

ОЦЕНКА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ХЛАМИДИОЗА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ПЛАЦЕНТЕ

УДК 618.2+616.97:615.281

Поступила 29.10.2014 г.



О.В. Перетяtko, научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии;
А.С. Пуликов, д.м.н., профессор, зав. лабораторией функциональной морфологии

Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, 660022, Красноярск, ул. П. Железнякa, 3г

Цель исследования — морфологическая оценка антибактериальной терапии хламидиоза во время беременности на основе структурно-функциональной изменчивости децидуальных клеток плаценты.

Материалы и методы. С помощью метода гистостереометрии с использованием стандартных гистологических методик было исследовано 6000 децидуальных клеток из трех зон плаценты (центральной, парацентральной и краевой) от родильниц, в акушерском анамнезе которых значился хламидиоз без лечения и хламидиоз, пролеченный во время беременности антибактериальными препаратами. Определяли диаметры клеток и их ядер, рассчитывали количество клеток на 1 мм² площади. Децидуальные клетки распределяли по клеточным популяциям. Составляли вариационные кривые объема ядер.

Результаты. В плаценте при внутриутробном инфицировании *Chlamydia trachomatis* отмечено снижение клеточно-пролиферативных механизмов и объема ядерного материала от центра к периферии плаценты с концентрацией компенсаторных процессов в парацентральной зоне. Все эти изменения вызваны преимущественно фракцией малых децидуальных клеток. На антибактериальную терапию хламидиоза реагирует преимущественно базальная пластинка снижением объемов клеток, их ядер и цитоплазмы в краевой зоне плаценты. При этом ядерно-цитоплазматическое отношение в базальной пластинке приближено к нормальным значениям, в то время как в септах остается достаточно высоким на всем протяжении плаценты. Терапевтическое влияние антибиотиков на хламидиоз во время беременности проявляется снижением общего объема клеточно-ядерного материала в базальной пластинке на всем протяжении плаценты. После лечения снижается количество К-клеток и повышается число больших децидуальных клеток.

Заключение. Терапевтическое действие антибиотиков на морфологические изменения клеточного аппарата плаценты при лечении хламидиоза оказывается малоэффективным: при их использовании наблюдаются слабые клеточно-пролиферативные процессы на фоне значительного снижения иммунорегуляторных функций.

Ключевые слова: плацента; хламидиоз; децидуальные клетки; ядерно-цитоплазматическое отношение; метод вариационной кривой.

English

Assessment of Antibacterial Therapy of Chlamydiosis During Pregnancy in Placenta

O.V. Peretyat'ko, Researcher, Functional Morphology Laboratory;

A.S. Pulikov, MD, DSc, Professor, Head of Functional Morphology Laboratory

Scientific Research Institute of Medical Problems of the North, 3g P. Zheleznyak St., Krasnoyarsk, 660022, Russian Federation

The aim of the investigation was to assess morphologically an antibacterial therapy of chlamydiosis during pregnancy relying on structural and functional changes of decidual cells of placenta.

Materials and Methods. We studied 6000 decidual cells from three placental areas (central, paracentral and marginal) by means of histostereometry using standard histological techniques. The cells were taken from puerperas, who had in their past histories untreated chlamydiosis and chlamydiosis treated by antibacterial drugs during pregnancy. We measured diameters of cells and their nuclei, calculated cell number per 1 mm². Decidual cells were classified by cell populations, and nuclear volume variation curves were plotted.

Results. The placentas infected by *Chlamydia trachomatis* were found to have decreased cell proliferation mechanisms and diminishing total nuclear volume to placental periphery with compensatory processes being concentrated in the paracentral area. All these changes were caused mainly by the fraction of small decidual cells. Primarily, basal lamina responded to antibacterial therapy by decreased volume of cells, their nuclei and cytoplasm in the marginal area of placenta. Moreover, nuclear cytoplasmic ratio in basal lamina was near to normal, while in septa it remained rather high throughout the placenta. A therapeutic effect of antibiotics on chlamydiosis during pregnancy was shown by the decrease of total volume of cellular-nuclear material in basal lamina throughout the placenta. After therapy, K-cell count decreased and large decidual cell count grew.

Для контактов: Перетяtko Ольга Викторовна, e-mail: peretyatkooolga@mail.ru

Conclusion. Antibiotics have low therapeutic effect on morphological changes of placental cells in chlamydiosis treatment: cell proliferative processes are weak against the significant decrease of immunoregulatory functions.

