

ПЛАЗМА, ОБОГАЩЕННАЯ ТРОМБОЦИТАМИ (PRP): ПРИМЕНЕНИЕ У ЖЕНЩИН С НАРУШЕНИЕМ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ, ПОСЛЕ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

Фазилова М.О.¹

1. Самаркандский филиал научно-исследовательского института акушерства и гинекологии «Мать и дитя», Самарканд, Узбекистан.

Аннотация. В данном исследовании мы использовали новый метод восстановления эндометрия с плазмой, обогащенной тромбоцитами, и было доказано влияние плазмы на эндометрий. Целью исследования является - оценить эффективность плазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP) на эндометрий. Методы исследования - включали клиническо-анамнестические, клинико-лабораторные, ультразвуковые с применением доплера, иммуноферментный анализ и статистические. Результаты исследования: Всего было обследовано и изучено 80 женщин с НБ с анамнезом, разделенных на две подгруппы: Ia – 40 пациенток, получивших в рамках прекоцепционной подготовки комплексное лечение с включением плазмотерапии, в этой группе у 33 пациенток с наступившей беременностью проведено клиническое наблюдение в сроках до 22 недель; Ib – 40 пациенток, получивших стандартную терапию. Контрольную группу составили 50 здоровых беременных женщин в сроках до 22 недель без отягощенного акушерского анамнеза – отсутствие в анамнезе невынашивания беременности. Выводы: Таким образом, после проведения комплексного лечения, включая терапию ПОТ, произошло восстановление гемодинамики на всех уровнях сосудистого дерева матки. Главное преимущество доказано наступлением и благоприятным течением беременности в 82,5% наблюдений.

Ключевые слова. обогащенная тромбоцитами, PRP, эндометрия, неразвивающейся беременность.

Плохая рецептивность эндометрия является краеугольным камнем при потерях беременности, а отсутствие доказательных методов лечения ещё раз подчеркивает остроту проблемы.

В последнее время появляется все больше данных, подтверждающих положительную роль аутологичной обогащенной тромбоцитами плазмы (PRP) в лечении патологии эндометрия [1;2].

PRP — это объем плазмы, полученный путем центрифугирования цельной крови пациента, в котором количество тромбоцитов превышает исходный уровень [1; 3]. Тромбоциты представляют собой безъядерные клеточные фрагменты, развившиеся из мегакариоцитов, происходящих из костного мозга. Цитоплазма тромбоцитов состоит из двух частей: гранул с накопленным хромомером и агранулярной гиаломерой, богатой белками цитоскелета. Гранулы тромбоцитов содержат множество белков, в том числе антимикробные пептиды [1], фибронектин и витронектин, GF [включая фактор роста тромбоцитов (PDGF), эпидермальный фактор роста (EGF), трансформирующий фактор роста β -1 (TGF β -1)], фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF) [1], и цитокины [включая противовоспалительные и провоспалительные интерлейкины, интерлейкин-4 (ИЛ-4), ИЛ-8, ИЛ-13, ИЛ-17, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α) и интерферон (ИФН)- α [Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. — 2-е изд. — М.: Медицина, 2008. — 512 с.]. Эти белки секретируются в случае травм, так что тромбоциты активируются, а затем доставляются к месту повреждения или дефицита [4], позволяя PRP участвовать в пролиферации клеток, миграции, росте и заживлении тканей, неоангиогенезе [4], воспалительных процессах [5.], хемотаксисе и иммунных реакциях. Концентраты тромбоцитов можно разделить на четыре категории в зависимости от содержания в них лейкоцитов и фибрина: чистая богатая тромбоцитами плазма (P-PRP), богатая лейкоцитами и тромбоцитами плазма (L-PRP), чистый богатый тромбоцитами фибрин (P-PRF), лейкоциты и богатый тромбоцитами фибрин (L-PRF) [5]. Каждый из них имеет определенное биологическое действие и применяется в определенной клинической области. Тем не менее, общая цель состоит в том, чтобы достичь концентрации тромбоцитов, а также показателей в два-три раза в цельной крови, чтобы сделать PRP более эффективным инструментом, чем периферическая кровь, в процессах, описанных выше [5].

