



УДК 618.3: 616 – 097.1

КЛИНИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ НАЛИЧИИ СХОДНЫХ HLA-АЛЛЕЛЕЙ В СУПРУЖЕСКОЙ ПАРЕ

А.А. Полякова¹
А.П. Милованов²

¹⁾ Курский
государственный
медицинский
университет

²⁾ Научно-исследовательский
институт морфологии
человека РАМН,
Москва

e-mail: vovanya-pl@yandex.ru

В статье изложены основные клинические и патоморфологические закономерности изменений эндометрия и ворсин хориона при неразвивающейся беременности в первом триместре, обусловленной наличием сходных HLA – аллелей. Обнаружена активация макрофагов и больших гранулярных лимфоцитов в зонах дегенерации децидуальных клеток эпителиоидного типа в париетальном эндометрии и маточно-плацентарной области. Впервые при изучении кюретажного материала после неразвивающейся беременности у 24 женщин, совместимых с супругом по HLA – аллелям, выделены новые дополнительные совместимые пары антигенов HLA – комплекса, не описанные ранее в литературе. Полученные результаты могут быть использованы при диагностике и лечении тяжелых вариантов привычного невынашивания беременности у HLA – совместимых пар.

Ключевые слова: неразвивающаяся беременность, HLA – совместимость супругов, децидуализация эндометрия, кюретажный материал.

В течение последних лет в практическом акушерстве одно из первых мест занимает проблема привычного раннего невынашивания беременности. Несостоявшийся аборт (missed abortion) или неразвивающаяся беременность (НБ) играет ведущую роль в ранних потерях, этиология и патогенез которой до конца не изучены. Важным остается спор акушеров и иммунологов о роли совместимости супругов по HLA – антигенам в патогенезе НБ при отсутствии патоморфологических исследований, подтверждающих ту или иную точку зрения [1, 3, 6, 7, 9].

Целью исследования стал клинический и патоморфологический анализ неразвивающейся беременности, обусловленной наличием совместимых HLA – аллелей в супружеской паре.

Материалы и методы. Исследованный материал включал две группы женщин. В первую группу сравнения отобраны 21 здоровая женщина, пожелавшая прервать физиологическую беременность в первом триместре на сроке 7-8 недель (группа медицинских аборт). Вторую группу исследования составили 24 женщины с привычным ранним невынашиванием беременности, имеющие совместимость с супругом по HLA – аллелям I и II класса.

В клиническом отношении все женщины были тщательно обследованы. Проведен сбор и анализ анамнестических данных, общий осмотр, гинекологическое бимануальное исследование, УЗИ, кариотипирование супругов, гемостазиологическое, гормональное, микробиологическое исследования для исключения других эндокринных и иммунных причин НБ. HLA типирование антигенов I класса осуществлялось стандартным лимфотоксическим тестом, разработанного П. Терасаки, на лимфоцитах периферической крови с использованием комплементарной цитотоксичности. Определение антигенов HLA II класса (DQ α , DQ β , DR) производилось методом полимеразной цепной реакции [8, 10, 11].

Кюретажный материал из полости матки всех женщин фиксировался в забуференном растворе формалина, затем проводился по стандартной схеме до парафиновых блоков, из которых готовились срезы толщиной 5-7 микрон. Анализ микропрепаратов начинали с помощью обзорной окраски гематоксилином и эозином с выделением трех обязательных компонентов: париетального эндометрия, т.е. фрагментов эндометрия

вне плацентарной площадки и хориального мешка; плацентарной площадки или маточно-плацентарной области (МПО); различных уровней ветвления ворсин хориона ранней плаценты.

Для объективизации морфологических данных использована полуколичественная балльная оценка по возрастающей степени выраженности патологии (0-3 баллов) компонентов париетального эндометрия, МПО, ворсин. Полуколичественные данные подвергались статистической обработке с определением критерия достоверности Манна-Уитни.

