

УДК 618.3-06-07:578.825.12

DOI: 10.12737/article_59360bd64c0640.82215175

**ПРИЧИНЫ И ДИАГНОСТИКА РАННЕГО НЕВЫНАШИВАНИЯ ПРИ
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ****К.К.Петрова***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания», 675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22***РЕЗЮМЕ****К.К.Petrova***Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, 22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

Цель исследования – анализ зависимости частоты раннего невынашивания от показателей специфического иммунного ответа у серопозитивных к цитомегаловирусу (ЦМВ) беременных. В проспективный анализ по типу случай-контроль включены 150 женщин на первом триместре беременности, из них 100 ЦМВ-серопозитивных (основная группа) и 50 ЦМВ-серонегативных (контрольная группа). На первом этапе исследования все беременные из основной группы были разделены на две подгруппы: с обострением цитомегаловирусной инфекции и латентным течением заболевания. На втором этапе, в зависимости от исхода беременности, женщины основной группы были разделены на подгруппы – начавшийся самопроизвольный выкидыш с прерыванием беременности на сроке до 12 недель и с пролонгированной беременностью. Оценка маркеров активности цитомегаловирусной инфекции в биологическом материале (кровь, содержимое цервикального канала, соскоб с буккального эпителия, ворсинчатый хорион) проводилась сероиммунологическими методами и ПЦР-анализом. В ходе обследования ЦМВ-серопозитивных женщин на первом триместре беременности установлена прямая зависимость частоты невынашивания и характера клинических проявлений от специфического иммунного ответа. У ЦМВ-серопозитивных женщин, чья беременность закончилась самопроизвольным абортom на сроке до 12 недель, выявлены маркеры высокоактивной инфекции. При более низком уровне активности показателей специфического иммунного ответа в 60% случаев диагностирована угроза прерывания с пролонгацией беременности; при латентном течении заболевания риск развития осложнений беременности минимален (у 18%) и статистически не отличается от контрольной группы (у 15%). Полученные данные позволили разработать алгоритм по отнесению ЦМВ-серопозитивных женщин в группы риска по развитию угрозы прерывания ранних сроков беременности.

Ключевые слова: цитомегаловирусная инфекция, беременность, угроза прерывания беременности.

SUMMARY**CAUSES AND DIAGNOSTIC OF MISCARRIAGE
IN EARLY PREGNANCY IN WOMEN WITH
CYTOMEGALOVIRUS INFECTION**

The aim of the study was to analyze the relationship between early miscarriage and specific immune response parameters in CMV-seropositive pregnant women. Retrospective analysis included 150 women in the first trimester of pregnancy, 100 of them were CMV-seropositive (main group) and 50 were CMV-seronegative (control group). At the first stage of the study, all pregnant women from the main group were divided into two subgroups: with exacerbation of cytomegalovirus (CMV) infection and with the latent course of the disease. At the second stage, all women of the main group were divided into subgroups, depending on the outcome of pregnancy: an incipient abortion with pregnancy termination at the gestational age out of 12 weeks and with prolonged pregnancy. The assessment of CMV infection activity markers in biological material (blood, cervical canal lining, buccal epithelium scraping, villous chorion) was performed by seroimmunological methods and PCR analysis. The direct dependence of the frequency of miscarriage and the nature of clinical manifestations on a specific immune response was established in the course of a study of CMV-seropositive women in the first trimester of pregnancy. Markers of highly active infection were detected in CMV-seropositive women, whose pregnancy ended in spontaneous abortion for up to 12 weeks of pregnancy. At a lower level of activity of specific immune response parameters, the threatened abortion with prolongation of pregnancy was diagnosed in 60% of cases; with the latent course of the disease, the risk of pregnancy complications was minimal (in 18%) and statistically did not differ from the control group (in 15%). The obtained data made it possible to develop an algorithm for assigning CMV-seropositive women to risk groups for developing a threatened miscarriage in early pregnancy.

Key words: cytomegalovirus, pregnancy, threatened abortion.

Демографическая ситуация в России продолжает характеризоваться низкой рождаемостью и высокой общей смертностью. К числу наиболее актуальных и важных как в научно-практическом, так и медико-социальном аспектах проблем относится невынашивание беременности, частота которого составляет 18-20% и

не имеет тенденции к снижению, несмотря на многочисленные и высокоэффективные методы диагностики и лечения, разработанные в последние годы [1, 5].