Key words: placenta; chlamydiosis; decidual cells; nuclear cytoplasmic ratio; variation curve method.

Внутриутробное инфицирование плода остается важной медико-социальной проблемой современного акушерства и перинатологии.

Инфекция, вызываемая *Chlamydia trachomatis*, во всем мире является наиболее распространенным заболеванием, передаваемым половым путем, она постепенно вытесняет возбудителей классических венерических заболеваний, таких как сифилис и гонорея [1–3].

Результаты целого ряда исследований [4, 5 и др.] свидетельствуют о том, что наличие хламидийной инфекции половых путей у матери может приводить к повышению частоты случаев невынашивания беременности, мертворождения, преждевременных родов, преждевременного разрыва плодных оболочек, формированию фетоплацентарной недостаточности, к развитию эндометрита и сальпингита в послеродовом периоде, к рождению детей с признаками внутриутробной гипотрофии. Кроме того, наличие очагов хронического воспаления и, тем более, внутриутробного инфицирования плода вносит значимый дисбаланс в систему «мать–плацента–плод», вызывая нарушения в механизмах реализации программы внутриутробного развития и своевременных родов [6].

Риск неблагоприятных последствий инфекций во время беременности как для матери, так и для плода и новорожденного обуславливает необходимость проведения антибактериальной терапии, которая пока является одной из наиболее часто назначаемых беременным женщинам. При назначении antimicrobных препаратов беременным важно обеспечить адекватное лечение инфекции, избегая неблагоприятного воздействия на плод, так как ни одно лекарственное средство не может считаться абсолютно безопасным для применения во время беременности [7].

Децидуальные клетки (ДК) являются одним из основных «рабочих элементов» в плаценте. Проведенные нами исследования [8, 9] по выявлению изменений морфологии и количества децидуальных клеток при воздействии различных вариантов внутриутробных инфекций доказывают целесообразность подобных исследований.

Цель исследования — морфологическая оценка антибактериального лечения хламидиоза во время беременности на основе структурно-функциональной изменчивости децидуальных клеток плаценты.

Материалы и методы. Объектом исследования служили плаценты, полученные от родильниц, беременность которых была осложнена *Chlamydia trachomatis*. 1-ю группу составили женщины, не получавшие терапию по поводу хламидиоза, 2-ю — женщины, получавшие антибактериальную терапию по стандартным алгоритмам во время беременности. Все данные были взяты из обменных карт и историй родов. Участвующие в эксперименте родильницы были информированы о

проведении исследования и давали согласие на обработку полученного биоматериала и публикацию результатов в открытой печати.

Было исследовано 6000 ДК (1-я группа — 3000 из 5 плацент, 2-я группа — 3000 из 5 плацент) из трех зон плаценты: центральной (около пуповины), краевой (ближе к краю плаценты) и парацентральной (между ними) — по стандартным гистологическим методикам с окраской гематоксилин-эозином. Основное рабочее увеличение — $\times 400$. С помощью окуляра-микрометра определяли большой и малый диаметры ДК и ядер базальной пластинки и септ, количество ДК на 1 мм^2 площади базальной пластинки и септ. Используя полученные значения, вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение, объемы ДК, их цитоплазмы и ядер по формуле: $V = \pi/6 \cdot L \cdot B^2$ (где L — большой диаметр, B — меньший диаметр). В каждом препарате методом случайной выборки проводили измерение каждого из исследуемых параметров 100 раз. На основании вычисленных диаметров стромальные ДК базальной пластинки и септ были распределены по клеточным популяциям на К-клетки, малые и большие ДК [10]. Кроме того, составляли вариационные кривые объема ядер ДК базальной пластинки и септ с шагом в 50 и 100 мкм^3 .

Полученные результаты подвергались статистической обработке и сравнению с использованием программного продукта Statistica 6.0.

