $p=0,046$), лимфоцитами и TLR2⁺ клетками ($r=-0,69$; $p=0,013$).

Таким образом, при уреаплазменной контаминации строма БДО характеризовалась более выраженной, чем в группе здоровых женщин, гестационной перестройкой сосудов и эндометриальных желез. В составе иммунокомпетентных клеток преобладали моноцитарно-макрофагальные компоненты, экспрессировавшие в цитоплазме CD68, а на поверхности TLR2. Отмечалось значимо низкое содержание NK-клеток по сравнению с таковым в группе неинфицированных женщин, что при нормальном содержании гранулярных лимфоцитов указывало на отсутствие способности к адекватному ответу на инфекцию. Последнее предположение подтверждается выявленными корреляционными связями между NK-клетками и количеством клеток, отреагировавших на постановку иммуногистохимической реакции с TLR2.

При микоплазменной контаминации наиболее выраженными изменениями в БДО также являлись признаки компенсаторного ускорения гестационной трансформации стромы, что подтверждалось увеличением количества CD56⁺⁺CD16-CD3⁻ гранулярных лимфоцитов, стимулирующих перестройку спиральных артерий и эндометриальных желез. Сниженная экспрессия TLR2 на моноцитах/макрофагах БДО при наличии в нижних отделах половых путей *M. hominis* сочеталась с резким снижением CD16⁺CD56[±]CD3⁻ клеток. Установленная обратная взаимосвязь между ними и иммунонегативными лимфоцитами демонстрировала, вероятно, отсутствие восприимчивости лимфоцитов с киллерной активностью к моноцитарно-макрофагальной цитокиновой стимуляции и, как в случае с уреоплазменной контаминацией, указывало на невозможность адекватного ответа на инфекцию.

Активная форма хламидийной инфекции половых путей приводила к отставанию гестационной трансформации децидуальных клеток, сосудов и эндометриальных желез БДО, что сочеталось с выраженным снижением численной плотности гранулярных лимфоцитов. При этом наблюдалось увеличение удельного объема стромального компонента, обусловленное значительным отеком. В составе иммунокомпетентных клеток БДО отмечалось увеличение TLR2⁺ моноцитов/макрофагов и NK-клеток.

При персистентной форме хламидийной инфекции также наблюдались признаки замедленной гестационной перестройки эндометриальной стромы, чуть менее выраженные отечные явления по сравнению с таковыми при активном процессе. Обращало на себя внимание незначительное увеличение удельного объема кровоизлияний, обусловленное, вероятно, тромбозом сосудов БДО. В составе иммунокомпетентных клеток преобладали CD16⁺CD56[±]CD3⁻ лимфоциты, резко увеличивалась численная плотность TLR2⁺ клеток.

Количественная оценка морфологических изменений в ворсинчатом хорионе в 6-8 недель беременности

Удельные объемы стромы ворсин хориона не отличались между группами с уреоплазменной и микоплазменной контаминацией, однако заметное увеличение показателей наблюдалось при их сравнении со значениями контрольной группы (табл. 4). При хламидийном инфицировании удельные объемы стромы ворсин были резко снижены по сравнению с показателями других групп. Удельные объемы фетальных сосудов в исследованных группах значимо не различались, однако отмечалось некоторое увеличение значений как при уреоплазменной, так и при микоплазменной контаминации по сравнению с таковыми в контроле. При хламидийном инфицировании удельные объемы ворсинковых сосудов значительно снижались по сравнению с показателями в контрольной группе.

**Удельные объемы различных структур ворсинчатого хориона
в 6-8 недель беременности ($Me (Q_1-Q_3)$), %**

Структуры ворсинчатого хориона	Группа 1: U. ur. (n=18)	Группа 2: M. hom. (n=16)	Группа 3: Cl. tr. АФ (n=24)	Группа 4: Cl. tr. ПФ (n=12)	Группа 5: Контроль (n=66)
Строма ворсин	43,4³ (0,0-57,6)	50,4^{3,4,5} (32,7-58,1)	15,3^{1,2,5} (13,0-18,4)	17,3² (15,3-18,8)	21,6^{2,3,4} (8,0-46,0)
Сосуды ворсин	0,2 (0,0-3,8)	0,8³ (0,0-4,1)	0,0^{2,5} (0,0-0,2)	0,2⁵ (0,0-0,3)	0,4³ (0,0-1,9)
Эпителий ворсин	17,2^{3,4} (0,0-22,3)	17,0³ (7,7-24,0)	10,0^{1,2} (9,0-12,0)	9,4¹ (7,7-12,2)	10,8 (7,9-18,3)
Фибриноид	0,0³	0,0³ (0,0-1,3)	0,2^{1,2,3,5} (0,0-3,9)	0,0³ (0,0-0,6)	0,0³ (0,0-0,6)
Межворсинчатое пространство	19,2 (5,8-30,0)	17,7 (4,4-24,1)	16,0 (13,0-19,7)	16,0 (5,6-18,5)	16,1 (10,2-27,4)

Удельные объемы трофобластического эпителия характеризовались увеличением при уреа- и микоплазменной контаминации по сравнению со значениями группы контроля. Активная и персистентная формы хламидиоза отличались снижением показателей по сравнению с таковыми при уреа- и микоплазменной контаминации, не отличаясь при этом от значений в контроле. Удельные объемы фибриноида в межворсинчатом пространстве оставались одинаковыми во всех исследованных группах, статистически значимо увеличиваясь лишь при активной форме хламидийного инфицирования. Удельные объемы межворсинчатого пространства не различались между сравниваемыми группами.

Таким образом, при уреа- и микоплазменной контаминации нижних отделов половых путей наблюдались сходные изменения ворсинчатого хориона, характеризующиеся пролиферацией трофобластического эпителия, стромы и сосудов ворсин. Гистологическое строение ворсинчатого хориона соответствовало сроку беременности. В условиях хламидийного инфицирования половых путей морфологические изменения проявлялись низким удельным объемом стромы, сосудов и эпителия ворсин по сравнению с показателями в контрольной группе, что указывало на явное отставание в развитии ворсинчатого дерева от гестационного срока.

Математическое моделирование соответствия морфологического строения БДО и ворсинчатого хориона гестационному сроку

Для описания процессов, развивающихся при разных видах урогенитального инфицирования, были разработаны математические модели, позволяющие оценивать зависимость гестационных изменений в БДО и ворсинчатом хорионе в 6-8 нед. беременности от динамики изменений численной плотности следующих иммунокомпетентных клеток: лимфоциты с фенотипами CD56++CD16-CD3- (гранулярные лимфоциты) и CD16+CD56±CD3- (NK-клетки), CD68- и TLR2-позитивные

моноциты/макрофаги БДО. Ниже приведены математические модели для оценки морфологических изменений в маточно-плацентарной области при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей беременных.

