

ОРДИЯНЦ И.М., МАКАЕВА Д.А., ОЛУСОЛА Д., АЛИЕВА Э.А., ГАШЕНКО А.А.
*Российский университет дружбы народов,
 г. Москва*

ЦИТОМОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕВЫНАШИВАНИЯ РАННЕЙ БЕРЕМЕННОСТИ

Основной причиной недостаточности инвазии внутрисосудистого цитотрофобласта являются: изменения гетерогенности циркулирующей популяции тромбоцитов – снижение числа тромбоцитов покоя, увеличение содержания клеток с низким и высоким уровнем активации, при резком, практически в два раза, повышении количества дегенеративных тромбоцитов; вариабельность средних морфометрических показателей тромбоцитов связана с появлением в русле достоверно высокого числа активированных тромбоцитов с характерным рельефом поверхности и наличием отростков-псевдоподий, а также их гиперфункцией (перепрофилирование морфофункционального состояния в сторону активации и реализации гиперкоагуляции).

Ключевые слова: ранние репродуктивные потери; фазометрии тромбоцитов.

ORDIYANC I.M., D.A.MAKAEVA, AYENI DANIEL, E.A.ALIEVA, GAHENKO A.A.
Peoples' Friendship University of Russia, Moscow

CYTOMORPHOMETRIC PREDICTION OF MISCARRIAGE OF EARLY PREGNANCY

Principal cause of insufficiency of an invasion of intravascular cytotrophoblast are changes of heterogeneity of circulating population of platelets - depression of number of platelets of the rest, augmentation of the maintenance of the cells with low and high level of activation, at sharp, practically twice, rising of quantity of degenerate platelets; variability of average morphometric indicators of the platelets is bound to occurrence in the tideway of authentically high number of the activated platelets with the special characteristic relief of a surface and presence of processes, and also their hyperfunction (reshaping morphofunctional conditions towards an activation and realization of hypercoagulation).

Key words: early reproductive losses; morphometric characteristics of platelets.

В последние годы, при обсуждении генеза большинства акушерских осложнений, особое внимание уделяют нарушениям в системе свертывания крови – генетически детерминированным, приобретенным и комбинированным формам тромбофилии. По мнению ряда исследователей, в структуре причин синдрома потери плода наследственные и приобретенные дефекты свертывания крови составляют от 45 до 75 % [1]. Система гемостаза обеспечивает нормальную жизнедеятельность организма, его целостность, гемостатический гомеостаз. Одними из важнейших гемокоагуляционных факторов являются тромбоциты, играющие ведущую роль в запуске процесса тромбообразования. Их функциональные свойства оказывают непосредственное влияние на гемореологию, гемодинамику и

проницаемость сосудов, опосредуют причинно-следственные отношения адаптационных изменений в системе гемостаза на разных сроках беременности.

Система гемостаза материнского организма и, в первую очередь, тромбоцитарное звено, воздействует на функцию спиральных артериол, с помощью которых осуществляется кровоснабжение плаценты. Тромбоциты способствуют регуляции кровотока в спиральных артериолах путем взаимодействия их тромбоксангениерирующей системы и простациклингениерирующей системы эндотелия. Известно, что активация тромбоцитов в циркулирующей крови приводит к изменению дисковидной формы покоящихся клеток в сферобразную, свойственную клеткам с повышенной способностью к адгезии, образованию агрегатов и секреции биологически активных соединений, непосредственно участвующих или влияющих на гемостаз [2, 3].

Углубленное исследование морфологического состояния позволяет установить функциональную полноценность клеток, в частности степень

Корреспонденцию адресовать:

ОРДИЯНЦ Ирина Михайловна,
 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8,
 РУДН, Медицинский факультет.
 Тел.: +7-926-800-50-36. E-mail: ordiyantc@mail.ru

их активации, и прогнозировать возможные варианты развития процессов перестройки гемостаза. Компьютерная морфометрия (КФМ) является одним из современных и перспективных методов, позволяющих количественно оценить не только морфологические особенности тромбоцитов (размер, форму клетки, состояние грануломера), но и уровень их функциональной активности [4]. Оценка гетерогенности циркулирующей популяции тромбоцитов нашла применение в трансплантологии, нефрологии, хирургии, ревматологии, кардиологии и неврологии [5-7].