В качестве критерия оценки степени выраженности патоморфологических изменений и определения качественного состава HLA – аллелей при НБ, все 24 случая с HLA совместимостью подвергнуты суммированию баллов всех морфологических признаков со следующей градацией: до общего количества 20 баллов – умеренно выраженные нарушения (так называемые «легкие» варианты) – 12 человек; более 20 баллов до 37 баллов – выраженные патоморфологические изменения («тяжелые» варианты, 12 человек).

Для оценки и типирования иммунокомпетентных клеток (ИКК) использовано иммуногистохимическое исследование по общепринятой схеме с использованием панели антител: рецепторы к прогестерону («Dako», клон PgR 636, разведение 1: 50), CD4 («Cell Marque», клон SP35, разведение 1:100) – маркер Т-хелперов, CD57 («Dako», клон TBO1, RTU) – маркер NK клеток, CD68 («Dako», клон PG-M1, RTU) – маркер моноцитов-макрофагов, Granzyme B («Novocastra Laboratories», клон 11F1, разведение 1:50) – маркер больших гранулярных лимфоцитов (БГЛ) [5, 12, 14].

При физиологической беременности клинический анализ выявил следующие особенности. Средний возраст женщин составил $28,3 \pm 1,4$ года. Из соматических заболеваний преобладали хронический гастрит 19% (4 случая), хронический пиелонефрит 9,5% (2 случая), аппендэктомия в анамнезе у 5 пациенток. У одной женщины выявлен компенсированный врожденный порок сердца. В 24% случаев отмечается отягощенный аллергологический анамнез в виде крапивницы на пищевые и лекарственные аллергены.

Средний возраст наступления менархе составил $13,7 \pm 0,3$ года. У всех пациенток менструальный цикл был регулярным, длительностью $28,3 \pm 0,6$ дней. Половая жизнь в среднем с $18 \pm 0,7$ лет. В анамнезе у 6 женщин (28,6%) имело место две беременности, у 5 (23,8%) – 3 беременности, в единичных случаях данная беременность была 7 или 8 по счету. Две пациентки были первобеременными в возрасте 18 и 21 год. Остальные пациентки (по две женщины в каждой группе) отмечали ранее 1, 4, 5 беременностей соответственно. У 62% женщин в анамнезе имело место прерывание беременности по желанию пациентки. В одном случае отмечена трубная беременность, в 2 случаях имели место искусственные роды на сроке 29 недель беременности по медицинским показаниям.

При анализе морфологических данных в кюретажном материале после медицинских абортов выявлялись отдельные структурные нарушения, практически нулевых значений не регистрировалось, но большинство из них достигало всего лишь 0,5 и редко превышало 1 балл. Общая картина соскобов из полости матки в группе сравнения соответствовала 7-8 неделям беременности. Париетальный эндометрий представлен плотно расположенными децидуальными клетками преимущественно эпителиоидного типа, среди которых располагались сжатые просветы небольших желез с достаточным количеством секрета. На поверхности МПО определялся выраженный слой фибриноида Рора, от которого среди децидуальных клеток распространялся интерстициальный цитотрофобласт. Конечным результатом цитотрофобластической инвазии явилась полная гестационная перестройка маточно-плацентарных артерий с расширением их просвета и замещением стенки фибриноидом. В изученном материале выявлялись преимущественно большие васкулярные ворсины с двухслойным эпителием, хорошо развитой стромой.

Иммуноморфологическая визуализация клеток местного иммунитета определила отсутствие Т-хелперов и незначительное распространение натуральных киллеров во всех отделах эндометрия. Обнаружена четкая иммуноэкспрессия антител против



рецептора к прогестерону в ядрах децидуальных клеток эпителиоидного типа. Постоянными представителями иммунокомпетентных клеток в париетальном эндометрии и МПО были макрофаги (маркер CD 68) и БГЛ (маркер гранзим В). При относительно равномерном распределении этих клеток в матриксе отмечалась их концентрация около эндометриальных желез. В ворсинах хориона CD68 подтверждал наличие достаточного количества плацентарных макрофагов.