Математическая модель № 1

При построении математической модели № 1 использовался метод обобщенных линейных моделей, являющийся модификацией однофакторного дисперсионного анализа и объединяющий в себе многофакторный дисперсионный и ковариационный анализы. На первом этапе определялась сила вклада каждой иммунокомпетентной клетки в процесс гестационной перестройки спиральных сосудов. Было установлено, что при уреаплазменной контаминации наибольший вклад в процесс вносили TLR2+ моноциты/макрофаги (сила вклада =0,420), CD16+CD56±CD3– лимфоциты (сила вклада =0,218) и CD68+ макрофаги базальной децидуальной оболочки (сила вклада =0,110).

На основании полученных данных при поиске множественной линейной регрессионной зависимости были установлены весовые коэффициенты для каждой иммунокомпетентной клетки, определяющие уровень их влияния на удельный объем спиралевидных артерий. Так, для TLR2+ моноцитов/макрофагов коэффициент составил 0,002, для CD16+CD56±CD3– лимфоцитов и CD68+ моноцитов/макрофагов – по 0,001. Весовой коэффициент показателя «удельный объем спиралевидных артерий» составил 4,938.

Таким образом, удельный объем сосудов БДО при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей определяли с помощью следующего выражения:

$$СД_1 = А_{сд1} - 0,002 * А_2 + 0,001 * А_3 - 0,001 * А_4, \quad (1.1)$$

где $СД_1$ – значение удельного объема (%) сосудов БДО;
 $А_{сд1}$ – весовой коэффициент показателя «удельный объем спиралевидных артерий»;
 $А_2$ – значение численной плотности CD16+CD56±CD3– лимфоцитов в 1 мм² среза БДО;
 $А_3$ – значение численной плотности CD68+ клеток в 1 мм² среза БДО;
 $А_4$ – значение численной плотности TLR2-позитивных клеток в 1 мм² среза БДО.

Пример 1: при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей можно установить значение удельного объема спиральных артерий в БДО, подставляя в выражение 1.1 значения численной плотности CD16+CD56±CD3– лимфоцитов, CD68- и TLR2-позитивных клеток в 1 мм² среза БДО:

$$СД_1 = 4,938 - 0,002 * 0,00 + 0,001 * 2612,05 - 0,001 * 1889,22$$

$$СД_1 = 5,66$$

Полученное значение соответствовало таковому при морфометрическом подсчете, при котором удельный объем сосудов БДО составил 5,60 % (0,01-8,08 %).

Математическая модель № 2

При построении математической модели № 2 также был использован метод обобщенных линейных моделей, аналогичный таковому в модели № 1.

Согласно полученным данным, при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей максимальной силой вклада в процесс гестационной трансформации эндометриальных желез характеризовались TLR2+ и CD68+ моноциты/макрофаги БДО, составив, соответственно 0,216 и 0,036. Коэффициенты чувствительности указанных клеток составили 0,0013 для TLR2-позитивных клеток и 0,0002 – для CD68+. Весовой коэффициент показателя «удельный объем эндометриальных желез» –3,438.

Таким образом, определение удельного объема эндометриальных желез в составе БДО при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей возможно при помощи следующего уравнения:

$$ЖД_1 = A_{ЖД_1} - 0,0002 * A_3 - 0,0013 * A_4, \quad (2.1)$$

где $ЖД_1$ – значение удельного объема (%) желез БДО;

$A_{ЖД_1}$ – весовой коэффициент показателя «удельный объем эндометриальных желез»;

A_3 – значение численной плотности CD68+ клеток в 1 мм² среза БДО;

A_4 – значение численной плотности TLR2-позитивных клеток в 1 мм² среза БДО.

Пример 2: при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей можно вычислить показатель удельного объема эндометриальных желез в БДО, подставляя полученные значения в формулу 2.1:

$$ЖД_1 = 3,438 - 0,0002 * 2612,05 - 0,0013 * 1889,22$$

$$ЖД_1 = 0,46$$

Полученный показатель соответствовал среднему значению, вычисленному морфометрически, который составлял 0,40 % (0,01-2,35 %).

Математическая модель № 3

При построении математической модели № 3 использовали метод полиномиальной регрессии, который позволил установить, что при уреаплазменной контаминации в 6-8 нед. гестации наиболее значимым для показателя удельного объема сосудов ворсин хориона является численная плотность TLR2+ моноцитов/макрофагов в БДО. На основании полученных морфометрических данных были определены коэффициенты регрессии TLR2+ клеток, а также весовой коэффициент показателя «удельный объем сосудов ворсинчатого хориона», составивший 5,80. Полученные данные можно описать следующим выражением:

$$СВ_1 = A_{СВ_1} - 0,0058 * A_4 + 1,5 * 10^{-6} * A_4^2, \quad (3.1)$$

где $СВ_1$ – значение удельного объема (%) сосудов ворсинчатого хориона;

A_{CB1} – весовой коэффициент показателя «удельный объем сосудов ворсинчатого хориона»;

$A4$ – значение численной плотности TLR2-позитивных клеток в 1 мм^2 среза БДО.

Пример 3: при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей, подставляя в выражение 3.1 значения численной плотности TLR2-позитивных клеток в 1 мм^2 среза БДО, получаем значение удельного объема сосудов ворсинчатого хориона:

$$CB_1 = 5,80 - 0,0058 * 1889,22 + 1,5 * 10^{-6} * 1889,22^2$$

$$CB_1 = 0,20$$

При морфометрическом подсчете удельный объем фетальных сосудов составил 0,19 % (0,01-3,85 %), что совпадало с цифрой, полученной с использованием математического моделирования.

Математическая модель № 4

При многомерной оценке было установлено, что наиболее адекватным параметром, вносящим максимальный вклад в процесс пролиферации эпителия ворсин хориона в 6-8 нед. гестации при разных видах урогенитального инфицирования, являлся показатель численной плотности TLR2-позитивных моноцитов/макрофагов БДО, поэтому при построении математической модели № 4 использовался метод полиномиальной регрессии. Определяли коэффициенты регрессии TLR2-позитивных клеток, а также весовой коэффициент показателя «удельный объем эпителия ворсинчатого хориона», составивший при уреаплазменной контаминации 37,834. Полученные данные описывали при помощи следующего выражения:

$$ЭВ_1 = A_{ЭВ1} - 0,024 * A4 + 6,9 * 10^{-6} * A4^2, \quad (4.1)$$

где $ЭВ_1$ – значение удельного объема (%) эпителия ворсинчатого хориона;

$A_{ЭВ1}$ – весовой коэффициент показателя «удельный объем эпителия ворсинчатого хориона»;

$A4$ – значение численной плотности TLR2-позитивных клеток в 1 мм^2 среза БДО.