Обычно такой вид плазмы готовится в два этапа. Сначала путем центрифугирования из крови удаляются эритроциты и лимфоциты. Вторым этапом проводят концентрирование плазмы таким образом, чтобы содержание тромбоцитов в ней в одном миллилитре было в 5-6 раз выше, чем в естественном для пациента уровне. Во избежание агрегации тромбоцитов в плазму добавляется гепарин. После попадания в организм концентрированные тромбоциты начинают стимуляцию роста новых клеток, улучшает кровоснабжение тканей, обмен веществ,

содержащиеся в PRP собственные белки пациента не вызывают аллергических реакций.

PRP терапия привлекает внимание исследователей благодаря своим уникальным свойствам. Будучи аутологичным биологическим материалом, PRP сводит к минимуму риск иммунных реакций и инфекционных заболеваний [5]. Кроме того, применение PRP считается менее инвазивным, поскольку она производится из периферической крови.

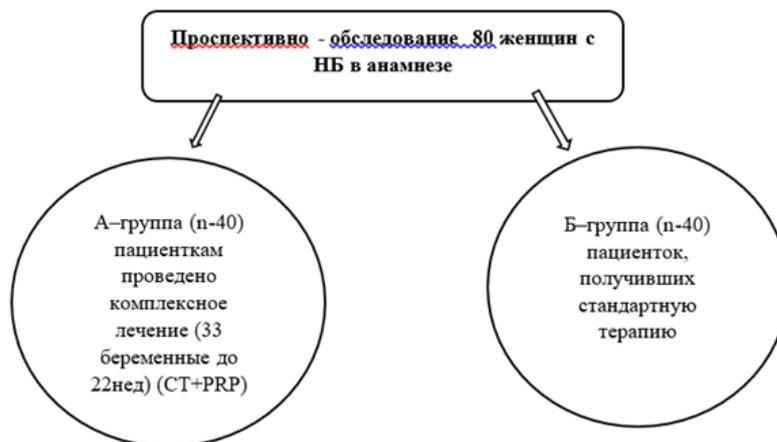
PRP обычно применяется при различных состояниях, связанных с регенеративной медициной, таких как остеоартрит [5] и повреждения связок [5] в ортопедии, омоложение кожи и выпадение волос в дерматологии [5], увеличение груди и заживление ран в ортопедии и эстетической хирургии [6]. В последних научных публикациях также отмечается применение PRP в репродукции: было обнаружено, что PRP способствует ускорению роста и жизнеспособности клеток примордиальных фолликулов или фолликулов от первичной до преантральной стадии, а также улучшает функцию яичников, увеличивает частоту беременности и родов [7].

При внутриматочной инфузии PRP многочисленные белки, несколько факторов роста (GF) и цитокины, хранящиеся в тромбоцитах, воздействуют на эндометрий посредством стимуляции пролиферации клеток и неоангиогенеза, а также противовоспалительных свойств, что приводит к успешной имплантации [7;8].

За последние пять лет резко возросло количество исследований влияния PRP репродуктивную систему женщин, на эндометрий. Большинство исследований применяют PRP в клинических случаях пациенток с тонким эндометрием, повторной неудачей имплантации (ПНИ), хроническим эндометритом (ХЭ) и синдромом Ашермана (СА), поскольку, к сожалению, до сих пор не существует эффективного средства для решения этих актуальных проблем [9; 10]. Было продемонстрировано, что внутриматочная инфузия PRP положительно влияет на репродуктивные результаты, включая толщину эндометрия, клиническую беременность, живорождение и т. д., поэтому потенциально может быть включена в различные протоколы подготовки эндометрия [11; 8;12]. Однако, пока нет единого мнения об оптимальном времени внутриматочного введения PRP. У пациенток с тонким эндометрием сроки инфузии PRP варьировали от 8-го до 17-го дня цикла ЗГТ, а у пациенток, перенесших ЭКО, PRP-терапию обычно применяли за 2 дня до переноса эмбрионов. В семнадцати из восемнадцати исследований PRP вводили в дозе 0,5–1,0 мл, в остальных — в дозе <0,5 мл [13]. При повторных неудачных имплантациях эмбрионов при ЭКО PRP плазма, введенная внутриматочно с целью подготовки эндометрия, способствовала улучшению имплантации и хорошим исходам беременности [14] даже при повторных неудачных имплантациях [15;16;17].

