

ДМИТРИЕВА МАРИЯ ПЕТРОВНА

**ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОМ
РАЗРЫВЕ ПЛОДНЫХ
ОБОЛОЧЕК: ПРЕДИКЦИЯ И ПРОФИЛАКТИКА**

3.1.4 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Ростов-на-Дону – 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России), центр симуляционного обучения

Научный руководитель:

Кузнецова Наталья Борисовна - доктор медицинских наук, профессор центра симуляционного обучения ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Официальные оппоненты:

Кан Наталья Енкиновна – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Каткова Надежда Юрьевна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФДПО ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кубанский государственный медицинский университет" Министерства Здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2022 года в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д99.2.037.02 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П.Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте <https://1spbgmu.ru>.

Автореферат разослан «___» _____ 2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук

Молчанов Олег Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

По данным Всемирной организации здравоохранения (2018), ежегодно в мире преждевременно рождается около 15 млн детей, порядка 5 млн из них рождаются раньше срока вследствие преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО). ПРПО в сроке до 37 недель продолжает оставаться объектом пристального изучения по сей день, при этом самые неблагоприятные исходы имеют беременные с ПРПО до 28 недель (Гусейнова Г.Э., Радзинский В.Е., 2020; Ходжаева З.С., 2019; Di Renzo G.C., Cabero L., Facchinetti F., 2011). Недоношенность новорожденных, особенно вследствие сверхранных преждевременных родов (ПР), является основной причиной перинатальной заболеваемости и смертности и второй по распространенности причиной смертности после пневмонии у детей в возрасте до 5 лет (Абдуллаева Д.К., 2020; Крючкова О.Г., 2015; Кузьмин В.Н., 2018; Osviyanti D., Wahono W.T., 2018; Wagner P., 2016).

ПРПО составляет около 40% от всех спонтанных ПР, таким образом внося значимый вклад в перинатальные показатели по всему миру (Ванюкевич М.В, Недосейкина М.С., 2016; Тимохина Е.В., 2021; Тошева И.И., Ихтиярова Г.А., 2019; Туманова У.Н., 2017; Malik S., Gupta S., 2020; Yu H., 2015). У детей, рожденных после ПР, обусловленных ПРПО, выше смертность и заболеваемость по сравнению с детьми, родившимися после спонтанных ПР без ПРПО, и это также подтверждает предположение, что их следует рассматривать как самостоятельные клинические варианты ПР (Арушанова А.Г., 2016; Тошева И.И., Ихтиярова Г.А., 2019; Sharma D., Shastri S., 2016).

Все доказанные этиологические факторы ПРПО (асептическое воспаление, образование ретрохориальной или ретроплацентарной гематом, воздействие инфекционно-воспалительного фактора) ведут к универсальной защитной реакции организма – выработке медиаторов воспаления и запуску каскада воспалительных реакций (Джуманиязов Д.Д., Солиева У.Х., 2020; Низяева Н.В., 2019; Romero R., 2015). Индуцирование апоптоза, ремоделирование коллагена и компонентов межклеточного матрикса плодных оболочек происходят под действием многих факторов, в основе которых лежит комплекс цитокиновых реакций, и, воздействуя перекрестно, они приводят к истончению плодных оболочек и их преждевременному разрыву (Низяева Н.В., 2019; Сарыева О.П., Вахромеев А.П., Парейшвили В.В., 2020; Ушакова Г.А., 2018; Bryant-Greenwood G.D., 1998; Fortunato S.J., Lombardi S.J., 1999; Galaz J., Ramkumar M., 2020; Verbruggen S.W., 2017). Широко изучается вклад

простагландинов, цитокинов (интерлейкины – IL, фактор некроза опухолей – TNF), протеиназ (матричные металлопротеиназы – ММР, эластазы, катепсины) в процесс истончения плодных оболочек (Доброхотова Ю. Э., Тютюнник В.Л., 2016; Крукиер И.И., 2019; Flores Pliego A., 2015; Negara K.S., Zhu J., 2018; Sukhikh G.T., 2016; Yılmaz Semerci S., 2020).