Пример 4: при уреаплазменной контаминации нижних отделов половых путей, подставляя в выражение 4.1 значения численной плотности TLR2+ моноцитов/макрофагов, определенной при количественном подсчете, получаем следующий результат:

$$ЭВ_1 = 37,834 - 0,024 * 1889,22 + 6,9 * 10^{-6} * 1889,22^2$$

$$ЭВ_1 = 17,12$$

Установленное значение соответствовало среднему показателю удельного объема при морфометрическом подсчете, которое составило 17,17 % (0,01-22,31 %).

Таким образом, разработанные математические модели позволяют с меньшими временными затратами производить морфологическую оценку степени гестационных изменений в маточно-плацентарной области в ранние сроки беременности. Кроме того, представленные методы статистического

анализа дают возможность на основании подсчета численной плотности иммунокомпетентных клеток в 1 мм² среза БДО определять как степень гестационной трансформации непосредственно БДО (модели №№ 1-2), так и оценивать соответствие строения ворсинчатого хориона сроку гестации (модели №№ 3-4), а, следовательно, прогнозировать развитие плацентарной недостаточности на самом раннем этапе развития беременности. Математические модели, аналогичные представленным выше, были разработаны для всех групп исследования, включая контрольную группу.

Оценка новорожденных, родившихся у женщин с разными видами урогенитального инфицирования

В исследованных группах доношенной беременности, соответственно критериям включения, произошли срочные роды через естественные родовые пути в 100 % случаев. Родоразрешение живыми плодами отмечалось у 100 % рожениц.

Анализ массы тела новорожденных при разных видах урогенитального инфицирования не выявил статистически значимых различий между группами. Так, при уреоплазменном инфицировании половых путей беременных она составила 3425 г (3146-3745 г), при микоплазменном – 3450 г (3400-3615 г), при активной форме хламидийной инфекции – 3480 г (3220-3700 г), при персистентной – 3430 г (3198-3575 г). Масса новорожденных детей у женщин без урогенитального инфицирования составила в среднем 3350 г (3050-3814 г).

При оценке новорожденных по шкале Апгар на 1-5 минуте жизни во всех исследованных группах преобладали высокие показатели. Так, на 8-9 и 9-10 баллов были оценены 33 (94,3 %) новорожденных от матерей, инфицированных уреоплазмами, 24 (100 %) – от рожениц с микоплазменной контаминацией, 17 (100 %) младенцев – от женщин с активной и 15 (93,8 %) – с персистентной формой хламидийной инфекции половых путей. В группе неинфицированных рожениц 60 (95,2 %) новорожденных были оценены на 8-9 и 9-10 баллов по шкале Апгар.

Низкая оценка при рождении, соответствующая 6-7 баллам, отмечалась в группах с уреоплазменной контаминацией – у 2 (5,7 %), с персистентной формой хламидийного инфицирования половых путей рожениц – у 1 (6,2 %), в группе неинфицированных женщин – у 3 (4,8 %) новорожденных младенцев.

Макроскопическая характеристика плаценты

После родов все плаценты подвергались взвешиванию, после чего определялся плацентарно-плодовый коэффициент (табл. 5).

Как видно из таблицы, масса плацент в группах с инфицированием не отличалась от таковой в контроле. Однако среди групп с урогенитальным инфицированием наблюдались следующие отличия: максимальный вес плацент был отмечен при микоплазменной контаминации половых путей, значительно превышая показатели в группах рожениц с активной и персистентной формой хламидийной инфекции.

Масса плацент и плацентарно-плодовый коэффициент ($Me (Q_1-Q_2)$)

Показатель	Группа 1: U. ur. (n=35)	Группа 2: M. hom. (n=24)	Группа 3: Cl. tr. АФ (n=17)	Группа 4: Cl. tr. ПФ (n=16)	Группа 5: Контроль (n=63)
Масса плацент, г	584 (507-692)	626^{3,4} (560-740)	556² (515-592)	554² (533-576)	566 (502-650)
Плацентарно-плодовый коэффициент	0,18³ (0,16-0,20)	0,19^{3,4} (0,17-0,21)	0,16^{1,2} (0,15-0,17)	0,16² (0,15-0,18)	0,17 (0,15-0,18)

Плацентарно-плодовый коэффициент также был максимальным при микоплазменной контаминации половых путей, значимо отличаясь от такового при активной и персистентной форме хламидийного инфицирования. При уреоплазменной контаминации показатель плацентарно-плодового коэффициента статистически значимо превышал лишь значения в группе с активной формой хламидийной инфекции. При этом достоверных отличий показателей между группами с наличием урогенитальной инфекции и контрольной выявлено не было.

Таким образом, несмотря на присутствие в половых путях рожениц представителей условно-патогенной и патогенной микрофлоры, новорожденные характеризовались нормальной массой тела, хорошими показателями по шкале Апгар. Вес плаценты и плацентарно-плодовый коэффициент также находились в пределах нормальных значений и не отличались между группами исследования.

Морфологические изменения плаценты в 38-40 недель беременности в условиях контаминации нижних отделов половых путей уреа- и микоплазмами

При уреоплазменной и микоплазменной контаминации нижних отделов половых путей морфологическая картина, наблюдаемая в плацентах, характеризовалась сходными изменениями. Базальная пластина была представлена децидуальными клетками, лежащими в виде отдельных островков, разделенных фибриноидом. Хориальная пластина содержала толстые пучки коллагеновых волокон, в толще которых располагались питающие сосуды. В межворсинчатом пространстве встречались отдельно лежащие от ворсин мелкие скопления трофобластических клеток, отложения интервиллезного фибриноида, крупные депозиты кальция. Последние наиболее часто наблюдались в краевых зонах плацент, что, вероятно, было связано с гемодинамическими изменениями [Макаров О.В. и др., 2010; Власюк М.Е. и др., 2010]. Кроме того, в межворсинчатом пространстве встречались участки «склеенных» ворсин, лишенных сосудов и трофобластического покрова, окруженных фибриноидом. Компенсаторные процессы были хорошо выражены в центральных и краевых зонах плацентарного диска, где отмечалось значительное расширение просвета и

гиперемия синусоидных капилляров, характерное для компенсаторного ангиоматоза. Синцитиотрофобласт местами формировал синцитиальные выросты на поверхности ворсин, дефекты синцития замещались материнским фибриноидом. В краевой зоне плацентарного диска довольно часто регистрировались интервиллезные отложения фибриноида, которые являются продуктом секреторной деятельности цитотрофобласта и встречаются при неосложненной беременности [Милованов А.П., 1999]. В межворсинчатом пространстве наблюдались признаки нарушения микроциркуляции, что документировалось тромбозом межворсинчатого пространства, выраженного во всех трех плацентарных зонах.