Успешное применение метода КФМ и информативность его результатов в диагностике различных состояний и заболеваний, а также имеющиеся единичные исследования на ранних сроках беременности [8], послужили основанием к использованию витальной компьютерной фазометрии клеток периферической крови, а именно, субпопуляций тромбоцитов для выявления изменений тромбоцитарного гемостаза, сопутствующих ранним репродуктивным потерям.

Цель исследования — улучшить прогнозирование и раннюю диагностику невынашивания на основе определения изменений интегральных морфометрических характеристик тромбоцитов.

ОБЪЕМ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего были обследованы 125 беременных в первом триместре, из них: 26 — с неосложненной беременностью в сроки 6-12 нед. (I группа), 35 — с угрозой самопроизвольного аборта (II группа), 17 — со спонтанным абортом (III группа) и 47 — с неразвивающейся беременностью (IV группа).

Критерии включения в основные группы: возраст 18-45 лет; наличие абортов и репродуктивных потерь в анамнезе; отсутствие гинекологических и экстрагенитальных заболеваний в острой и подострой стадиях. Критерии исключения: пациентки с антифосфолипидным синдромом.

Для изучения состояния клеточных звеньев гемостаза были проведены специальные исследования. Для прижизненной оценки морфофункционального состояния тромбоцитов периферической крови использовали метод компьютерной динамической лазерной фазометрии, представляющей совокупность способов пробоподготовки, компьютерной системы анализа изображений,

алгоритмов измерений и идентификации фазовых портретов клеток, методов статистической обработки данных (Василенко И.А. и др., 1995-2010; Тычинский В.П. и др., 1995). Подсчет количества циркулирующих тромбоцитов в цельной крови производили с использованием гематологического автоматизированного счетчика Cobas Micros 18 (Roche). Протромбиновое время определяли методом Квика. Количество фибриногена определяли по Рутбергу. Комплексное ультразвуковое и доплерометрическое исследование проводились на ультразвуковом диагностическом сканере ALOKA SSD-2000 с трансабдоминальным и трансвагинальным датчиком с центральной частотой 3,5 и 5,0 мГц. Морфологическое исследование хориона проводилось по стандартизированной схеме (А.П. Милованов, 1999), которая включала макрокопический анализ, вырезку материала и гистологическое изучение в три этапа.

Полученные показатели обработаны методом вариационной математической статистики. Для создания базы данных и математической обработки результатов использовался персональный компьютер. В качестве основного программного обеспечения выбран пакет программ для статистической обработки данных Statistica 8,0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный клинико-статистический анализ подтвердил сопоставимость групп по основным анализируемым показателям и показал, что средний возраст обследованных женщин составил $27,6 \pm 0,39$ лет, а основными факторами, predisposing к невынашиванию ранней беременности, являются: предшествующие медицинские и самопроизвольные аборты, хронические воспалительные заболевания матки и ее придатков, внутриматочные манипуляции.

Согласно современным представлениям, тромбоциты играют ведущую роль в запуске процесса тромбообразования. Проведенные исследования показали, что при угрозе, самопроизвольном прерывании и неразвивающейся беременности зарегистрировано достоверное снижение количества тромбоцитов по отношению к показателям при физиологической беременности ($256,6 \pm 16,4 \times 10^9/\text{л}$; $207,7 \pm 19,5 \times 10^9/\text{л}$; $197,2 \pm 18,4 \times 10^9/\text{л}$ и $270,8 \pm 21,3 \times 10^9/\text{л}$, соответственно).