От пути реализации генетически детерминированного воспалительного ответа в женском организме зависит течение беременности. На сегодняшний день в рамках теории о генетически детерминированном воспалительном ответе предусматривается несколько вариантов его реализации под воздействием альтернирующих факторов: достаточный воспалительный ответ с последующей элиминацией микроорганизмов и выздоровлением; гиперэргический воспалительный ответ, приводящий к стремительному инфицированию как матери, так и плода и гибели одного из них или обоих, и гиперэргический воспалительный ответ, приводящий к повреждению тканей и, как следствие, запуску процессов, приводящих к ПР (Михайлов А.В., Макаров О.В., 2013; Galaz J., Areia A.L., Moura P., 2019; Leibrand C.R., 2017)

При наличии у беременных идентичного микробиома во влагалище активация воспалительного каскада происходит не всегда, и это связано с тем, что данный патофизиологический процесс основан на сложном биомолекулярном взаимодействии на всех уровнях регуляции. Наивысшим уровнем регуляции является генетический. Для ряда генов про- и противовоспалительных цитокинов известны замены одиночных нуклеотидов, которые располагаются в регуляторных участках генов и оказывают влияние на транскриптомную активность, соответственно увеличивая или уменьшая уровень цитокина в плазме крови, тем самым программируя путь реализации воспалительного ответа (Белоусова В.С., 2019; Бурмистрова А.Л., Венцковский Б.М., 2016; Annells M. F., 2005; Jones N.M., 2010).

В связи с этим изучение многоуровневой структуры цитокиновой сети, расшифровка механизмов регуляции функциональной активности про- и противовоспалительных цитокинов и генетического контроля противовоспалительного ответа могут приблизить нас к решению проблемы предикции осложнений беременности, ассоциированных с воспалительным фактором, таких как ПРПО при недоношенной беременности.

Цель исследования:

Оптимизировать тактику ведения недоношенной беременности в 22–27 недель 6 дней, ассоциированной с преждевременным разрывом плодных оболочек, с учетом системного и локального цитокинового профиля матери для улучшения перинатального исхода.

Задачи исследования:

1. Установить клинико-anamnestические, молекулярно-генетические предикторы сверхранных преждевременных родов при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней.
2. Проанализировать особенности про- и противовоспалительных цитокинов на системном и локальном уровнях регуляции иммунного ответа у беременных в сроке от 22 до 28 недель в зависимости от перинатальных исходов.
3. Оценить вклад полиморфных вариантов генов про- и противовоспалительных цитокинов (IFN γ , IL10, IL12, IL18, IL1 β , IL6, IL8, TNF α) в транскриптомную активность генов у беременных в 22–27 недель 6 дней при различных перинатальных исходах.
4. Установить влияние тактики ведения беременности при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней и метода родоразрешения на перинатальную заболеваемость (сепсис новорожденных, внутрижелудочковые кровоизлияния) и смертность.
5. На основании полученных результатов разработать новые подходы к профилактике неблагоприятных перинатальных исходов при преждевременных родах, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней.

Научная новизна исследования

Впервые на основании оценки перинатальных исходов, а также многоуровневых исследований системного и локального цитокинового профиля у беременных при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней:

– рассчитана вероятность преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней, основанная на определении в крови у женщин полиморфизма провоспалительного цитокина IL18: -137G>C и концентрации в сыворотке крови провоспалительных (IL1 β , IL8, IFN γ) и противовоспалительного (IL10) цитокинов, позволяющая выделить высокую группу риска данного осложнения при превышении значения функции (P) $\geq 0,5$;

– расширены представления о факторах риска наступления преждевременных родов, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней: выявлен молекулярно-генетический маркер (генотип матери CC гена IL18: -137G>C), повышающий риск сверхранных преждевременных родов в 5,6 раза ($p = 0,001$);

– обнаружено, что гомозиготное состояние полиморфного варианта гена IL-18 в позиции -137G>C у беременных с преждевременными родами, связанными с

преждевременным разрывом плодных оболочек, ассоциировано с повышением уровня IL-18 в их крови, что подчеркивает функциональное состояние гена;

– выявлено, что у беременных с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней в нижних отделах репродуктивного тракта отмечается повышение уровней экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов (IL1 β - на 24%, TNF α – на 97%), Toll-подобного рецептора 4-го класса (на 77%), β 2-микроглобулина (на 51%); увеличение концентрации в крови провоспалительных цитокинов (IL18 – на 60%, IFN γ – на 72%, TNF α – на 22%) и снижение уровня противовоспалительного цитокина IL10 (на 32%);

– установлено, что предикторами сепсиса новорожденных от матерей со сверххранными преждевременными родами при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней являются: безводный период более двух суток (ОШ 4,1), выраженное маловодие (индекс амниотической жидкости менее 1-го перцентиля) на момент родоразрешения (ОШ 5,1); генотип матери СС гена IL18: -137G>C (ОШ 12,2).