Таким образом, при бессимптомной уреаплазменной и микоплазменной контаминации нижних отделов половых путей гистологическое строение плацент соответствовало гестационному сроку. Наряду с признаками старения плаценты (отложения фибриноида, кальцинатов) отмечались развитые компенсаторные реакции, проявляющиеся формированием синцитиальных почек и синцитио-капиллярных мембран, а также ангиоматозом терминальных ворсин. Вместе с тем отмечались признаки нарушения маточно-плацентарного кровотока в виде тромбоза межворсинчатого пространства, встречавшегося во всех зонах плацентарного диска.

Морфологические изменения плаценты в 38-40 недель беременности в условиях хламидийного инфицирования половых путей

В плацентах женщин с активной и персистентной формой хламидийной инфекции половых путей были выявлены изменения, имеющие сходную морфологическую картину. В базальной пластинке как при активной, так и при персистентной форме отмечались очаговые кровоизлияния, явления отека. При персистентной форме хламидиоза в краевых зонах плацент отмечалась очаговая или диффузная, умеренно выраженная лимфоидная инфильтрация базальной пластинки. При активной форме лимфоидные инфильтраты нередко содержали полиморфноядерные лейкоциты, распространялись как на базальную пластину, так и в межворсинчатое пространство.

В межворсинчатом пространстве как при активной, так и при персистентной форме хламидийного инфицирования выявлялись очаги тромбоза, в толще которых обнаруживались дистрофически измененные и некротизированные ворсинки. Терминальные ворсины содержали в строме поперечные сечения полнокровных синусоидных капилляров, расположенных как в центре, так и непосредственно под эпителием, где они формировали синцитио-капиллярные мембраны. Эпителиальный покров ворсин чаще всего был представлен одним слоем синцитиотрофобласта, нередко с обширными дефектами, закрытыми фибриноидом. Встречались отдельные ворсины полностью «замурованные в фибриноид», нередко с отложением депозитов кальция. Кальцификаты наблюдались также в составе межворсинчатого фибриноида, в септах, в базальной пластинке. На

поверхности большинства ворсин, преимущественно терминальных, были распространены синцитиальные почки, в строме ворсин наблюдался ангиоматоз.

При всех видах урогенитального хламидиоза в единичных плацентах отмечались признаки нарушения созревания ворсинчатого хориона. Так, при активной форме хламидийной инфекции встречались отдельные незрелые промежуточные ворсины с рыхлой мезенхимальной стромой, содержащей свободные макрофаги. При персистентной форме, наряду с мезенхимальными ворсинами, попадались хаотичные склерозированные ворсины. Кроме того, персистентная форма хламидиоза характеризовалась патологическими изменениями отдельных стволовых и зрелых промежуточных ворсин, содержащих расширенные полнокровные сосуды с истонченными стенками, напоминавшие кистозные полости. Строма между сосудов была представлена тонкими прослойками соединительной ткани, местами разрушенными.

Таким образом, при активной и персистентной форме хламидийной инфекции половых путей плаценты содержали все основные структурные компоненты, соответствующие зрелой доношенной плаценте. Последы изученной группы характеризовались развитыми компенсаторными реакциями, реализованными за счет ангиоматоза терминальных ворсин и формирования синцитиальных почек. Вместе с тем отмечались патологические изменения, включавшие отек, очаговые кровоизлияния и воспалительную клеточную инфильтрацию базальной пластины, тромбоз межворсинчатого пространства и некротические изменения отдельных ворсин, признаки незрелости ворсинчатого дерева.

Количественная оценка морфологических изменений в плацентах в 38-40 недель беременности при разных видах урогенитального инфицирования

При подсчете удельных объемов базальной и хориальной пластин статистически значимых различий в трех исследованных плацентарных зонах между показателями сравниваемых групп не наблюдалось. Некоторые колебания показателей внутри каждой группы были связаны с отеками явлениями и очаговыми кровоизлияниями в базальную пластину, возникающими в процессе нормальной родовой деятельности и отделения последа.

Подсчет удельных объемов участков базальной пластинки, содержащих клеточные инфильтраты, показал следующее: инфильтрация базальной пластинки была неравномерной, выявлялась не во всех группах, не имела четкой зависимости от плацентарной зоны. Подобные изменения сходны с соответствующими изменениями в плодных оболочках и возникают в процессе самостоятельного отторжения плаценты в исходе своевременных родов [Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г., 2002].

Удельные объемы межворсинчатого пространства статистически значимо не различались в центральных зонах плацент исследованных групп.

В парацентральных зонах показатели были максимальными при уреоплазменной контаминации (37,55 %), достоверно отличаясь от таковых при микоплазменной контаминации (23,45 %; $p=0,031$) и активной форме хламидиоза (25,66 %; $p=0,014$). В краевой зоне удельные объемы межворсинчатого пространства при наличии уреоплазменной контаминации также статистически значимо превышали показатели других групп исследования.

Подсчет удельных объемов материнского фибриноида не выявил статистически значимых отличий в центральных и краевых зонах плацент изученных групп. В парацентральных зонах при микоплазменной контаминации и активной форме хламидийной отмечалось увеличение значений, соответственно, в 3 и 2 раза по сравнению с таковыми в контроле.

Отложения плодового фибриноида в стромах ворсин были зарегистрированы во всех группах исследования. Минимальные показатели отмечались при уреоплазменной контаминации и лишь в краевой зоне плаценты (2,50 %). Микоплазменная контаминация также характеризовалась преимущественно краевым отложением плодового фибриноида, удельные объемы которого более чем в 5 раз превышали таковые в группе с уреоплазмозом. Низкие значения были отмечены и при персистентной форме хламидийной инфекции (3,75 %), однако в данной группе распределение показателя по зонам плацентарного диска было более равномерным. Накопление фетального фибриноида в стромах ворсин, или фибриноидная дегенерация основного вещества соединительной ткани ворсин, по мнению некоторых авторов, связано с интравиллезным накоплением иммунных комплексов в результате повреждения синцитиотрофобластического барьера [Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф., 2002].

Удельные объемы ворсин, «замурованных» в фибриноид, характеризовались значительным увеличением в краевой зоне плаценты при уреоплазменной контаминации, равномерным распределением показателей во всех зонах плацентарного диска при микоплазменной контаминации, увеличением показателей в краевой и парацентральной зоне при активной форме хламидиоза. При персистентной форме хламидиоза данный признак выявлен не был.

Удельные объемы кальцинатов во всех исследованных группах были максимальными в краевых зонах плацент (от 1,44 % при уреоплазменной контаминации до 23,15 % – в группе контроля; $p<0,001$), за исключением активной формы хламидийного инфицирования, при котором депозиты кальция откладывались преимущественно в центральной и парацентральной зоне.