Среди причин невынашивания беременности выделяют хронические инфекции (60-70%), генетические изменения эмбриона (кариотипа плода) – 40-50%, тромбофилию (генетические формы) – 30-50% и ряд других факторов [2, 4].

Реактивации хронических инфекций способствуют иммунологические изменения, касающиеся как клеточного, так и гуморального звена иммунитета [3]. Безусловными патогенами являются вирусы краснухи, простого герпеса, цитомегаловируса (ЦМВ), токсоплазмы (TORCH-инфекции) [1, 5, 7]. У 78-85% пациенток с невынашиванием беременности персистируют цитомегаловирусы и вирусы простого герпеса. При определении локализации возбудителя в тканях хориона наиболее часто выявляют экспрессию возбудителя в трофобластическом эпителии и стромальных клетках ворсин, что свидетельствует о проникновении возбудителей за плацентарный барьер [6, 7]. Следует указать и на то, что в России, по сравнению с Западной Европой и Северной Америкой, среди беременных имеет место серопозитивность по отношению к ЦМВ и высокий уровень avidности антител иммуноглобулина (Ig) G (90% от общего числа обследуемых), что указывает на длительную персистенцию вируса [8].

Вместе с тем, исследований по изучению частоты и характера невынашивания при ЦМВ инфекции на первом триместре беременности нет. В ранних наших работах была предпринята попытка анализа влияния показателей специфического иммунного ответа на развитие угрозы прерывания беременности [9].

Цель исследования – анализ зависимости частоты раннего невынашивания от показателей специфического иммунного ответа у ЦМВ-серопозитивных беременных.

Материалы и методы исследования

Проведено проспективное исследование по типу случай-контроль 150 женщин на первом триместре беременности (7-11 недель). Из них 100 женщин были ЦМВ-серопозитивными (основная группа) и 50 ЦМВ-серонегативными (контрольная группа). Все беременные из основной группы на первом этапе исследования были разделены на две подгруппы, соответственно, с обострением ЦМВ инфекции – 1-я подгруппа (50 случаев) и латентным течением заболевания – 2-я подгруппа (50 случаев).

На втором этапе, в зависимости от исхода беременности, женщины основной группы были разделены на подгруппы: начавшийся самопроизвольный выкидыш с прерыванием беременности на сроке до 12 недель (подгруппа 1а) – 15 случаев, и с пролонгированной беременностью (подгруппа 1б) – 85 случаев.

Критериями включения в исследование явились: хроническая ЦМВ-инфекция (обострение в первом триместре беременности или ее латентное течение),

стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции.

Критерии исключения из исследования: первичная ЦМВ-инфекция, обострение других воспалительных экстрагенитальных заболеваний, наличие передающихся половым путем инфекций, возраст старше 27 лет, аномалии развития половых органов, один и более самопроизвольных выкидышей при сроке беременности 10 недель и более.

Клинический диагноз первичной ЦМВ устанавливался по наличию в периферической крови антител класса IgM к ЦМВ, низкоавидных IgG (индекс avidности менее 65%), а также ДНК ЦМВ, выявленной методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови; обострение хронической ЦМВ инфекции – по наличию IgM к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс avidности более 65%), а также ДНК ЦМВ в соскобах буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки.

Обследование проводили с учетом Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008) и Правил клинической практики в Российской Федерации, утвержденных приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. №266. Все женщины подписали письменное информационное согласие.

У обследуемых взятие крови для ПЦР проводили в стандартные вакуумные пробирки с коагулянтом в количестве 5 мл. Для серологических исследований использовали кровь, не содержащую коагулянты. Выделение мононуклеарных клеток крови для ПЦР проводилось с использованием раствора фиколл-урографина плотностью 1,077 г/мл (НПО ДНК-технология, Россия). Серологические исследования выполняли в парных сыворотках с интервалом 10-14 сут. Утренняя порция мочи для ПЦР-анализа собиралась в стерильный контейнер объемом 60 мл. Забор буккального эпителия и содержимого цервикального канала производили стерильным тупфером в стандартные пластиковые пробирки с физиологическим раствором объемом 0,5 мл. Ворсинчатый хорион для ПЦР-анализа забирали сразу после медицинского вмешательства по случаю начавшегося самопроизвольного аборта.