Сведения об авторах:

ОРДИАНЦ Ирина Михайловна, доктор мед. наук, профессор, кафедра акушерства и гинекологии, Медицинский факультет, РУДН, г. Москва, Россия. E-mail: ordiantc@mail.ru

МАКАЕВА Диана Абдуловна, аспирант, кафедра акушерства и гинекологии, Медицинский факультет, РУДН, г. Москва, Россия.

ОЛУСОЛА Даниэль, аспирант, кафедра акушерства и гинекологии, Медицинский факультет, РУДН, г. Москва, Россия.

АЛИЕВА Эллина Аркадьевна, аспирант, кафедра акушерства и гинекологии, Медицинский факультет, РУДН, г. Москва, Россия.

ГАШЕНКО А.А., аспирант, кафедра акушерства и гинекологии, Медицинский факультет, РУДН, г. Москва, Россия.

У большинства женщин с невынашиванием ранней беременности на момент обследования были обнаружены нарушения в системе гемостаза, свидетельствующие об увеличении потенциала свертывания крови (гиперкоагуляции). Показателем активации внутреннего пути свертывания служит уменьшение величины АЧТВ. У пациенток с неразвивающейся беременностью выявлено снижение показателей АЧТВ в 1,2 раза. При угрозе прерывания беременности отмечается тенденция к увеличению уровня фибриногена по сравнению с аналогичным показателем при неосложненной беременности. В группе со спонтанным аборт и неразвивающейся беременностью количество фибриногена превышает показатели при неосложненной беременности в 1,5-2 раза. Протромбиновый индекс, характеризующий внешний путь свертывания, при неосложненной беременности составил $93,2 \pm 7,1$ % и достоверно увеличивался при невынашивании беременности в ранние сроки в 1,2 раза. Анализ агрегационной активности клеток, стимулированных АДФ, выявил достоверное увеличение агрегации тромбоцитов при невынашивании ранней беременности по сравнению с такими же показателями при физиологической.

В условиях физиологической нормы [4] подавляющее большинство тромбоцитов было представлено плоскими, округлыми клетками с гладкой или складчатой поверхностью — «гладкие» и «рифленные» дискоциты, соответствующие I типу. Ко II морфологическому типу тромбоцитов были отнесены клетки округлой или неправильной формы с гладкой или складчатой поверхностью и 1-3 короткими (меньше диаметра клетки) отростками-псевдоподиями, являющимися выростами поверхностной мембраны — «эхиноциты» 1 класса. Клетки, имеющие около 2-5 длинных (больше диаметра клетки) отростков-«антенн», представляли III тип и отличались большим многообразием форм: от плоских дисков до клеток неправильной причудливой формы — «эхиноциты» 2 класса. Тромбоциты неправильной формы с неровной бугристой поверхностью, большим количеством отростков различной длины и многочисленными вакуолями были отнесены к IV морфоло-

гическому типу — дегенеративно-измененным клеткам.

В наших исследованиях у женщин с физиологическим течением беременности 56 % тромбоцитов представлены клетками «покоя», 28 % — тромбоцитами с низким уровнем активации (II тип). Количество клеток с длинными отростками-«антеннами» составляет 11 % (III тип), а дегенеративно-измененных (IV тип) — всего 5 %. У беременных с угрозой прерывания беременности на сроке гестации 8-12 недель процент тромбоцитов «покоя» составил 57 %; около 26 % клеток представлены эхиноцитами с короткими отростками (II тип); практически 12 % относятся к III типу, а число дегенеративно-измененных клеток составило 5 %. Для популяции тромбоцитов в условиях неразвивающейся беременности характерна следующая морфологическая картина: значительное уменьшение в циркуляции тромбоцитов «покоя» (до 45 %) и высокое содержание активированных клеток (32 % тромбоцитов II типа, 14 % — III типа, увеличение дегенеративно-измененных тромбоцитов IV типа до 9 %), а в популяции тромбоцитов в условиях самопроизвольного прерывания беременности выявлено значительное уменьшение циркуляции тромбоцитов «покоя» (до 46 %), высокое содержание активированных клеток (30 % тромбоцитов II типа; 15 % III типа), и также высокое содержание дегенеративно-измененных тромбоцитов IV типа (до 9 %).