Удельные объемы тромботических изменений межворсинчатого пространства были значительными при микоплазменной и активной форме хламидийной контаминации (соответственно, 28,66 % и 16,90 %; $p<0,001$).

Удельные объемы стромы ворсин во всех группах уменьшались от центра к периферии плацентарного диска, что связано, вероятно, с преобладанием опорных ворсин в центральных зонах. Статистически значимое увеличение

показателей по сравнению с группой контроля наблюдалось лишь в центральных зонах при наличии уреаплазменной контаминации (25,65 %; $p < 0,001$) и персистентной формы хламидиоза (16,91 %; $p < 0,001$).

Удельные объемы сосудистого русла ворсин изменялись незначительно между группами сравнения в центральных зонах и не отличались в парацентральных. В краевых зонах при микоплазменной контаминации и активной форме хламидиоза наблюдалось увеличение показателей по сравнению с контрольными, соответственно, в 1,6 и 1,7 раза, что объяснялось выраженным ангиоматозом терминальных ворсин в указанных группах.

Удельные объемы синцитиотрофобласта при сравнении со значениями группы контроля статистически значимо увеличивались при уреаплазменной контаминации (16,27 %; $p < 0,001$), снижались – при активной форме хламидиоза (6,26 %; $p < 0,001$).

Удельные объемы синцитиальных выростов на поверхности ворсин более чем вдвое по сравнению с группой контроля увеличивались при персистентной форме хламидиоза. При анализе полученных значений обращали на себя внимание более высокие цифры удельных объемов в парацентральной и краевой зонах плацент, в так называемых «зонах резерва», где наиболее активно протекают метаболические процессы [Барков Л.А., Алещенко И.Е., 1990; Балашова М.О. и др., 2000].

Удельные объемы синцитио-капиллярных мембран значимо не различались между группами, за исключением парацентральных зон в плацентах, полученных при микоплазменной контаминации (2,53 %; $p < 0,001$) и активной форме хламидиоза (1,88 %; $p < 0,001$).

Установлена обратная корреляционная зависимость между удельными объемами межворсинчатого пространства и материнского фибриноида при уреаплазменной контаминации ($r = -0,74$; $p = 0,024$), активной и персистентной форме хламидиоза (соответственно, $r = -0,54$; $p = 0,047$ и $r = -0,93$; $p < 0,001$). Выявленные корреляции свидетельствовали о снижении перфузии материнской крови в межворсинчатом пространстве, что сопровождалось избыточным выпадением фибриноида. Увеличению доли материнского фибриноида способствовало также появление дефектов в синцитии ворсин, что подтверждалось обратной взаимозависимостью между показателями удельных объемов материнского фибриноида и эпителия ворсин при микоплазменной контаминации ($r = -0,87$; $p = 0,025$) и активной форме хламидиоза ($r = -0,81$; $p = 0,002$). Увеличение интравиллезного фибриноида приводило к гибели синцитиотрофобласта на поверхности ворсин, о чем свидетельствовала обратная взаимосвязь между удельными объемами эпителия ворсин и фетальным фибриноидом, установленная при активной и персистентной формах хламидиоза (соответственно, $r = -0,82$; $p = 0,045$ и $r = -0,77$; $p = 0,041$). Выраженные гемодинамические нарушения вызывали местную гипоксию в плацентах и способствовали компенсаторному увеличению синцитио-капиллярных мембран, на что указывала обратная зависимость между показателями удельных объемов межворсинчатого пространства и синцитио-капиллярных мембран при микоплазменной

контаминации ($r=-0,72$; $p=0,029$) и активной форме хламидийного инфицирования ($r=-0,62$; $p=0,024$).

Таким образом, количественный анализ удельных объемов различных структур плаценты позволил установить, что плаценты всех изученных групп соответствовали сроку беременности, но различались по характеру инволютивно-дистрофических и патологических изменений, а также степени выраженности компенсаторно-приспособительных процессов. Выявленные морфологические изменения в целом укладываются в рамки компенсированной и/или субкомпенсированной плацентарной недостаточности [Лукьянова Е.В. и др., 2011].

Механизмы клеточно-тканевых взаимоотношений в маточно-плацентарной области при разных видах урогенитального инфицирования

Полученные в настоящем исследовании результаты позволяют представить взаимодействия между иммунокомпетентными клетками БДО, взаимодействующими с условно-патогенными и патогенными микроорганизмами и/или продуктами их жизнедеятельности, и структурами, составляющими маточно-плацентарную область. Схематично данные взаимодействия можно представить следующим образом (рис. 1).

В 6-8 нед. беременности присутствие *Ureaplasma urealyticum* в половых путях беременных распознается Толл-подобными рецепторами (TLR2) на поверхности макрофагов (CD68+), что вызывает их активацию и документируется увеличением численной плотности TLR2-позитивных клеток. Далее сигнал передается внутрь клетки, что приводит к последовательной активации дополнительных молекул с запуском синтеза и секреции провоспалительных цитокинов [Толстопятова М.А. и др., 2009; Самарканова Д.М. и др., 2011; Takeda K., Akira S., 2005]. Выделяемые при этом цитокины должны, среди прочих эффектов, вызывать пролиферацию NK-клеток (CD16+CD56±CD3-) и развитие воспалительной реакции. Однако этого не происходит, при этом экспрессия TLR2 на поверхности макрофагов поддерживается на повышенном уровне. Вероятно, отсутствие реакции со стороны NK-клеток вызывает избыточную стимуляцию и активацию еще большего количества рецепторов на поверхности макрофагов, что, в свою очередь, инициирует увеличение численной плотности TLR2-позитивных макрофагов.

При контаминации нижних отделов половых путей *Mycoplasma hominis* увеличения TLR2-экспрессирующих макрофагов не происходит. Это может быть связано с непосредственным повреждением клеточной мембраны и поверхностного рецепторного аппарата макрофагов микоплазмами, что не противоречит литературным данным [Doh K. et al., 2004].

В настоящем исследовании было установлено резкое снижение численной плотности NK-клеток или их полное отсутствие в БДО беременных с уреаплазменной и микоплазменной контаминацией.