Теоретическая и практическая значимость исследования

Установлен факт молекулярно-генетической детерминированности сверххранных преждевременных родов, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек, выражающейся в потенцировании избирательного повышения продукции определенных провоспалительных цитокинов во втором триместре беременности, при котором создаются условия, обеспечивающие формирование морфофункциональной основы для возникновения дефицитарных процессов в плодных оболочках с последующей реализацией их несостоятельности.

На основании полученных данных разработаны мероприятия, направленные на снижение частоты возникновения сепсиса у недоношенных новорожденных, заключающиеся в пролонгировании беременности не более двух суток после установки диагноза «преждевременный разрыв плодных оболочек» при индексе амниотической жидкости более 1-го перцентиля при наличии у матери генотипа СС IL18: -137G>C.

При развитии преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней у беременных с генотипом GG IL18: -137G>C рекомендуется пролонгирование беременности до срока ранних преждевременных родов (28–31 неделя 6 дней) с целью снижения перинатальной и неонатальной смертности.

Практическая значимость работы заключается в предложенном расчете вероятности преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней при интактных плодных оболочках, основанном на определении в крови у женщин

полиморфизма провоспалительного цитокина IL18: -137G>C и концентрации в сыворотке крови провоспалительных (IL1 β , IL8, IFN γ) и противовоспалительного (IL10) цитокинов, позволяющем выделить высокую группу риска данного осложнения при превышении значения функции (P) $\geq 0,5$.

Полученные результаты могут быть использованы в работе отделений патологии беременности, родильных стационаров, а также в процессе преподавания на кафедрах акушерства и гинекологии медицинских университетов.

Положения, выносимые на защиту

1. Ассоциированными со сверхранными и ранними преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней, являются: преждевременные роды в анамнезе (ОШ 7,6), рецидивирующая угроза выкидыша с ретрохориальной гематомой в первом триместре (ОШ 13,3), патологические выделения из половых путей с 12-й по 22-ю неделю, ассоциированные с вагинитом (ОШ 3,0), наличие полиморфного варианта (генотип CC) провоспалительного гена IL18: -137G>C (ОШ 5,6) в крови беременной.

2. Системный цитокиновый профиль у беременных при преждевременном излитии околоплодных вод в 22–27 недель 6 дней характеризуется повышенным уровнем провоспалительных цитокинов: IL18 (на 60%), IFN γ (на 72%), TNF α (на 22%) и сниженным уровнем противовоспалительного цитокина IL10 (на 32%) в крови; локальный цитокиновый профиль характеризуется повышением уровня экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов (IL1 β – на 24%, TNF α – на 97%), Toll-подобного рецептора 4-го класса (на 77%), β 2-микроглобулина (на 51%) и высоким уровнем индекса воспаления (85%) в нижнем отделе репродуктивного тракта.

3. Факторами риска развития сепсиса новорожденных от матерей с преждевременным разрывом плодных оболочек, родивших до 28 недель, являются: безводный период более двух суток (ОШ 4,1), выраженное маловодие (индекс амниотической жидкости менее 1-го перцентиля) на момент родоразрешения (ОШ 5,1), генотип матери CC гена IL18: -137G>C (ОШ 12,2); у родивших в сроки 28–31 неделя 6 дней – хориоамнионит с клиническими проявлениями. Пролонгирование беременности при случившемся преждевременном разрыве плодных оболочек до срока ранних преждевременных родов (28–31 неделя 6 дней) приводит к снижению перинатальной смертности в 1,5 раза, неонатальной смертности – в 2,5 раза по сравнению с родоразрешением в сроке сверхранных родов (до 28 недель).