Результаты. Данные морфометрического исследования плаценты (см. таблицу) свидетельствуют, что при нелеченом хламидиозе объем ДК статистически значимо увеличивается от центра к периферии плаценты при максимуме в парацентральной зоне, как в базальной пластинке и септах, так и в септах относительно базальной пластинки. В то же время при корректируемой патологии (антибиотикотерапия в процессе беременности) в базальной пластинке данный показатель достоверно снижен в краевой зоне относительно всех остальных зон и септ, а также по сравнению с группой нелеченого хламидиоза. В септах он остается на одном уровне на всем протяжении плаценты, статистически значимо снижаясь в парацентральной зоне и повышаясь в краевой относительно базальной пластинки. Кроме того, в этих зонах наблюдается влияние антибактериальной терапии в виде статистически значимого снижения объемов ДК.

Объем ядер ДК при обоих вариантах течения беременности статистически значимо снижался к краевой зоне плаценты как в базальной пластинке, так и в септах. При сравнении данного показателя в разных фракциях плаценты отмечено, что при корректируемом хламидиозе в септах значения были статистически значимо выше таковых в базальной пластинке, в то время как при нелеченой патологии данный показатель

Характеристики децидуальных клеток базальной пластинки и септ в плаценте беременных при хламидиозе

Показатели	Центральная зона		Парацентральная зона		Краевая зона	
	Хламидиоз	Хламидиоз леченый	Хламидиоз	Хламидиоз леченый	Хламидиоз	Хламидиоз леченый
Базальная пластинка						
Объем ДК, мкм ³	2602,46±62,89	2695,17±102,74	2940,02±72,46*	2900,24±105,15	2841,58±54,67*	2212,54±60,53* ^{#v}
Объем (V ₁) ядер ДК, мкм ³	303,82±6,78	280,59±15,59	309,29±8,37	257,65±9,24 ^v	262,46±5,56* [#]	206,89±5,98* ^{#v}
Объем (V ₂) цитоплазмы ДК, мкм ³	2298,64±61,52	2414,58±93,49	2630,73±69,41*	2642,59±100,56	2579,12±51,94*	2005,64±58,53* ^{#v}
ЯЦО (V ₁ /V ₂)	0,170±0,010	0,120±0,004 ^v	0,140±0,010*	0,110±0,004* ^v	0,110±0,002* [#]	0,110±0,004
Количество ДК на 1 мм ²	1438,05±16,65	1032,81±22,64 ^v	1226,42±22,49*	928,13±14,55* ^v	1213,75±16,92*	1021,09±22,56* ^{#v}
Септы						
Объем ДК, мкм ³	2535,95±58,76	2620,84±77,72	3221,91±74,76**	2602,21±98,22* ^v	2984,25±60,23* [#]	2644,26±67,33* ^v
Объем (V ₃) ядер ДК, мкм ³	306,29±5,47	332,62±12,59* ^v	320,30±10,19	341,82±13,10	284,88±6,83* [#]	308,80±8,71* ^{#v}
Объем (V ₄) цитоплазмы ДК, мкм ³	2229,66±57,03	2288,22±70,10	2901,62±72,26**	2260,39±89,19* ^v	2699,37±58,32* [#]	2335,45±64,12* ^v
ЯЦО (V ₃ /V ₄)	0,160±0,003 ⁺	0,150±0,010 ⁺	0,130±0,010*	0,160±0,004* ^v	0,130±0,003**	0,150±0,005* ^{#v}
Количество ДК на 1 мм ²	1338,15±23,48 ⁺	957,81±20,73* ^v	1156,15±16,92**	1101,56±26,04**	1121,88±14,96**	1046,09±19,79* ^v

Примечание: * — статистически значимая разница значений с центральной зоной (p<0,05); # — с парацентральной зоной; + — при сравнении базальной пластинки и септ в пределах одной зоны; v — по сравнению с группой нелеченого хламидиоза. Здесь ДК — децидуальные клетки; ЯЦО — ядерно-цитоплазматическое отношение.