Еще одним возможным объяснением действия PRP на эндометрий являются ее противовоспалительные и антимикробные свойства. С одной стороны, PRP увеличивает количество хемокинов, таких как хемокиновый лиганд (CCL5), CCL7, хемокиновый лиганд с мотивом CXC (CXCL13) [Vane J.R., Bakhle Y. S., Botting R.M. Cyclooxygenases 1 and 2 // Pharmacol. Toxicol. — 1998. — N 38. — P. 97–120.], и липоксин A4 [10], который снижает притяжение полиморфноядерных нейтрофилов (PMN) к воспаленной ткани, через стенки кровеносных сосудов в просвет матки [10], что приводит к уменьшению накопления внутриматочной жидкости и, таким образом, уменьшению воспаления [10]. С другой стороны, PRP снижает экспрессию цитокинов, таких как IL-1 β , IL-8, TNF- α , COX-2 и индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS) in vitro и на животных моделях [10]. Кроме того, зарегистрированное присутствие антимикробных пептидов в секреторных гранулах тромбоцитов также может интерпретировать противовоспалительную функцию PRP [5]. При этом среда эндометрия должна быть переведена в противовоспалительное состояние в секреторной фазе, чтобы предотвратить отторжение плода[8].

Результаты исследования: Всего было обследовано и изучено Проспективно – проведено клинико-лабораторное обследование 80 женщин с НБ в анамнезе, разделенных на две подгруппы: Ia – 40 пациенток, получивших в рамках прекоцепционной подготовки комплексное лечение с включением плазмотерапии, в этой группе у 33 пациенток с наступившей беременностью проведено клиническое наблюдение в сроках до 22 недель; Ib – 40 пациенток, получивших стандартную терапию. Контрольную группу составили 50 здоровых беременных женщин в сроках до 22 недель без отягощенного акушерского анамнеза – отсутствие в анамнезе невынашивания беременности. Данная группа использована для уточнения уровня гликоделина, а так же других лабораторных исследований фигура 1.



Разработанная комплексная терапия женщин с НБ в анамнезе была этиологически и патогенетически обоснованной, поэтапной и базировалась на результатах максимально тщательного обследования.

Сущность первого этапа заключалась в элиминации повреждающего эндометрий микробного фактора посредством проведения этиотропной терапии антибиотиками широкого спектра действия с учетом установленного возбудителя и его антибиотикочувствительности. Женщинам основной группы, у которых в 52,5% случаев была выявлена уреаплазменная инфекция, в 43,8% – микоплазменная, в 58% – хламидийная (у всех имела место микст-инфекция, сочетание 2-3 видов инфекционного агента), назначался препарат группы макролидов – джозамицин (Вильпрафен), оказывающий бактерицидное действие. Терапия назначалась в дозе 500 мг по 1 таблетке 3 раза в день на протяжении 10 дней. При выявлении трихомоноза и вульво-вагинального кандидоза проводилась соответствующая стандартная терапия. Антибиотикотерапия с учетом установленного возбудителя проводилась с 1 дня менструального цикла.

В 12 (15%) наблюдениях антибиотикотерапия не проводилась ввиду отсутствия острых признаков воспаления и отрицательных анализов на ИППП.

На втором этапе лечебные мероприятия были направлены на восстановление морфофункционального потенциала эндометрия путем устранения результатов вторичных повреждений ткани – восстановление гемодинамики и активности рецепторного аппарата эндометрия. Учитывая, что при гистологическом исследовании материала, полученного при пайпель-биопсии, мы обнаружили у 72 (90%) обследованных женщин хронический эндометрит, основные предлагаемые методы воздействия на эндометрий касались именно этого аспекта. Установлено, что хронический эндометрит, в частности, предрасполагает к нарушениям пролиферации и секреторной трансформации эндометрия с развитием синдрома реконструктивно-пластической недостаточности эндометрия и последующим нарушением имплантации плодного яйца, что служит причиной неразвивающейся беременности. В связи с этим в программу лечения хронического эндометрита рекомендовано включать мероприятия, направленные на восстановление секреторной трансформации эндометрия и его рецептивности, так как хроническому эндометриту часто сопутствует дисфункция эндометрия (эндометриопатия), при которой наблюдают нарушения не только рецептивности, но и секреции гликоделина. При этом морфологическим исследованием мы выявили признаки остаточной воспалительной реакции и микроциркуляторных нарушений (см.Глава III). С учетом характера ультразвукового (на 19–22 день менструального цикла толщина эндометрия в основной группе была достоверно ниже по сравнению с контрольной и составила $9,18 \pm 0,50$ ($p < 0,001$), доплерометрического (повышения пульсационного индекса, индекса резистентности и систоло-диастолического отношения), гистологического (картина ХЭ), морфологического (наличие воспалительных инфильтратов, процессов фиброзирования, склероза базальных сосудов и гипоплазии эндометрия) назначали гормоны. Этим мы обосновали лечение, направленное на индукцию регенерации слизистой оболочки. С 14–16-го дня назначали гестагены (микронизированный прогестерон/дидрогестерон). А в первой фазе цикла вводили ПОТ.