Таким образом, у пациенток с невынашиванием ранней беременности на фоне резкого снижения числа тромбоцитов покоя (45 %) увеличено содержание клеток с низким (32 %) и высоким (15 %) уровнем активации при значительном, практически двукратном повышении процента дегенеративных тромбоцитов (9 %). По-видимому, такое состояние можно квалифицировать как состояние напряжения с признаками декомпенсации. Обращает внимание увеличение средних по популяции значений диаметра (на 10 % и более), периметра (на 8,5 %) и площади (на 11 %) циркулирующих тромбоцитов у женщин с физиологической беременностью. Является очевидным, что, по сравнению с клетками женщин с физиологическим течением беременности, тромбоциты женщин с угрозой прерывания беременности до-

Information about authors:

ORDIYANC Irina Michailovna, doctor of medical sciences, professor, department of obstetrics and gynecology, Faculty of Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. E-mail: ordiyantc@mail.ru

MAKAEVA Diana Abdulovna, postgraduate student, department of obstetrics and gynecology, Faculty of Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

AYENI Daniel, postgraduate student, department of obstetrics and gynecology, Faculty of Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

ALIEVA Aellina Arkadievna, postgraduate student, department of obstetrics and gynecology, Faculty of Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

GAHENKO A.A., postgraduate student, department of obstetrics and gynecology, Faculty of Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

стоверно отличаются большими значениями диаметра и площади (на 12 % и 11 %, соответственно), в то время как высота, периметр и объем клеток снижаются (на 17 %, 6 % и 6 %, соответственно). Вероятнее всего, это связано с появлением в кровеносном русле большего числа активированных тромбоцитов с характерным рельефом поверхности и наличием отростков-псевдоподий. При неразвивающейся беременности максимальные средние значения диаметра, периметра, площади и объема тромбоцитов увеличиваются на 19,2 %; 15,9 %; 39,1 % и 44,4 %, соответственно.

Полученные результаты демонстрируют, что в I триместре неосложненной беременности наблюдались вполне определенные адаптивные изменения системы гемостаза, заключающиеся в повышении коагуляционной способности крови, изменении основных размерных параметров клеток (увеличении диаметра, периметра, площади и объема, но снижении их фазовой высоты), повышении уровня активационного статуса тромбоцитов. При самопроизвольном прерывании беременности происходят выраженные нарушения тромбоцитарного звена гемостаза, которые проявлялись как в изменении морфологии клеток, так и в изменении их функциональной активности. При этом следует отметить, что у пациенток с неразвивающейся беременностью нарушения в системе гемостаза, как плазменного, так и тромбоцитарного звеньев, носили более выраженный характер. Полученные результаты имеют важное значение, поскольку точное знание адаптивных изменений системы гемостаза при невынашивании ранней беременности позволяет проводить более успешную диагностику возможных гемостазиологических осложнений в акушерстве, дифференцировать физиологическую гиперкоагуляцию и патологическую активацию гемостаза, проводить целенаправленную коррекцию выявленных дефектов.

Система гемостаза материнского организма и, в первую очередь, тромбоцитарное звено воздействуют на функцию спиральных артериол, с помощью которых осуществляется кровоснабжение ворсин хориона. Кроме того, при формировании плацентарного кровотока спиральные артерии образуют псевдоэпителиальную подстилку, что ведет к обнажению коллагена субэндотелиальных структур — агониста агрегации и адгезии тромбоцитов [Радзинский В.Е., 2004-2009; Кириченко А.К., 2005]. ИР МА в группе с угрозой прерывания беременности характеризовался постепенным снижением от $0,85 \pm 0,23$ в 5-6 нед. до $0,71 \pm 0,93$ в 11-12 нед. и достоверным снижением ИП МА по сравнению с контрольной группой с $1,28 \pm 0,07$ до $0,96 \pm 0,012$ в 11-12 нед. ИР РА на протяжении первого триместра гестации снижался от $0,67 \pm 0,02$ в сроки 5-6 нед. до $0,59 \pm 0,02$ в 11-12 нед. ИП РА также постепенно сни-