Определение типоспецифических антител IgM и IgG (качественный и количественный анализ), avidности антител класса IgG в крови осуществлялось методами иммуноферментного анализа на микропланшетном ридере Stat Fax-2100 с использованием тест-систем ЗАО Вектор-Бест (Россия), выявление ДНК ЦМВ в биологическом материале (кровь, моча, содержимое цервикального канала, соскоб с буккального эпителия, ворсинчатый хорион) – методами ПЦР на аппарате ДТ-96 с использованием наборов НПО ДНК-технология (Россия).

Эхографическое обследование проводилось на аппарате ультразвуковой диагностики SonoScape S6 в режиме импульсного и цветного доплеровского картирования.

Статистический анализ и обработку данных прово-

дили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для определения достоверности различий использовали непарный параметрический критерий Стьюдента. Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего арифметического ($M \pm m$). Для оценки равенства дисперсий между независимыми выборками применяли критерий Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Для определения связи между показателями использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты исследования и их обсуждение

Средний возраст беременных в основной группе составил $24,6 \pm 0,4$ года, в контрольной – $23,4 \pm 0,5$ года, в подгруппах 1 и 2 статистически значимых различий не было ($p > 0,05$).

Анализ сероиммунологических показателей специфического иммунного ответа показал, что у всех беременных подгруппы 1а уровень антител IgM к ЦМВ повышался до $2,0 \pm 0,7$ ЕД/мл (ОПкр = $0,210$ ЕД/мл), что в 2,85 раза выше, чем в подгруппе 1б ($p < 0,001$). При этом титр антител IgG к ЦМВ был на уровне 1:1600, что в 2 раза выше, чем в подгруппе 1б ($p < 0,001$) и в 4 раза выше, чем в подгруппе 2 ($p < 0,001$). Средние значения индекса avidности антител IgG к ЦМВ были на уровне $88 \pm 1,0\%$, что в 1,1 раза ниже, чем в подгруппах 1б и 2 ($p < 0,05$), но выше граничных значений, что указывало на реактивацию хронической ЦМВ инфекции и возможные нарушения в созревании специфического по отношению к ЦМВ IgG, усиливающие антигенную нагрузку [11]. ДНК ЦМВ во всех случаях обнаруживался в содержимом цервикального канала, что увеличивало риск вертикального инфицирования провизорных и эмбриональных клеточных структур. Подтверждением явилось выявление в 27% случаев ДНК ЦМВ в ворсинчатом хорионе.

В подгруппе 1б титр антител IgM к ЦМВ был ниже, чем в подгруппе 1а, и составил $0,7 \pm 0,2$ ЕД/мл ($p < 0,001$). Значения титра антител IgG к ЦМВ в 85,7% случаев были на уровне 1:800, у 14,3% составили 1:1600. Индекс avidности антител IgG не превышал значений $96 \pm 1,0\%$ ($p < 0,001$). В 11,4% случаев ДНК ЦМВ выявлялся в содержимом цервикального канала и в 88,6% случаев – в соскобе с буккального эпителия, что статистически значимо отличалось от результатов в подгруппе 1а и свидетельствовало об активации хронической инфекции, но с более низким уровнем вирусной нагрузки.

Оценивая результаты обследования беременных подгруппы 2, следует указать на то, что все они имели в крови только типоспецифические антитела IgG к ЦМВ с титром 1:400, что статистически значимо ниже, чем в подгруппах 1а и 1б ($p < 0,001$). Значения индекса avidности значимо не отличались от показателей в подгруппе 1б и составили $97 \pm 1,3\%$ ($p > 0,05$). ДНК ЦМВ в биологическом материале выявлен не был, что указывало на латентное течение хронической ЦМВ инфек-

ции.

При оценке характера течения беременности у женщин в данных подгруппах обращало внимание то, что в подгруппе 1а у всех участниц исследования беременность закончилась самопроизвольным прерыванием на сроке до 12 недель, несмотря на проводимую сохраняющую терапию. Клинически это проявлялось тянущими болями внизу живота (у 100%), мажущими кровянистыми выделениями из половых путей (у 100%). По данным ультразвукового исследования выявлены гипертонус миометрия (у 80%), ретрохориальная гематома (у 68%) и предлежание хориона (у 70%).