Трехслойный эндометрий по УЗИ с четкими границами между слоями выявлен у всех 37 (92,5%) женщин подгруппы Ia и у 19 (47,5%) пациенток подгруппы Ib. Это свидетельствует о правильном ритме созревания желез эндометрия, структурных перестройках апикальной поверхности мембран желез и стромальной трансформации эндометрия в период «имплантационного окна», что влияет на концентрацию гликоделина в сыворотке крови и определяет рецептивность эндометрия. По данным ультразвукового исследования пациенток Ia подгруппы были получены достоверно значимые изменения М-эхо эндометрия (рис. 1- 2). Выявлено увеличение М-эхо на 30,3% в 1-ю фазу менструального цикла по сравнению с исходными данными: с $3,39 \pm 0,10$ мм до $4,53 \pm 0,11$ мм, где $t = 7,67$; $p < 0,001$; на 22,3% во 2-ю фазу менструального цикла: с $8,18 \pm 0,23$ мм до $10,01 \pm 0,22$ мм, $t = 5,75$; $p < 0,001$.



Рисунок 1. Пациентка, 1996 года рождения, № 239 истории болезни, I фаза менструального цикла, М-эхо – 2,7 см (до лечения)



Рисунок 2. Пациентка, 1996 года рождения, № 239 истории болезни, I фаза менструального цикла, М-эхо – 4,6см (после лечения)

Полученные данные демонстрируют явное преимущество введения ПОТ в комплекс лечебных мероприятий пациенток с НБ в анамнезе по сравнению со стандартной терапией.

Наибольшее диагностическое значение в интерпретации рецептивных свойств эндометрия по данным УЗИ имеет перистальтика эндометрия. Наличие перистальтики эндометрия сильно положительно коррелировало с толщиной М-эха ($r=0,755$; $p=0,035$), структурой и толщиной переходной зоны (Junctional Zone) ($r=0,738$; $p=0,009$), секреторной трансформацией желез эндометрия ($r=0,718$; $p=0,000$) и выраженностью сосудистого компонента стромы ($r=0,810$; $p=0,004$) (рис. 3)

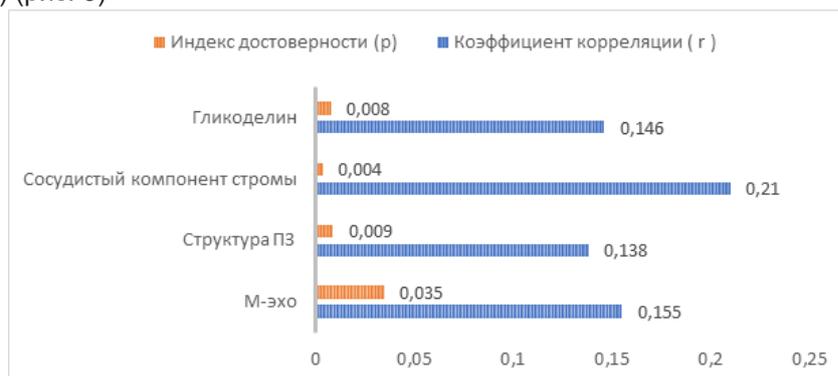


Рисунок 3. Корреляция показателей УЗИ и гликоделина с наличием правильной перистальтики эндометрия

Таким образом, именно наличие правильной перистальтической волны (от внутреннего зева к дну матки) при проведении УЗИ является ультразвуковым критерием рецептивного эндометрия.

Все вышеуказанное свидетельствует о том, что проведение терапии ПОТ у пациенток с НБ в анамнезе после завершения терапии увеличивало шанс наступления беременности.