жался в данной группе от $1,12 \pm 0,02$ в 5-6 нед. до $0,84 \pm 0,02$ в 11-12 нед. и статистически достоверно ($p < 0,05$) отличался от того же показателя в контрольной группе. ИР СА существенно не изменялся, колеблясь между $0,58 \pm 0,02$ в 5-6 нед. и $0,59 \pm 0,03$ в 11-12 нед. Изменение ИП СА характеризовалось более постепенным снижением показателей от $0,84 \pm 0,07$ в 5-6 нед. до $0,67 \pm 0,04$ в 11-12 нед.

В группе с самопроизвольным прерыванием беременности отмечалось снижение периферического сосудистого сопротивления в динамике всего первого триместра беременности. ИР МА у пациенток данной группы снижался от $0,83 \pm 0,08$ в 5-6 нед. до $0,66 \pm 0,04$ в 11-12 нед. ИП МА у пациенток данной группы также характеризовался постепенным снижением от $1,52 \pm 0,075$ в 5-6 нед. до $0,57 \pm 0,04$ в 11-12 недель. На протяжении первого триместра беременности ИР и ИП в радиальных артериях постепенно снижались: ИР — от $0,64 \pm 0,06$ в 5-6 нед. до $0,47 \pm 0,05$ в 11-12 недель. При исследовании кровотока в спиральных артериях сохранялись основные закономерности изменения периферического сосудистого сопротивления. ИР в данной группе сосудов изменялся от $0,59 \pm 0,04$ в 5-6 нед. до $0,38 \pm 0,04$ в 12 недель.

У 81 % пациенток с неразвивающейся беременностью нами было зарегистрировано отсутствие протодиастолической инцизуры в МА, что свидетельствовало о патологическом течении беременности, а отсутствие диастолического компонента у 47,8 % также характеризовало осложненное течение первого триместра беременности. Таким образом, проведенное исследование выявило нарушения маточно-плацентарного кровотока на протяжении первого триместра беременности у женщин с ранними репродуктивными потерями.

Для исхода беременности в функциональной системе мать-плацента-плод особую значимость имеет контакт ворсин плаценты с d. basalis, поскольку структурное взаимодействие фетоплацентарных тканей и клеток с маткой определяет успешность и полноту важнейших процессов имплантации [Милованов А.П., 2005]. Гистологическому изучению были подвергнуты 64 соскоба, полученные при выскабливании стенок полости матки по поводу спонтанного аборта (17) и неразвивающейся беременности (47). Фрагменты гравидарного эндометрия с участками обратного развития I и II стадии выявлены у 17 пациенток (36,2 %) с неразвивающейся беременностью и у 30 (63,8 %) — II и III стадии, в то время как при спонтанном аборте — у 9 (52,9 %) и 8 (47,1 %), соответственно. У каждой второй пациентки со спонтанным абортом и неразвивающейся беременностью определялись клубки спиральных артерий с утолщенными стенками за счет фибриноидного набухания. Фибриновые тромбы в их

просветах встречались у 37 женщин (78,7 %) при неразвивающейся беременности и у 12 (70,6 %) — при спонтанном аборте. Децидуальная ткань с кровоизлияниями, распадом и множественными очагами гнойного воспаления в 1,5-2 раза чаще встречалась при неразвивающейся беременности (66 % и 74,5 % при неразвивающейся беременности; 29,4 % и 58,8 % при спонтанном аборте).