Степень достоверности и апробация результатов

Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23, с использованием следующих

критериев: непараметрический U-критерий Манна–Уитни, критерий χ^2 Пирсона, точный двусторонний критерий Фишера, логистическая регрессия с расчетом относительного риска и отношения шансов. Для статистического анализа полученных данных привлекался сотрудник кафедры медицинской и биологической физики ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Апробация диссертационной работы проведена на заседании научно-координационного совета «Научно-организационные основы профилактики, диагностики и лечения важнейших заболеваний женщины, матери и ребенка» ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Присутствовали на заседании 20 человек. Результаты голосования: за – 20 человек, против – 0, воздержалось – 0, протокол № 3 от 11.05.2021.

Практические рекомендации внедрены в лечебную работу консультативно-диагностической поликлиники, отделения патологии беременности ГБУ РО «Перинатальный центр», основные положения научно-квалификационной работы внедрены в учебную работу Центра симуляционного обучения ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Публикации

По результатам выполненных исследований опубликовано 11 печатных работ, из них 7 – в журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК; получен патент на изобретение № 2752550 «Способ прогнозирования преждевременного разрыва плодных оболочек в сроке до 28 недель беременности», дата государственной регистрации в Государственном реестре изобретений РФ – 29.07.2021.

Личный вклад автора

Автором совместно с научным руководителем выбрана тематика, разработан дизайн и план научного исследования. Самостоятельно выполнен сбор, обработка и анализ полученного материала, формулировка основных положений диссертационной работы, подготовка научных публикаций, текста диссертации и автореферата.

Объем и структура работы.

Объем работы составляет 109 страниц компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы (183 источника, из них 89 отечественных и 94 зарубежных), содержит 16 таблиц, 8 рисунков и 2 приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В соответствии с целью и задачами разработан дизайн исследования, представленный на рисунке 1.

Исследование одобрено на заседании Локального независимого этического комитета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России (протокол заседания ЛНЭК № 19/16 от 04.10.2016).

Исследование выполнено в 2017–2019 гг. в ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России, набор материала осуществлялся в консультативно-диагностической поликлинике и отделении патологии беременности Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Перинатальный центр» (ГБУ РО «ПЦ»), лабораторные исследования выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Работа выполнена в рамках государственного задания «Стратегия снижения перинатальной смертности в группе беременных со сверхранными преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек», № госрегистрации АААА-А18-118013090209-8 от 30.01.2018.

В исследование было включено 120 беременных женщин в сроке беременности от 22 до 28 недель. Группу 1 составили 80 беременных с ПРПО в сроке от 22 до 28 недель, в группу 2 вошли 40 беременных с физиологически протекающей беременностью, без ПРПО. В зависимости от паритета обе группы были разделены на подгруппы: группа 1 – на группу 1А (первородящие, $n = 24$) и группу 1Б (повторнородящие, $n = 56$); группа 2 – на группу 2А (первородящие, $n = 20$) и группу 2Б (повторнородящие, $n = 20$). Обе группы были сопоставимы по количеству перво- и повторнородящих (см. рисунок 1). Критериями диагностики ПРПО явились: подтекание околоплодных вод при осмотре в стерильных зеркалах, положительный нитрозиновый тест, определение индекса амниотической жидкости путем ультразвукового исследования.

Критерии включения в исследование: срок беременности от 22 до 28 недель, одноплодная беременность. Критерий невключения в исследование: срок беременности более 28 недель, многоплодная беременность. Критерии исключения из

исследования: хромосомные аномалии плода, подтвержденные во время беременности с помощью молекулярного кариотипирования; подтвержденные наследственные заболевания плода; врожденные пороки плода, установленные в течение беременности; многоплодная беременность; онкологические заболевания беременной; тяжелая экстрагенитальная патология беременной; инфекции, передаваемые половым путем (острая фаза воспаления); беременность, наступившая вследствие вспомогательных репродуктивных технологий.



Рисунок 1 – Дизайн исследования. Проспективное исследование случай-контроль

Всем пациенткам, включенным в исследование, выполнены лечебные и диагностические мероприятия в объеме, предусмотренном действующим на момент исследования приказом Минздрава России от 01.11.2012 № 572н и письмом Минздрава России от 17.12.2013 № 15-4/10/2-9480 «Преждевременные роды».

Из клинических данных беременных группы 1 анализировали: срок беременности на момент родоразрешения, длительность безводного промежутка, индекс амниотической жидкости перед родоразрешением, клинические признаки хориоамнионита, способ родоразрешения.