В подгруппе 1б в 60% случаев диагностирована угроза прерывания с последующей пролонгацией беременности, клинически сопровождавшаяся тянущими болями внизу живота (у 68%), мажущими кровянистыми выделениями из половых путей (у 47%); по данным УЗИ гипертонус миометрия (у 41%), ретрохориальная гематома (у 24%) и предлежание хориона (у 48%).

Клинические признаки угрозы прерывания в подгруппе 2 диагностированы у 18% обследуемых, что сопровождалось тянущими болями внизу живота (у 8%), гипертонусом миометрия (у 8%) и предлежанием хориона (у 5%).

В контрольной группе признаки угрозы прерывания беременности выявлены у 15% женщин, которые клинически проявлялись тянущими болями внизу живота (у 8%), гипертонусом миометрия (у 7%) и предлежанием хориона (у 4%).

При оценке зависимости частоты невынашивания беременности и характера клинических проявлений от специфического иммунного ответа была установлена тесная прямая зависимость ($p < 0,05$).

Следовательно, наличие высокоактивной ЦМВ инфекции на первом триместре беременности можно рассматривать как высокий фактор риска невынашивания беременности и развития самопроизвольного аборта, а ее среднеактивную форму можно считать фактором угрозы прерывания беременности, которая при адекватной терапии успешно пролонгируется. При латентном течении заболевания риск развития осложнений ранних сроков беременности минимален и не отличается от группы женщин с физиологическим течением беременности.

На основании результатов исследования был разработан алгоритм по отнесению ЦМВ-серопозитивных женщин в группы риска по развитию угрозы прерывания беременности (табл.).

Таким образом, по-нашему мнению, дифференцированное определение типоспецифических антител к ЦМВ, а также определение avidности антител класса IgG и выявление ДНК в биологическом материале позволит своевременно решать вопрос о выделении ЦМВ-серопозитивных женщин в группу высокого риска при реализации невынашивания и динамического наблюдения за такими беременными с целью снижения числа репродуктивных потерь.

Таблица

Алгоритм по отнесению ЦМВ-серопозитивных женщин в группы риска по развитию угрозы прерывания беременности

Антитела IgM	Антитела IgG	Авидность	Результат ПЦР-анализа	Интерпретация результатов
(-) отрицательный	(+) положительный Титр 1:400, не изменяется	Высокая Индекс авидности 97±1,3%	(-) отрицательный	Латентная стадия. ЦМВ в организме есть, но в настоящее время он не активен. Риск осложнений беременности минимален.
(+) ОП≤0,7ЕД/мл	(+) положительный Титр 1:800-1:1600	Высокая Индекс авидности 96±1,0%	(+) положительный (цервикальный канал, буккальный соскоб)	Стадия реактивации ЦМВ (средняя активность вируса). Угроза прерывания беременности.
(+) ОП≥2ЕД/мл	(+) положительный Титр ≥1:1600	Высокая Индекс авидности 88±1,0%	(+) положительный (цервикальный канал)	Стадия реактивации ЦМВ (высокоактивная форма). Высокий риск самопроизвольного аборта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ведищев С.И., Прокопов С.Ю., Жабина У.В., Османов Э.М. Современные представления о причинах невынашивания беременности // Вестник ТГУ. 2013. Т.18, Вып.4, С.1309–1312.

2. Доброхотова Ю.Э., Козлов П.В., Мандрыкина Ж.А., Степанян А.В. Угроза прерывания беременности в различные сроки гестации. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 144 с.

3. Дорохова Л.Н. Состояние иммунитета и течение инфекционного процесса у беременных с недифференцированными формами дисплазии соединительной ткани, носителей семейства герпес-вирусов // Медицинская иммунология. 2011. Т.13, №2-3, С.175–180.

4. Жуковец И.В., Целуйко С.С. Особенности формирования хориона у женщин с дисфункцией гипоталамуса // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. Вып.47. С.91–97.

5. Ивахнишина Н.М., Кожарская О.В., Островская О.В., Наговицина Е.Б., Власова М.А., Мурая Е.М., Супрун С.В. Инфицированность плаценты при невынашивании беременности // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2015. Вып.56. С.88–93.

6. Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Морфофункциональная характеристика фетоплацентарного комплекса у беременных, перенесших обострение герпес-вирусной инфекции, и патоморфологические изменения в органах плода // Архив патологии. 2010. Т.72, №4. С.47–49.