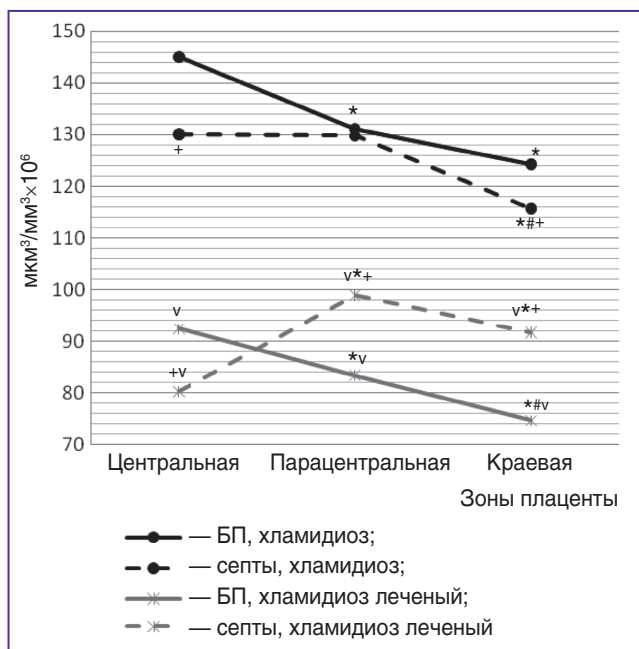


Рис. 1. Общие объемы децидуальных клеток в базальной пластинке (БП) и септах на 1 мм³. Здесь: * — статистическая значимость различий значений (p<0,05) со значениями центральной зоны; # — со значениями парацентральной зоны; + — со значениями базальной пластинки; v — с группой «хламидиоз»

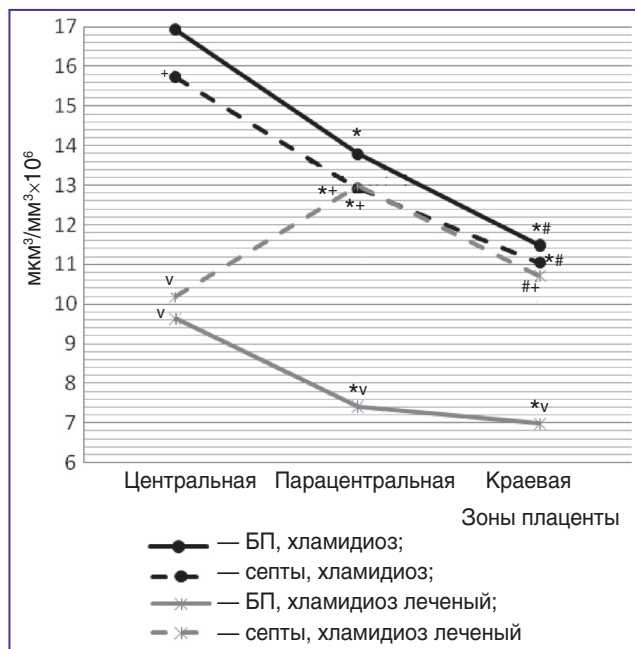


Рис. 2. Общие объемы ядер децидуальных клеток в базальной пластинке (БП) и септах на 1 мм³. Здесь: * — статистическая значимость различий значений (p<0,05) со значениями центральной зоны; # — со значениями парацентральной зоны; + — со значениями базальной пластинки; v — с группой «хламидиоз»

был достоверно выше лишь в краевой зоне плаценты. Кроме того, терапевтическое влияние антибиотиков проявлялось в виде достоверного снижения объемов

ядер в парацентральной и краевой зонах базальной пластинки, снижения в септах краевой зоны и повышения — в центральной.

Показатели объемов цитоплазмы ДК изменялись согласно изменениям объемов ядер в обратной зависимости как в септах, так и в базальной пластинке.

Обсуждаемые выше показатели отразились в значениях ядерно-цитоплазматических отношений, которые при некорректируемой патологии достоверно снижались к периферии плаценты как в базальной пластинке, так и в септах, в то время как при леченом хламидиозе во всех зонах плаценты оставались в пределах одина-

ковых значений; однако в септах данные показатели были статистически значимо выше таковых в базальной пластинке. Влияние терапии на хламидиоз во время беременности отразилось в снижении напряжения клеток в базальной пластинке, однако эти изменения не коснулись септ плаценты.

Кроме того, при нелеченом хламидиозе наблюдалось статистически значимое снижение количества ДК к краевой зоне плаценты в базальной пластинке и септах, где эти показатели были также достоверно снижены и относительно базальной пластинки. При терапевтическом воздействии количество ДК достоверно увеличивалось к периферии плаценты лишь в септах, в то время как в базальной пластинке оставалось примерно одинаковым за исключением парацентральной зоны, где данный показатель статистически значимо снижался как относительно остальных зон, так и относительно фракции септ. Оценивая количество ДК после терапии, следует сказать, что оно достоверно уменьшилось во всех зонах и фракциях плаценты.