Из числа специальных лабораторных методов были использованы:

– метод количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием реагента «Фемофлор 16» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) для оценки качественного и количественного состава биоценоза влагалища;

– молекулярно-генетический анализ для определения полиморфизмов генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL1 β , IL6, IL8, IL2, IFN γ , IL10, IL12 β , IL18, TNF α): с помощью комплекта реагентов «ПРОБА-ГС-ПЛЮС» («ДНК-Технология», Россия) выполняли выделение геномной ДНК из периферической венозной крови, стабилизированной ЭДТА; коммерческими наборами («ДНК-Технология», Россия) определяли однонуклеотидные полиморфизмы: IFNG: 874T>A, IL10: -1082G>A, IL10: -592A>C, IL10: -819C>T, IL12B: -1188C>A, IL18: -137G>C, IL18: -607G>T, IL18: -656A>C, IL1 β : -31T>C, IL1 β : 3953C>T, IL1 β : -511C>T, IL6: -174G>C, IL8: -251A>T, TNF: -238G>A, TNF: -308G>A – методом ПЦР в реальном времени с помощью детектирующего амплификатора «ДТлайт» («ДНК-Технология», Россия);

– метод ПЦР в режиме реального времени с использованием системы «ИммуноКвантэкс»® («ДНК-Технология», Россия) с целью определения профиля экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета в соскобе эпителиальных клеток нижних отделов репродуктивного тракта у женщин для оценки локального воспалительного ответа: одним из показателей системы является индекс воспаления, кроме того, в структуру системы «ИммуноКвантэкс»® включено исследование таких показателей локального воспалительного ответа, как экспрессия мРНК гена интерлейкина 1 β (IL1 β), интерлейкина 10 (IL10), интерлейкина 18 (IL18), фактор некроза опухоли α (TNF α), Toll-подобный рецептор 4-го класса (TLR4), β 2-микроглобулин (B2M); забор материала выполнялся в группе 1 – в первые сутки при постановке диагноза ПРПО в сроке от 22 до 28 недель при поступлении в ГБУ РО «ПЦ», в группе 2 – в сроке от 22 до 28 недель на амбулаторном приеме в консультативно-диагностической поликлинике ГБУ РО «ПЦ»;

– метод иммуноферментного анализа для определения концентрации

провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL1 β , IL6, IL8, IL2, IFN γ , IL10, IL12 β , IL18, TNF α) в сыворотке крови коммерческими наборами (АО «Вектор Бест», Россия) с использованием анализатора Wallac 1420 Multilaber Counter (Victor-2) (PerkinElmer, Финляндия) с помощью коммерческих наборов (АО «Вектор Бест», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст беременных группы 1 (с ПРПО) составил 29 (25; 35) лет, группы 2 (с физиологически протекающей беременностью) – 28 (25; 33) лет, группы сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$). Средний срок беременности на момент включения в исследование при постановке диагноза преждевременного разрыва плодных оболочек составил 24 недели 3 дня \pm 5 дней.

У всех беременных, включенных в исследование, был проанализирован акушерско-гинекологический анамнез. Частота встречаемости медицинских аборт, самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся беременностей, кесарева сечения, операций на шейке матки в анамнезе у беременных обеих групп не различалась. Проведен анализ особенностей предыдущих родов у повторнородящих женщин. Выявлено, что у повторнородящих группы 1 преждевременные роды в анамнезе встречались чаще, чем у повторнородящих группы 2 (в группе 1 – у 16 женщин, в группе 2 – у одной, $p = 0,031$). С помощью метода логистической регрессии установлено, что наличие преждевременных родов в анамнезе повышает в 7,6 раза вероятность преждевременных родов, ассоциированных с ПРПО, в 22–28 недель (ОШ = 7,6, 95% ДИ: [1,0; 61,6], $p = 0,03$).

Проведен сравнительный анализ течения первой половины беременности (до 22 недель) в группах 1 и 2. С помощью регрессионного анализа установлено, что наличие рецидивирующей угрозы выкидыша с ретрохориальной гематомой в первом триместре в 13,3 раза повышает вероятность преждевременных родов, ассоциированных с ПРПО, в 22–28 недель (ОШ = 13,3, 95% ДИ: [1,7; 102,8], $p < 0,001$); а наличие патологических выделений из половых путей воспалительного характера с 12-й по 22-ю неделю в 3 раза увеличивает шанс сверхраннего ПРПО (ОШ = 3,051, 95% ДИ: [1,143; 8,146], $p = 0,03$).