7. Потапов В.П., Пекарев О.Г., Надеев А.П. Факторы риска и цитоморфологическая характеристика хориона в генезе самопроизвольного прерывания беременности в первом триместре // Акушерство, гинекология и репродукция. 2012. Т.6, №3. С.39–44.

8. Смирнова А.И., Россихина Е.В., Дюпина Н.С. Роль цитомегаловирусов в акушерской патологии и неонатологии // Вятский медицинский вестник. 2010.

№4. С.41–47.

9. Andrievskaya I.A., Lucenko M.T., Babenko O.P. Specific and non-specific factors of humoral immunity as markers for pregnancy loss in women with cytomegalovirus infection // International Journal of Biomedicine. 2015. Vol.5. №4. P.184–187. doi: 10.21103/Article5(4)_OA2

10. Bonalumi S., Tropanese A., Santamaria A., D’Emidio L., Mobili L. Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature // J. Prenat. Med. 2011. Vol.5, №1. P.1–8.

11. Prince H.E., Leber A.L. Validation of an in-house assay for cytomegalovirus immunoglobulin G (CMV IgG) avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels // Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002. Vol.9, №4. P.824–827.

REFERENCES

1. Vedishchev S.I., Prokopov S.Yu., Zhabina U.V., Osmanov E.M. Modern ideas about reasons of miscarriage. *Vestnik Tomskogo Gosudarstvennogo Universiteta* 2013; 18(4):1309–1312 (in Russian).

2. Dobrokhotova Yu.E., Kozlov P.V., Mandrykina Zh.A., Stepanyan A.V. The threat of pregnancy termination at various gestational age. Moscow: GEOTAR-Media; 2016 (in Russian).

3. Dorohova L.N. Immunity and dynamics of infections in herpesvirus-carrying pregnant women with undifferentiated forms of connective tissue dysplasia herpes viruses. *Med. Immunol.* 2011; 13(2-3):175–180 (in Russian).

4. Zhukovets I.V., Tseluyko S.S. Chorion formation peculiarities in women with hypothalamus dysfunction. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2013; 47:91–97 (in Russian).

5. Ivakhnishina N.M., Kozharskaya O.V., Ostrovskaya O.V., Nagovitsyna E.B., Vlasova M.A., Muraya E.M., Suprun S.V. Placental infection in habitual miscarriage. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2015; 56:88–93 (in Russian).

6. Lutsenko M.T., Andrievskaia I.A., Dovzhikova I.V. Morphofunctional characteristics of the fetoplacental complex in pregnant women with an exacerbation of herpes virus infection and pathomorphological changes in fetal organs. *Arkhiv patologii* 2010; 72(4):47–49 (in Russian).

7. Potapov V.P., Pekarev O.G., Nadeev A.P. Risk factors and cytomorphological characteristics of the chorion in the genesis of spontaneous abortion in first trimester. *Akusherstvo, ginekologiya i reproduksiya* 2012; 6(3):39–44 (in Russian).

8. Smirnova A.I., Rossikhina Ye.V., Dyupina N.S. Role of cytomegalovirus infection in obstetric and neonatal pathology. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik* 2010; 4:41–47 (in Russian).

9. Andrievskaya I.A., Lucenko M.T., Babenko O.P. Specific and non-specific factors of humoral immunity as markers for pregnancy loss in women with cytomegalovirus infection. *International Journal of Biomedicine* 2015; 5(4):184–187. doi: 10.21103/Article5(4)_OA2

10. Bonalumi S., Tropanese A., Santamaria A., D'Emidio L., Mobili L. Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature. *J. Prenat. Med.* 2011; 5(1):1–8.

11. Prince H.E., Leber A.L. Validation of an in-house assay for cytomegalovirus immunoglobulin G (CMV IgG) avidity and relationship of avidity to CMV IgM levels. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002; 9(4):824–827.

Поступила 31.03.2017

Контактная информация

Ксения Константиновна Петрова,
аспирант лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов
дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких,
Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22.

E-mail: MDPetrova@bk.ru

Correspondence should be addressed to

Kseniya K. Petrova,
MD, Postgraduate student of Laboratory of Mechanisms of Etiopathogenesis and Recovery
Processes of the Respiratory System at Non-Specific Lung Diseases,
Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration,
22 Kalinina Str., Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: MDPetrova@bk.ru