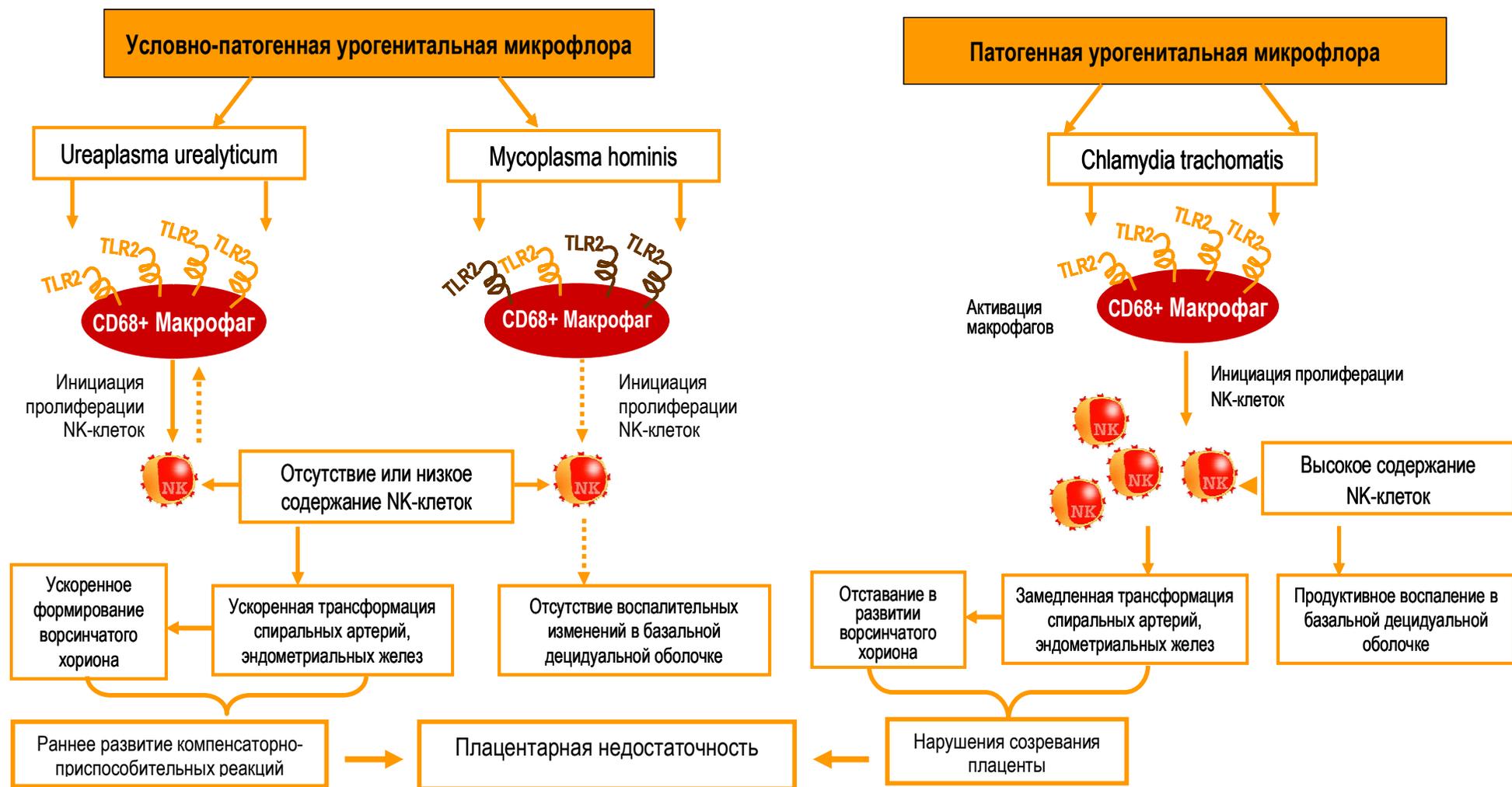


Рис. 1. Схема клеточно-тканевых взаимодействий в маточно-плацентарной области в 6-8 нед. гестации при урогенитальном инфицировании:

 – активированные Толл-подобные рецепторы (TLR2+) на мембране CD68-положительных макрофагов;  – неактивные Толл-подобные рецепторы (TLR2-) на мембране CD68-положительных макрофагов;  – NK-клетки (CD16+CD56±CD3-);  – направление влияния факторов друг на друга;  – отсутствие влияния фактора.

Это свидетельствует об изначальном иммунодефицитном состоянии мукозального иммунитета у таких пациенток и объясняет отсутствие полноценной воспалительной реакции в ответ на наличие условно-патогенной микрофлоры в высоком микробном числе (более 10^4 КОЕ). Кроме того, нивелируется сдерживающее влияние НК-клеток на инвазию цитотрофобласта, что объясняет ускоренную гестационную перестройку децидуальной стромы, сосудов и желез. Высказанное предположение было подтверждено при математическом моделировании, которое выявило максимальную силу вклада TLR2-позитивных макрофагов и CD16+CD56±CD3- лимфоцитов на гестационную перестройку сосудов и желез БДО.

Ускоренная (по сравнению с группой контроля) трансформация сосудов и желез децидуальной стромы, как следствие, приводила к ускоренному формированию ворсинчатого хориона. Данный процесс расценивался нами как ранняя компенсаторно-приспособительная реакция, являющаяся предпосылкой для развития первичной плацентарной недостаточности, которая и наблюдалась в зрелых плацентах, полученных от рожениц с уреаплазменной и микоплазменной контаминацией нижних отделов половых путей. При бессимптомной хламидийной инфекции половых путей в активации Толл-подобных рецепторов макрофагов принимает участие главный белок наружной мембраны хламидий при активной форме и белок теплового шока (Hsp60) – при персистентной [Zanin-Zhorigov A. et al., 2003]. Это вызывает увеличение численной плотности TLR2-позитивных макрофагов с последующим синтезом и секрецией провоспалительных цитокинов, стимулирующих активацию и пролиферацию НК-клеток. Увеличение численности последних не только способствовало развитию ограниченного продуктивного воспаления, но также сдерживало инвазию цитотрофобласта и приводило к замедлению гестационной перестройки стромы базальной децидуальной оболочки. Нарушение трансформации спиральных сосудов и желез в БДО сопровождалось замедленным развитием ворсинчатого хориона, что в последующем приводило к хронической плацентарной недостаточности с признаками диссоциированного развития отдельных котиледонов плаценты.

ВЫВОДЫ

1. Контаминация нижних отделов половых путей беременных женщин *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в 6-8 недель гестации инициирует ускоренную гестационную трансформацию стромы базальной децидуальной оболочки и созревание ворсинчатого хориона. Хламидийное инфицирование половых путей беременных женщин замедляет гестационную перестройку стромы базальной децидуальной оболочки и формирование ворсинчатого хориона.

2. Контаминация нижних отделов половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в 6-8 недель гестации ассоциирована со снижением численной плотности TLR2-позитивных макрофагов, отсутствием

НК-клеток (CD16+CD56±CD3-) в базальной децидуальной оболочке, что свидетельствует о низком уровне локальной иммунореактивности у беременных указанных групп. Численная плотность гранулярных лимфоцитов (CD56++CD16-CD3-) не изменяется при уреоплазменной контаминации и незначительно увеличивается при микоплазменной, что не влияет на сохранение и развитие беременности.