Клинико-морфологический анализ неразвивающейся беременности, обусловленной НЛА – совместимостью супругов, начинали с группы женщин (12 человек), у которых выявлены умеренные патоморфологические изменения («легкие» варианты). Качественный состав совместимых антигенов в данных супружеских парах представлен следующим аллелям HLA: DQ α 0102/DQ β 0602-8, DQ α 0501/DQ β 0301, A2/DQ β 0201, A2/DQ α 0102/DQ β 0602-8, B35/DR4/DQ α 0301/DQ β 0302/DQ β 0308, A2/DQ α 0501/DQ β 0301, A2/DQ α 0201/DQ β 0602-8, DR4/DQ α 0103/DQ β 0602-8, A10/B10/Bw6. Средний возраст женщин составил 30,5 \pm 1,5 года. Увеличение щитовидной железы без нарушения функции выявлены у одной женщины. Преобладали заболевания дыхательной системы (тонзиллит, фарингит) – 4 случая (33,3%), язва двенадцатиперстной кишки в анамнезе регистрировалась по одному случаю. Среди гинекологических заболеваний на первом месте были хронический эндометрит – 5 женщин (41,7%), миома матки и эндометриоз – по 3 случая (25%). Синдром поликистозных яичников, гиперандрогения, гиперпролактинемия, гипоплазия матки выявлены по одному случаю каждой патологии. Средний возраст наступления менархе составил 13,5 \pm 0,26 лет, длительность менструального цикла – 29 \pm 0,7 дня. В 50% случаев данная неудачная беременность была третьей по счету. Четвертая неразвивающаяся беременность зарегистрирована у двух пациенток. У одной семейной пары данная потеря беременности была второй по счету. 2 женщины были первобеременными (16,7%). Три пациентки состояли во втором браке. В предыдущих браках все пациентки имели физиологические беременности.

При морфологическом исследовании по сравнению с группой медицинских абортотом выявлены достоверные патоморфологические изменения: десквамация люминального эпителия, отставание децидуализации париетального эндометрия и МПО в виде преобладания децидуальных клеток промежуточного типа, расширение просвета желез с уменьшением секрета, слабая цитотрофобластическая инвазия с отставанием гестационной перестройки спиральных артерий, замедление развития ворсин хориона в виде отсутствия их васкуляризации, истончения эпителия и отека стромы. Особое внимание было обращено на участки гибели децидуальных клеток и формированию зон отека различной протяженности в данных областях. У 5 из 12 пациенток отмечены локальные очаги поражения децидуальных клеток и окружающего их отека, при условии достаточно большого объема сохранных децидуальных клеток эпителиоидного типа. В этих небольших очагах постоянно выявлялись ИКК, которые верифицированы как макрофаги и БГЛ. Отмечалась иммунонегативная реакция с Т-хелперами и естественными киллерами во всех отделах эндометрия. Реакция с прогестероном оценивалась как удовлетворительная.

В группу выраженных морфологических изменений («тяжелых аллелей») вошли 12 женщин, совместимых с супругом по следующим аллелям: A1/Bw4, Bw6/DQ α 0501, A1/DQ α 0102, DQ α 0501/DQ β 0301, B16/DQ α 0501, A2/B15, A2/DQ β 0602-8, B5/Bw4/Bw6/DQ α 0501, DR4/DQ α 0301/DQ β 0302, A19/B30/B31/B13. Средний возраст женщин составил 31,1 \pm 1,1 лет. Из соматических заболеваний превалировали компенсированные заболевания щитовидной железы – 4 женщины (33,3%), хронический пиелонефрит без проявлений почечной недостаточности – 2 случая (16,7%). В одном случае женщина болела скомпенсированным медикаментозно сахарным диабетом первого типа. При анализе гинекологической заболеваемости обращали внимание воспалительные заболевания органов малого таза: хронические эндометриты в анамнезе диагностированы в трех случаях (25%), у одной пациентки отмечался хронический сальпингоофорит. Из других гинекологических заболеваний чаще всего диагностирована миома матки – 33,3% (4 случая) в сочетании с эндометриозом. В единичных