Данные доплерометрии после проведенного курса лечения так же свидетельствуют об улучшении гемодинамики в сосудах матки (рис. 4).

ПИ снизился на фоне лечения в маточных артериях на 13,1% (с $2,652 \pm 0,008$ до $2,304 \pm 0,008$), $p < 0,001$; в аркуатных – на 17,8% (с $1,927 \pm 0,008$ до $1,585 \pm 0,009$), $p < 0,001$; в радиальных – на 15,1% (с $1,38 \pm 0,01$ до $1,17 \pm 0,01$), $p < 0,001$; в базальных – на 20,5% (с $0,99 \pm 0,01$ до $0,791 \pm 0,008$), $p < 0,001$; в спиральных – на 26,0% (с $0,73 \pm 0,02$ до $0,54 \pm 0,01$), $p < 0,001$

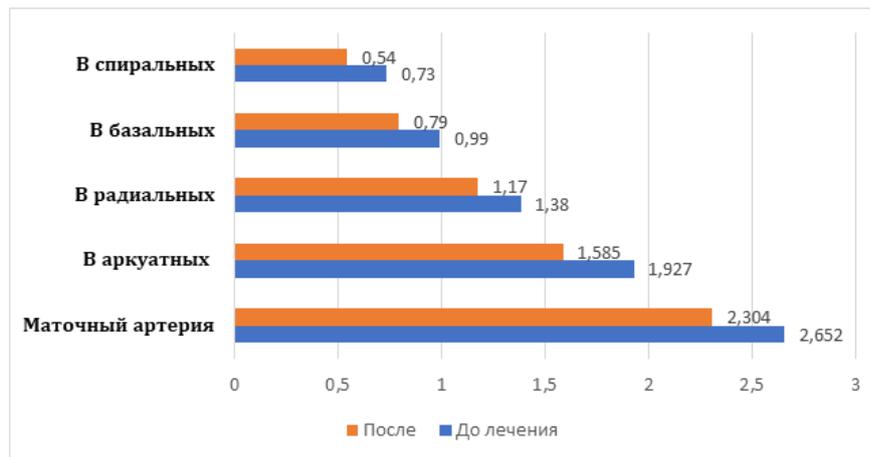


Рисунок 4. Динамика пульсационного индекса в группе пациенток, получавших комплексную терапию

Из данных, представленных на рис. 4.5 видно, что произошло восстановление гемодинамики в сосудах матки после предложенного лечения.

Аналогичные данные мы получили при исследовании других параметров доплерометрии (таб. 1)

Таблица 1

Показатели доплерометрии маточных сосудов у пациенток с НБ в анамнезе после ПОТ-лечения

Наименование артерий	Индекс резистентности		p
	До ПОТ	После ПОТ	
Маточный артерии	1,223	0,910	
В аркуатный	0,98	0,74	<0,001
В радиальных	0,831	0,589	<0,001
В базальных	0,716	0,007	<0,001
В спиральных	0,66	0,45	<0,001

ИР снизился в маточных артериях на 25,6% (с 1,223 ±0,007 до 0,910±0,009), в аркуатных – на 24,7% (с 0,98±0,01 до 0,74±0,01), p<0,001; в радиальных – на 29,2% (с 0,831±0,009 до 0,589±0,007), p<0,001; в базальных – на 28,4% (с 0,716±0,008 до 0,513±0,007), p<0,001; в спиральных – на 32,1% (с 0,66±0,01 до 0,45±0,01), p<0,001, что свидетельствует о восстановлении перфузии в эндометрии.

С/Д снизился в маточных артериях на 25,5% (с 8,349±0,008 до 6,223±0,009), p<0,001; в аркуатных – на 34,1% (с 5,280±0,008 до 3,481±0,007), p<0,001; в радиальных – на 38,3% (с 3,97±0,01 до 2,450±0,007), p<0,001; в базальных – на 25,9% (с 2,74±0,03 до 2,035±0,008), p<0,001; в спиральных – на 15,5% (с 2,21±0,01 до 1,87±0,01), p<0,001.