3. Хламидийное инфицирование половых путей беременных женщин в 6-8 недель гестации приводит к увеличению численной плотности плазмоцитов, НК-клеток (CD16+CD56±CD3-) и TLR2-экспрессирующих макрофагов в базальной децидуальной оболочке, что указывает на активацию иммунокомпетентных клеток и реализацию воспалительного процесса. Численная плотность гранулярных лимфоцитов (CD56++CD16-CD3-) не изменяется при персистентной форме и имеет тенденцию к снижению при активной форме хламидийного инфицирования, что в дальнейшем может инициировать прерывание беременности.

4. Ускоренная гестационная перестройка стромы базальной децидуальной оболочки при контаминации нижних отделов половых путей беременных женщин *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* в 6-8 недель гестации вызвана резким снижением популяции НК-клеток (CD16+CD56±CD3-), на что указывает выявленная обратная корреляция между удельным объемом стромы базальной децидуальной оболочки и численной плотностью НК-клеток (CD16+CD56±CD3-) в ней ($r=-0,45$; $p \leq 0,001$). При активной и персистентной формах хламидийной инфекции половых путей установлены обратные зависимости: увеличение популяции НК-клеток (CD16+CD56±CD3-) способствует замедлению гестационной модификации спиралевидных артерий ($r=-0,20$; $p=0,017$) и стромы базальной децидуальной оболочки ($r=-0,45$; $p \leq 0,001$).

5. Контаминация половых путей условно-патогенной и патогенной урогенитальной микрофлорой в 38-40 недель беременности характеризуется признаками компенсированной и/или субкомпенсированной плацентарной недостаточности: контаминация *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* сочетается с увеличением удельных объемов синцитиального эпителия и гиперплазией капилляров терминальных ворсин; инфицирование половых путей *Chlamydia trachomatis*, наряду с признаками незрелости ворсинчатого дерева, сочетается с повышением удельных объемов синцитиотрофобласта и синцитиальных выростов, формированием синцитио-капиллярных мембран и ангиоматозом терминальных ворсин.

6. Механизмы, способствующие сохранению беременности и препятствующие реализации воспалительного процесса в базальной децидуальной оболочке, отличаются в зависимости от вида урогенитального инфицирования. Наличие в нижних отделах половых путей *Ureaplasma urealyticum* и *Mycoplasma hominis* обусловлено иммуносупрессивным состоянием локального иммунитета базальной децидуальной оболочки, что препятствует реализации воспалительного процесса. Хламидийная инфекция половых путей в активной и персистентной форме за счет состоятельности

клеток врожденного иммунитета и их рецепторного аппарата сопровождается ограниченными воспалительными изменениями базальной децидуальной оболочки.

7. Предложенные математические модели могут быть использованы для оценки степени зрелости базальной децидуальной оболочки и ворсинчатого хориона при изученных видах урогенитального инфицирования, а также дают возможность прогнозировать развитие первичной плацентарной недостаточности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Патология плаценты при различных формах урогенитального хламидиоза у беременных [Текст] / С.Ю. Юрьев, С.С. Антонова, Н.Н. Гончарова, И.Д. Евтушенко, Л.М. Огородова, Л.Р. Мустафина // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.** – 2005. – Т.4, № 3. – С. 43-47.
2. Клинико-морфологические особенности первого триместра беременности на фоне хронического урогенитального хламидиоза [Текст] / С.Ю. Юрьев, С.А. Кротов, С.С. Антонова, Н.Н. Гончарова, Л.Р. Мустафина // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2006. – № 1. – С. 81-86.
3. Мустафина Л.Р. Физиологическое старение плаценты на фоне уреоплазменного инфицирования [Текст] / Л.Р. Мустафина, М.В. Шведова // «Науки о человеке»: материалы X конгресса молодых ученых и специалистов, г. Томск, 28-29 мая 2009 года / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ. – 2009. – С. 95-96.
4. Морфологическая оценка влияния урогенитальной инфекции на структурную организацию маточно-плацентарной области в первом триместре беременности [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Сибирский медицинский журнал.** – 2010. – Т. 25, № 4. – Вып. 2. – С. 88-91.
5. Морфологическая характеристика decidua basalis при микоплазменной инфекции в I триместре беременности [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.Ю. Юрьев // **Морфология.** – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 206.
6. Мустафина Л.Р. Компенсаторно-приспособительные процессы в плаценте при уреоплазменной инфекции [Текст] / Л.Р. Мустафина // **Морфология.** – 2010. – Т. 137, № 4. – С. 137.
7. Инфекционно-воспалительные реакции в децидуальной оболочке в первом триместре беременности [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина, С.Ю. Юрьев, С.В. Логвинов // **Мать и Дитя в Кузбассе.** – 2011. – Спецвыпуск № 1. – С. 126-130.
8. Мустафина Л.Р. Клеточный состав инфильтрата в decidua basalis в ранние сроки беременности при контаминации урогенитальными микоплазмами [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Морфология.** – 2011. – Т. 139, № 3. – С. 72-76.
9. Мустафина Л.Р. Изменение количества больших гранулярных лимфоцитов в децидуальной оболочке при микоплазменном инфицировании [Текст] /

Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // **Вестник РГМУ**: материалы V Международной конференции молодых ученых «Современные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии». Специальный выпуск № 2. – 2011. – С. 160.

10. Клинико-морфологические особенности беременности в первом триместре на фоне урогенитальной инфекции [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // **Вестник РГМУ**: материалы V Международной конференции молодых ученых «Современные вопросы акушерства, гинекологии и перинатологии». Специальный выпуск № 2. – 2011. – С. 168.

11. Эхоморфологические параллели при микоплазменной инфекции в первом триместре беременности [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Материалы XII открытой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке», г. Киров, 30 марта – 1 апреля 2011 года / Под ред. И.В. Шешунова, С.А. Дворянского, С.В. Игнатьева. – Киров: Кировская государственная медицинская академия, 2011. – С. 10.

12. Мустафина Л.Р. Степень зрелости децидуальных клеток в ранние сроки беременности при наличии уреа- и микоплазменной инфекции [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Материалы XII открытой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежь и медицинская наука в XXI веке», г. Киров, 30 марта – 1 апреля 2011 года / Под ред. И.В. Шешунова, С.А. Дворянского, С.В. Игнатьева. – Киров: Кировская государственная медицинская академия, 2011. – С. 93-94.

13. Мустафина Л.Р. Характеристика популяции плацентарных макрофагов при хламидийной инфекции [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Вестник Смоленской медицинской академии. Спецвыпуск. – 2011. – С. 45.