случаях выявлены гиперандрогения, гиперпролактинемия. Средний возраст наступления менархе во второй группе составил $13 \pm 0,3$ года, длительность менструального цикла составила $28,3 \pm 0,5$ дня. У 7 женщин данная неразвивающаяся беременность была третьей по счету, две женщины имели по одной неразвивающейся беременности в анамнезе, четвертая НБ диагностирована у двух женщин, у одной пациентки данная потеря беременности была 7-ой по счету. 3 женщины состояли во втором браке. От предыдущих браков у всех были прерывания беременности по желанию женщин (медицинские аборты), в одном случае от предыдущего брака был здоровый ребенок.

Анализ качественного состава аллелей HLA – комплекса в исследованных супружеских парах позволил выявить новые аллели HLA, приводящие к неразвивающейся беременности, которые не упоминались ранее отечественными и зарубежными авторами [2, 4, 5, 6, 8, 10, 11, 13]. DQ α 0103 зарегистрирован у 4 семейных пар, имеющих три и более совместимых аллелей HLA комплекса. DQ β 0302 отмечен у 6 пар пациентов (25%), DRB1 0401 (DR4) – у 4 супружеских пар. Bw6, B30 регистрировались у трех пар супругов, B31 – у двух супружеских пар, B10 – у четырёх пар с тяжелыми морфологическими вариантами. B27, B22 выявлены у четырех мужчин в семейных парах с выраженной патологией эндометрия у жен.

При морфологическом исследовании кюретажного материала в группе тяжелых морфологических изменений наряду с патологией эндометрия и ворсин плаценты, сходных с группой «легких» вариантов, удалось выявить постепенное структурное повреждение децидуальных клеток до их цитолиза и формирования разнокалиберных отечных зон преимущественно в МПО, что может быть обусловлено наличием новых выявленных аллелей HLA. В данных микропрепаратах иммунокомпетентные клетки концентрировались вокруг отдельных децидуальных клеток эпителиоидного типа, окружали их и вызывали разнокалиберную вакуольную дистрофию цитоплазмы с кариорексисом и кариолизисом. Конечным этапом структурной дегградации децидуальных клеток была их полная гибель с формированием многочисленных полостей. Важно отметить, что при иммуногистохимическом исследовании выявлена четкая экспрессия маркеров БГЛ и макрофагов в зонах цитолиза децидуальных клеток.

Следовательно, впервые изученные соскобы из полости матки после НБ, обусловленной наличием совместимых пар аллелей I и II класса гистосовместимости, позволили выявить комплекс патоморфологических изменений эндометрия и ворсин хориона по сравнению с физиологическим течением беременности. Выявленные клинические и патоморфологические признаки позволили предположить, что неразвивающаяся беременность при наличии совместимых HLA – аллелей у супругов носит самостоятельный характер, и может быть выделена среди других причин раннего невынашивания беременности. Имеющаяся соматическая и гинекологическая патология является сопутствующим заболеванием и лишь утяжеляет данную форму невынашивания. Выраженность морфологических изменений в эндометрии и ворсинах плаценты зависит от конкретных типов сходных HLA – аллелей. Выявленные антигены первого и второго класса HLA – комплекса, в том числе известные ранее, сочетаются с дегенерацией децидуальных клеток и максимальной активизацией макрофагов и больших гранулярных лимфоцитов.

Полученные данные позволят акушерам-гинекологам проводить целенаправленную предгравидарную подготовку женщин с привычным невынашиванием беременности и сохраняющую терапию последующих беременностей.