Заключения: Таким образом, после проведения комплексного лечения, включая терапию ПОТ, произошло восстановление гемодинамики на всех уровнях сосудистого дерева матки. Главное преимущество доказано наступлением и благоприятным течением беременности в 82,5% наблюдений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Julkunen M, Wahlstrom T, Seppälä M. Human fallopian tube contains placental protein 14. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1986;154(5):1076-1079;
2. Du J. et al. Efficacy and safety of platelet-rich plasma for the treatment of thin endometrium: a protocol for systematic review and meta-analysis //Medicine. – 2020. – Т. 99. – №. 3
3. Сулаева О.И. Получение богатой тромбоцитами плазмы: мифы и реальность// ISSN 2079-8334. Світ медицини та біології. 2017. № 3(61), стр.150-153. DOI 10.26724 / 2079-8334-2017-3-61-150-153
4. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. — 2 е изд. — М.: Медицина, 2008. — 512 с
5. Achache H., Revel A. Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation // Hum. Reprod. Update. — 2006. — Vol. 12, N 6. — P. 731–746;
6. Elevated soluble Fas ligand levels may suggest a role for apoptosis in women with endometriosis / Garcia-Velasco J.A. // J. Fertil. Steril. — 2002. — Vol. 78. — P. 855–859.
7. Дородицкая А. Д. и др. КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ ТРОМБОФИЛИИ У БЕРЕМЕННЫХ С ОТЯГОЩЕННЫМ АКУШЕРСКИМ АНАМНЕЗОМ С ЦЕЛЬЮ ПРОФИЛАКТИКИ АНТЕНАТАЛЬНОЙ ГИБЕЛИ ПЛОДА //Клинические и медико-организационные решения по сохранению репродуктивного здоровья семьи. – 2017. – С. 77-80;

8. Maleki-Hajiagha A. et al. Intrauterine infusion of autologous platelet-rich plasma in women undergoing assisted reproduction: A systematic review and meta-analysis //Journal of reproductive immunology. – 2020. – Т. 137. – С. 103078.
9. Sharara F. I. et al. A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive medicine //Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2021. – Т. 38. – С. 1003-1012;
10. Aghajanova L., Cedars M. I., Huddleston H. G. Platelet-rich plasma in the management of Asherman syndrome: case report //Journal of assisted reproduction and genetics. – 2018. – Т. 35. – С. 771-775
11. Du J. et al. Efficacy and safety of platelet-rich plasma for the treatment of thin endometrium: a protocol for systematic review and meta-analysis //Medicine. – 2020. – Т. 99. – №. 3
12. Mouanness M. et al. Use of intra-uterine injection of platelet-rich plasma (PRP) for endometrial receptivity and thickness: a literature review of the mechanisms of action //Reproductive Sciences. – 2021. – Т. 28. – С. 1659-1670.
13. Tang R. et al. Clinical evaluation of autologous platelet-rich plasma therapy for intrauterine adhesions: a systematic review and meta-analysis //Frontiers in Endocrinology. – 2023. – Т. 14
14. Soliman A. et al. How autologous platelet-rich plasma affects pregnancy and birth outcomes in women with repeated embryo implantation failure: A prisma-compliant meta-analysis //Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2023. – Т. 20. – №. 2. – С. 154
15. Liu K. et al. Autologous platelet-rich plasma intrauterine perfusion to improve pregnancy outcomes after implantation failure: A systematic review and meta-analysis //Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. – 2022. – Т. 48. – №. 12. – С. 3137-3151;
16. Maged A. M. et al. The value of platelet-rich plasma in women with previous implantation failure: A systematic review and meta-analysis //Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2023. – Т. 40. – №. 5. – С. 969-983;
17. Jin X. H., Li Y., Li D. Intrauterine interventions for women with two or more implantation failures: A systematic review and network meta-analysis //Frontiers in Endocrinology. – 2022. – Т. 13. – С. 959121
18. Носкова И. Н., Артымук Н. В. Эффективность прекоцепционной интравагинальной пелоидотерапии у женщин с потерей беременности в ранние сроки // Мать и дитя в Кузбассе. 2012. № Спецвыпуск 1. С. 113-118. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/effektivnost-prekontseptsionnoy-intravaginalnoy-peloidoterapii-u-zhenschin-s-poterey-beremennosti-v-rannie-sroki>
19. Нигаметзянова Г. Р. Неразвивающаяся беременность // Лечение и профилактика. 2017. № 2. С. 47-55. URL: <https://readera.org/nerazvivajushhajasja-beremennost-143162918>;