Вышеперечисленные изменения отразились и на общих объемах ДК и их ядер: в группе нелеченого хламидиоза (рис. 1) — в виде достоверного снижения обоих показателей к периферии плаценты в базальной пластинке и септах; в группе корректируемой патологии (рис. 2) в базальной пластинке — в статистически значимом снижении к периферии плаценты относительно всех зон и фракции септ, а также группы нелеченого хламидиоза; в септах — в достоверном увеличении данных показателей в парацентральной зоне плаценты относительно остальных зон. При этом отмечено, что общие объемы ядер в септах парацентральной и краевой зон имели практически одинаковые значения при обоих вариантах протекания беременности.

При оценке распределения ДК на популяции было выяснено, что в случае терапевтического влияния на хламидиоз (рис. 3, а) отмечается появление больших ДК за счет снижения остальных фракций, но в большей степени — фракции К-клеток. В свою очередь, в группе нелеченой патологии (рис. 3, б) наибольшее количество К-клеток характерно для базальной пластинки и септ центральной зоны плаценты, а малых ДК — для парацентральной зоны; в то время как в группе корректируемой патологии количество малых ДК остается примерно одинаковым во всех зонах и фракциях плаценты, а соотношение К-клеток и больших ДК принимает обратную зависимость направленность.

При составлении вариационных кривых

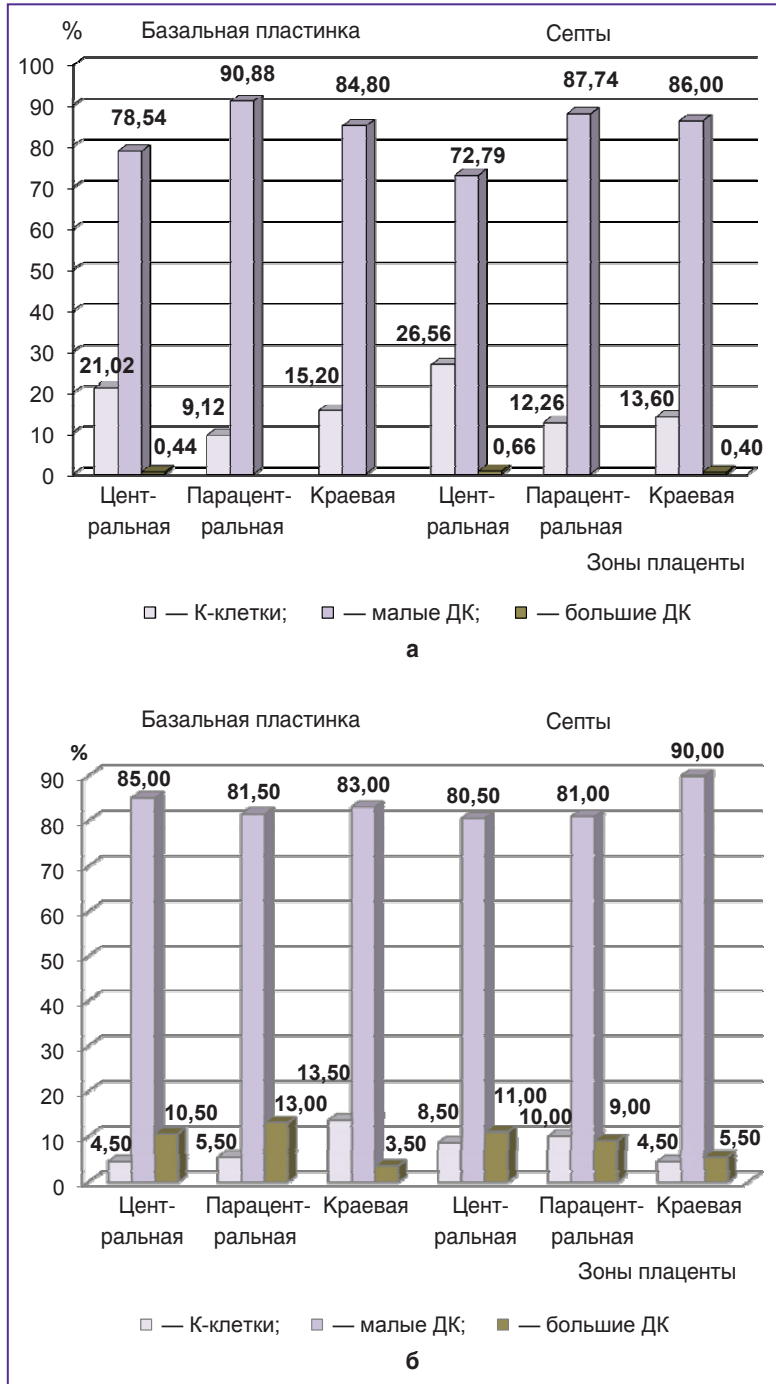


Рис. 3. Распределение по клеточным популяциям стромальных децидуальных клеток при нелеченом (а) и пролеченном (б) хламидиозе во время беременности

ядер ДК с шагом в 50 и 100 мкм³ выяснено, что основные моды образуются в пределах объемов ядер со значениями 1–100, 201–300, 501–600 мкм³. Кроме того, при распределении по частоте объемов ядер с интервалом в 50 мкм³ прослеживаются еще несколько дополнительных небольших пиков — «подмод» в классах с интервалом 351–400, 651–700 и 801–850 мкм³, из которых последние две имеют «затухающий» характер.

Обсуждение. При внутриутробном инфицировании плаценты *Chlamydia trachomatis* происходит стрессирование клеточных составляющих плаценты со снижением клеточно-пролиферативных механизмов, объема ядерного материала и, как следствие, белково-синтетической функции на протяжении плаценты от центра к периферии с концентрацией компенсаторных процессов в парацентральной зоне. В ней наблюдается увеличение объемов всех изучаемых компартментов клеток, особенно ядер, что свидетельствует об их напряженности в виде функционального набухания. Все эти изменения происходят преимущественно за счет фракции малых ДК, ответственных за синтез межклеточного вещества. Иммунорегулирующая функция ДК снижена. Исходя из морфологического анализа ДК следует предположить, что последние в базальной пластинке и септах находятся на одном уровне структурно-функционального статуса.