Лимфогистиоцитарная инфильтрация стромы в три раза чаще встречалась при неразвивающейся беременности, по сравнению со спонтанным абортом (70,2 % и 29,4 %, соответственно). В определяемых ворсинах хориона гидропическая дистрофия стромы выявлена у 27 пациенток (57,4 %) с неразвивающейся беременностью и у 10 (58,8 %) — со спонтанным абортом, фиброз — у 27 (57,4 %) и у 7 (41,2 %), соответственно, в то время как отек ворсин хориона был более выражен при спонтанном аборте (58,8 % и 27,7 %, соответственно). Ворсины хориона мелкие, «замурованы» в массы фибриноида, большая часть аваскуляризирована, отдельные облитерированы или с эксцентрическим расположением сосудов. Нарушенный ангиогенез ворсин хориона являлся наиболее часто встречающимся проявлением — 72,3 % при неразвивающейся беременности, 76,5 % при спонтанном аборте.

Таким образом, морфологические исследования демонстрируют сложные структурные изменения хориона и децидуальной ткани, которые сводятся к тромбозу спиральных артерий, расстройству микроциркуляции, выраженному фибриноидному пропитыванию. При неразвивающейся беременности имели место гистологические признаки париетального и базального децидуита (у 33 пациенток из 47), который усугубил представленные выше реологические нарушения, приводящие к недостаточной гестацонной перестройке спиральных артерий в маточно-плацентарные у каждой второй пациентки с потерей ранней беременности.

Суммируя полученные данные можно заключить, что при невынашивании ранней беременности у обследованных женщин выявлены следующие нарушения в системе гемостаза: гетерогенность циркулирующей популяции тромбоцитов (снижение содержания тромбоцитов «покоя», повышение высокоактивированных и дегенеративно-измененных форм), коррелирую-

щие со снижением индекса пульсации в маточных, спиральных и радиальных артериях, начиная с 6-8 недели беременности, что является причиной образования микроабсцессов, некроза децидуальных клеток, кровоизлияний и тромбозов в париетальный эндометрий и d. basalis и включения важных структурных компонентов в зоне анатомического контакта ворсин хориона и эндометрия.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Антифосфолипидный синдром — иммунная тромбофилия в акушерстве и гинекологии /Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Баймуродова СМ. и др. — М., 2009. — 456 с.
2. Шитикова, А.С. Тромбоцитопатии, врожденные и приобретенные /Шитикова А.С.; под ред. Л.П. Папаян, О.Г. Головиной. — СПб., 2008. — 320 с.
3. Шмаков, Р.Г. Сравнительная оценка адаптационных изменений системы гемостаза и морфофункциональных характеристик тромбоцитов во время беременности /Шмаков Р.Г., Савушкин А.В., Сидельникова В.М. //Акуш. и гинекол. — 2003. — № 3. — С. 17-21.
4. Витальная компьютерная морфометрия тромбоцитов как метод ранней диагностики угрозы тромбозов при антифосфолипидном синдроме (АФС) /Василенко И.А., Бычкова И.С., Метелин В.Б. и др. //Гемореология и микроциркуляция (от молекулярных мишеней к органным и системным изменениям). — Ярославль, 2007. — С. 119.
5. Валов, А.Л. Фазово-интерференционная микроскопия и компьютерная морфоцитометрия в дифференциальной диагностике дисфункций почечного аллотрансплантата и оценке эффективности противокризисовой терапии /А.Л. Валов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2010. — 25 с.
6. Марьяновский, Б.М. Компьютерная морфометрия клеток крови реципиентов почечного трансплантата на стадии предоперационной подготовки и раннего послеоперационного периода /Б.М. Марьяновский: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2005. — 23 с.
7. Степанов, В.А. Компьютерная морфометрия иммунокомпетентных клеток в дифференциальной диагностике дисфункций почечного трансплантата /В.А. Степанов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2009. — 21 с.
8. Модина, М.А. Особенности морфофункционального состояния клеточного звена гемостаза при неразвивающейся беременности /М.А. Модина: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2009. — 25 с.