14. Особенности изменения популяции НК-клеток децидуальной оболочки при беременности, осложненной хламидийной инфекцией [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Вестник Смоленской медицинской академии. Спецвыпуск. – 2011. – С. 70.

15. Мустафина Л.Р. Состояние некоторых показателей локального иммунитета маточно-плацентарной области в первом триместре беременности, осложненном хламидийной инфекцией [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Медицина XXI века: сборник материалов юбилейной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВа в Кузбассе, г. Новокузнецк, 7 апреля 2011 года / Под ред. А.В. Колбаско. – Новокузнецк: ГОУ ДПО НГИУВ, 2011. – С. 163-165.

16. Морфологическая оценка гестационной трансформации децидуальных клеток при беременности, осложненной урогенитальной инфекцией в первом триместре беременности [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Медицина XXI века: сборник материалов юбилейной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной 60-летию работы Новокузнецкого ГИУВа в Кузбассе, г. Новокузнецк, 7 апреля 2011 года / Под ред. А.В. Колбаско. – Новокузнецк: ГОУ ДПО НГИУВ, 2011. – С. 165-167.

17. Клинико-морфологические аспекты профилактики осложнений постабортного периода у женщин с микоплазменной инфекцией [Текст] /

Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Науки о человеке: сборник статей по материалам XII Российского конгресса молодых ученых с международным участием, г. Томск, 26-27 мая 2011 года / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ. – 2011. – С. 53-54.

18. Мустафина Л.Р. Влияние урогенитальной инфекции на гестационную трансформацию спиралевидных артерий [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Науки о человеке: сборник статей по материалам XII Российского конгресса молодых ученых с международным участием, г. Томск, 26-27 мая 2011 года / Под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ. – 2011. – С. 68-69.

19. Характеристика популяции НК-клеток decidua basalis при беременности, осложненной хламидийной инфекцией [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий»: материалы Всероссийской научно-практической конференции, г. Томск, 19-20 мая 2011 года. – Томск: СибГМУ. – 2011. – С. 36-38.

20. К вопросу о иммунопатогенезе внутриутробной инфекции, ассоциированной с условно-патогенными микроорганизмами [Текст] / С.Ю. Юрьев, Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // «Проблемы репродукции: от планирования беременности до вспомогательных репродуктивных технологий»: материалы Всероссийской научно-практической конференции, г. Томск, 19-20 мая 2011 года. – Томск: СибГМУ. – 2011. – С. 39-42.

21. Мустафина Л.Р. Характеристика популяции плацентарных макрофагов при уреа- и микоплазменной контаминации [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон // Бюллетень медицинских Интернет-конференций: материалы летнего медицинского Интернет-форума – 2011. – Т. 1, вып. 5 (сентябрь). – С. 4.

22. Сравнительная характеристика содержания децидуальных лимфоцитов на фоне антибактериальной терапии при урогенитальной инфекции [Текст] / Е.В. Хон, Л.Р. Мустафина // Бюллетень медицинских Интернет-конференций: материалы летнего медицинского Интернет-форума. – 2011. – Т. 1, вып. 5 (сентябрь). – С. 29.

23. Мустафина Л.Р. Морфофункциональная характеристика ворсинчатого хориона в ранние сроки беременности при наличии урогенитальной инфекции [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2011. – № 6 – С. 19-23.

24. Мустафина Л.Р. Оценка компенсаторных реакций в плацентах III триместра беременности при активной и персистентной форме урогенитального хламидиоза [Текст] / Л.Р. Мустафина // «Интеллектуальный потенциал молодых ученых России и зарубежья»: материалы IV Международной научно-практической конференции. – М.: Издательство «Спутник +», 2012. – С. 92-97.

25. Мустафина Л.Р. Характеристика иммунокомпетентных клеток и морфологическое строение децидуальной оболочки при различных видах урогенитального инфицирования в I триместре гестации [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Архив патологии.** – 2012. – Т. 74, № 1. – С. 38-41.

26. Мустафина Л.Р. Выраженность компенсаторных реакций в плацентах III триместра беременности при различных видах микоплазменного инфицирования [Текст] / Л.Р. Мустафина, М.В. Шведова, С.Ю. Юрьев и др. // **Сибирский медицинский журнал.** – 2012. – Т. 27, № 1. – Вып. 1. – С. 80-84.
27. Мустафина Л.Р. Изменения массы плаценты и плацентарно-плодового коэффициента при микоплазменной контаминации [Текст] / Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Морфология.** – 2012. – Т. 140, № 3. – С. 110.
28. Мустафина Л.Р. Течение адаптивных процессов в плаценте при контаминации *Mycoplasma hominis* [Текст] / Л.Р. Мустафина, М.В. Шведова, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Морфология.** – 2012. – Т. 140, № 3. – С. 110-111.
29. Мустафина Л.Р. Характеристика TLR2 при хламидийной инфекции [Текст] / Л.Р. Мустафина, Е.В. Хон, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // «Мать и дитя. Ростов-на-Дону»: материалы VI Регионального форума. – С. 76.
30. Мустафина Л.Р. Особенности межклеточных взаимодействий в базальной децидуальной оболочке при вагините, ассоциированном с контаминацией условно-патогенными микроорганизмами [Текст] / Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2012. – № 4. – С. 64-68.
31. Мустафина Л.Р. Влияние хламидийного инфицирования цервикального канала на показатели локального иммунитета базальной децидуальной оболочки в ранние сроки беременности [Текст] / Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Врач-аспирант.** – 2012. – № 5 (54). – С. 176-181.
32. Мустафина Л.Р. Компенсаторно-приспособительные процессы в зрелой плаценте при инфицировании половых путей *Chlamydia trachomatis* [Текст] / Л.Р. Мустафина, С.В. Логвинов, С.Ю. Юрьев // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2012. – № 6. – С. 64-68.

Список сокращений

- БДО – базальная децидуальная оболочка
 МВП – межворсинчатое пространство
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 ЭПС – эндоплазматическая сеть
 Cl. tr. – *Chlamydia trachomatis*
 Hsp60 – белок теплового шока *Chlamydia trachomatis*
 M. hom. – *Mycoplasma hominis*
 НК-клетки – естественные киллеры
 TLR – Toll-like receptor
 pgp3 – плазмидийный гликопротеин *Chlamydia trachomatis*
 U. ur. – *Ureaplasma urealyticum*

Подписано в печать 21.05.2013 г.
Усл. печ. листов 065 Печать на ризографе.
Отпечатано в лаборатории оперативной полиграфии СибГМУ
634050, г. Томск, Московский тракт, 2, тел. 53-04-08
Заказ № 78 Тираж 120 экземпляров