При введении антибактериальных препаратов в терапевтические мероприятия, направленные на купирование хламидиоза, реагирует преимущественно базальная пластинка снижением объемов клеток, их ядер и цитоплазмы в парацентральной и краевой зонах плаценты. При этом происходит аналогичное снижение иммунорегуляторных К-клеток. Формирование и увеличение количества диплоидных больших ДК позволяет предположить активизацию процессов вне- и внутриклеточной регенерации. Подобные процессы идут и в септах, но без значимых изменений морфологии ДК на всем протяжении плаценты. Кроме того, в септах краевой и в особенности парацентральной зон общий объем ДК и их ядер значительно повышается за счет функционального набухания и увеличения плоидности, что отражается в основном в повышении пролиферативной активности ядер этой фракции. При этом ядерно-цитоплазматическое отношение в базальной пластинке приближено к нормальным значениям, в то время как в септах остается достаточно высоким на всем протяжении плаценты.

Оценивая терапевтическое влияние на хламидиоз во время беременности, можно констатировать снижение общего объема клеточно-ядерного материала в базальной пластинке на всем протяжении плаценты, а в септах — только в центральной зоне. В септах парацентральной и краевой зон объем ядерного материала находится на уровне таковых же показателей при нелеченом хламидиозе. После лечения снижается количество К-клеток и повышается число больших ДК, что свидетельствует о снижении иммуномодулирующих и повышении клеточно-регенераторных процессов с продукцией плацентарных белков и гормонов. Это же подтверждается и объемом ядер и ядерно-цитоплазматическим отношением,

которое в септах выше на всем протяжении плаценты в группе терапевтического хламидиоза.

Заключение. Терапевтическое действие антибиотиков на морфологические изменения клеточного аппарата плаценты при лечении хламидиоза оказывается малоэффективным, так как при их использовании наблюдаются слабые клеточно-пролиферативные процессы на фоне значительного снижения иммунорегуляторных функций.

Финансирование исследования. Исследование не финансировалось какими-либо источниками.

Конфликт интересов. У авторов нет конфликта интересов.