Литература

1. Аржанова, О.Н. Этиопатогенез невынашивания беременности / О.Н. Аржанова, Н.Г. Кошелева // Журнал акушерства и Женских болезней. – 2004. – Т. LIII, №1. – С. 37-41.
2. Доброхотова, Ю.Э. Неразвивающаяся беременность / Ю.Э. Доброхотова, Э.М. Джобав, Р.И. Озерова – М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2010. – 144 с.
3. Петросян, Л.А. Прогностически неблагоприятные факторы HLA – системы у супружеских пар с привычными ранними потерями беременности / Л.А. Петросян, Л.З. Файзуллин, В.Н. Карнаухов // Акушерство и гинекология. – 2009. – №5. – С. 5-8.



4. Радзинский, В.Е. Неразвивающаяся беременность / В.Е.Радзинский, В.И. Димитрова, И.Ю. Майскова – М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2009. – 200 с.
5. Сельков, С.А. Роль маточно-плацентарных макрофагов в репродуктивной патологии / С.А. Сельков, О.В. Павлов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX, №1. – С. 122-130.
6. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности: руководство для практических врачей / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010. – 536 с.
7. Сидорова, И.С. Неразвивающаяся беременность / И.С. Сидорова, Н.А. Шешукова // Гинекология. – 2006. – Т. 8, № 3. – С. 13-15.
8. Тетруашвили, Н.К. Роль иммунных взаимодействий на ранних этапах физиологической беременности и при привычном выкидыше / Н.К.Тетруашвили // Иммунология. – 2008. – № 2. – С. 124-129.
9. Allison, J.L. Recurrent first trimester pregnancy loss: revised definitions and novel causes / J.L. Allison, D.J. Schust // Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes. – 2009. – № 16(6). – P.446-50.
- Aoki K. HLA-DR compatibility in couples with recurrent spontaneous abortions / K. Aoki // J. Reprod. – 2007. – № 3. – P. 455 – 63.
10. Beydoun, H. Association of human leucocyte antigen sharing with recurrent spontaneous abortions / H. Beydoun, AF. Saftlas // Tissue Antigens. – 2005.- №65(2). – P. 123-135.
11. Dosiou, C. Natural killer cells in pregnancy and recurrent pregnancy loss: endocrine and immunologic perspectives. / C. Dosiou, L.C. Giudice // Endocr Rev. – 2005. – №1. – P.44-62.
12. Komlos, L. HLA-A2 class I antigens in couples with recurrent spontaneous abortions / L. Komlos, T. Klein, M. Korostishevsky // Int. J. Immunogenet. – 2007. – №4. – P.241-246.
13. Zabińska-Popiela, M. Comparative analysis of CD56 lymphocytes and CD69 antigen expression in endometrium during decidualization / M. Zabińska-Popiela L. Wicherek, K. Gałazka. // Przegl Lek. – 2006. – №4. – P. 176 –178.

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL ASPECTS OF NON-PROGRESSIVE PREGNANCY IN THE PRESENCE OF SIMILAR HLA – ALLELES IN A MARRIED COUPLE.

A.A. Polyakova¹
A.P. Milovanov²

¹⁾ *Kursk State
Medical University*

²⁾ *Research Institute of Human
Morphology of the Russian
Academy of Medical Sciences,
Moscow*

e-mail: vovanya-pl@yandex.ru

The article deals with the principal clinical and pathomorphological regularities of endometrium and chorionic villi changes in the first trimester non-progressive pregnancy due to the presence of similar HLA-alleles. The activation of macrophages and large granular lymphocytes has been revealed in the zone of degeneration of epithelioid type decidual cells in the parietal endometrium and uteroplacental area. For the first time, new accessory compatible pairs of HLA-complex antigens not described in the literature before have been discovered while studying the curette materials after the non-progressive pregnancy in 24 women, compatible with their husbands in HLA-alleles. The obtained findings can be used when diagnosing and treating the serious variants of habitual noncarrying of pregnancy in HLA-compatible pairs.

Key words: non-progressive pregnancy, HLA – compatibility of a married couple, decidualization of endometrium, curette materials.