Литература

1. Хамадьянов У.Р., Русакова Л.А., Хамадьянова А.У. и др. Внутриутробное инфицирование плода: современный взгляд на проблему. Российский вестник акушера-гинеколога 2013; 5: 16–20.
2. Land J.A., Van Bergen J.E., Morré S.A., Postma M.J. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* infection in women and the cost-effectiveness of screening. Hum Reprod Update 2010; 16(2): 189–204, <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmp035>.
3. Кубанова А.А., Лесная И.Н., Кубанов А.А. и др. Анализ эпидемиологической ситуации и динамика заболеваемости инфекциями, передаваемыми половым путем, и дерматозами на территории Российской Федерации. Вестник дерматологии и венерологии 2010; 5: 4–21.
4. Baud D., Regan L., Greub G. Emerging role of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like organisms in adverse pregnancy outcomes. Curr Opin Infect Dis 2008; 21(1): 70–76, <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f3e6a5>.
5. Марьянян А.Ю., Протопопова Н.В., Дружинина Е.Б. Течение родов и послеродового периода у женщин уреамикоплазменной инфекцией в зависимости от исхода лечения. Сибирский медицинский журнал 2011; 5: 101–104.
6. Трунов А.Н., Маринкин И.О., Обухова О.О. и др. Риск внутриутробного инфицирования плода, значимость иммунных нарушений в системе мать-плацента-плод. Аллергология и иммунология 2011; 12 (3): 259–262.
7. Стецюк О.У., Андреева И.В. Актуальные аспекты применения макролидов при беременности и лактации. Клиническая микробиология и антимикробная терапия 2010; 1: 41–53.
8. Перетятко О.В., Пуликов А.С. Особенности реакции децидуальных клеток плаценты при уреоплазмозе, после его лечения антибиотиками во время беременности. Врач-аспирант 2013; 6.3(61): 446–454.
9. Перетятко О.В., Пуликов А.С. Реакция децидуальных клеток при хламидийном поражении плаценты. В мире научных открытий 2013; 3(39): 90–116.
10. Кветной И.М., Айламазян Э.К., Лапина Е.А., Колобов А.В. Сигнальные молекулы — маркеры зрелости плаценты. М: МЕДпрессинформ; 2005; 96 с.

References

1. Khamad'ianov U.R., Rusakova L.A., Khamad'ianova A.U., et al. Intrauterine fetal infection: the present view of the problem. *Rossiyskiy vestnik akushera-ginekologa* 2013; 5: 16–20.
2. Land J.A., Van Bergen J.E., Morré S.A., Postma M.J.

Epidemiology of Chlamydia trachomatis infection in women and the cost-effectiveness of screening. *Hum Reprod Update* 2010; 16(2): 189–204, <http://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmp035>.

3. Kubanova A.A., Lesnaya I.N., Kubanov A.A., et al. Analysis of the epidemiological situation and dynamics of std and dermatosis morbidity in the territory of the russian federation. *Vestnik dermatologii i venerologii* 2010; 5: 4–21.

4. Baud D., Regan L., Greub G. Emerging role of Chlamydia and Chlamydia-like organisms in adverse pregnancy outcomes. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21(1): 70–76, <http://dx.doi.org/10.1097/QCO.0b013e3282f3e6a5>.

5. Maryanyan A.Yu., Protopopova N.V., Druzhinina E.B. The course of delivery and postnatal period in the women with ureamicoplasmas infection depending on the outcome of the treatment. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)* 2011; 5: 101–104.

6. Trunov A.N., Marinkin I.O., Obukhova O.O., et al. Risk

of intrauterine fetal infection, significance of dysimmunity in mother–placenta–fetus system. *Allergologiya i immunologiya* 2011; 12(3): 259–262.

7. Stetsiouk O.U., Andreeva I.V. Emerging concepts in use of macrolides in pregnancy and lactation. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya terapiya* 2010; 1: 41–53.

8. Peretyatko O.V., Pulikov A.S. The peculiarities of response of decidual placental cells in ureaplasmosis, after antibiotic treatment during pregnancy. *Vrach-aspirant* 2013; 61(6 part 3): 446–454.

9. Peretyatko O.V., Pulikov A.S. Decidual cells reaction on chlamydial damage of placenta. *V mire nauchnykh otkrytiy* 2013; 3(39): 90–116.

10. Kvetnoy I.M., Aylamazyan E.K., Lapina E.A., Kolobov A.V. *Signal'nye molekuly — markery zrelosti platsenty* [Signal molecules are the markers of placenta maturity]. Moscow: MEDpressinform; 2005.