При анализе микробиоценоза влагалища выявлено, что у беременных группы 1 чаще встречался умеренный и выраженный анаэробный дисбиоз по сравнению с беременными группы 2 (умеренный анаэробный дисбиоз в группе 1 – у 22,5%, в группе

2 – у 5%, $p = 0,018$; выраженный анаэробный дисбиоз в группе 1 – у 15%, в группе 2 – не зарегистрировано ни одного случая, $p = 0,008$).

Проведен анализ цитокинового профиля у всех беременных, включенных в исследование. Выявлено, что у беременных группы 1 в крови была выше концентрация IL18 (на 60%), IFN γ (на 72%), TNF α (на 22%) и ниже – IL10 (на 32%) по сравнению с беременными группы 2 (таблица 1).

Таблица 1 – Концентрация цитокинов в крови у беременных клинических групп

Уровень цитокина в крови, пг/мл	Группа 1, $n = 80$ Me (Q1, Q3)	Группа 2, $n = 40$ Me (Q1, Q3)	p-value*
IL1 β	5 (3,25; 9,5)	4,9 (3,0; 8,2)	> 0,05
IL8	4,8 (2,7; 7,2)	3,05 (1,7; 5,5)	> 0,05
IL10	6,8 (4,7; 9,7)	9 (6,6; 13,6)	0,016
IL18	334 (267; 384)	209 (143; 304)	0,001
IFN- α	13,3 (7,6; 19,1)	9,7 (5,5; 15,9)	> 0,05
IFN- γ	5,85 (4,8; 7)	3,4 (2; 6,9)	0,005
TNF α	15,4 (13,5; 23,7)	12,6 (10,6; 16,0)	0,001
IL6	5,3 (4,35; 7,12)	4,35 (4,14; 8,17)	0,18

Примечание: *критерий Манна–Уитни.

Также установлено, что у беременных группы 1 в нижнем отделе репродуктивного тракта были повышены уровни экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов (IL1 β – на 24%, TNF α – на 97%), TLR4 (на 77%), B2M (на 51%) по сравнению с беременными группы 2 (таблица 2).

Таблица 2 – Локальный цитокиновый статус у беременных клинических групп в нижнем отделе репродуктивного тракта (система «ИммуноКвантэкс»)

Экспрессия мРНК гена	Группа 1, $n = 80$ Me (Q1, Q3)	Группа 2, $n = 40$ Me (Q1, Q3)	p-value*
IL1 β	5,83 (5,0; 6,1)	4,69 (4,0; 5,1)	0,034
IL10	2,26 (2,1; 2,7)	2,48 (2,3; 3,1)	>0,05
IL18	3,83 (2,9; 4,5)	4,16 (3,2; 5,4)	>0,05
TNF α	4,28 (3,8; 4,9)	2,17 (1,9; 3,2)	0,001
TLR4	3,36 (2,6; 4,3)	1,9 (1,4; 2,2)	0,042
B2M	5,7 (5,0; 6,3)	3,77 (2,9; 4,3)	0,002

Примечание: *критерий Манна–Уитни.

Локальный цитокиновый статус (нижний отдел репродуктивного тракта) у беременных группы 1 (с ПРПО) характеризовался повышенным уровнем индекса

воспаления: в группе 1 индекс воспаления составил 85% (66; 93), в группе 2 – 20% (12; 28) (p -value < 0,001, критерий Манна–Уитни).

Полученные данные (высокий уровень провоспалительных цитокинов в крови и нижнем отделе репродуктивного тракта) свидетельствуют о наличии у беременных с ПРПО гиперергического варианта воспалительного ответа, который причастен к патогенезу ПРПО.

Проведен молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов (IL1 β , IL6, IL8, IL2, IFN γ , IL10, IL12 β , IL18, TNF α). Установлено, что в группе 1 (беременные с ПРПО) частота выявления гомозигот CC по полиморфизму -137G>C гена IL 18 выше: 67% ($n = 53$) в группе 1 и 27% ($n = 10$) в группе 2 ($p < 0,001$) (рисунок 2).

На основании комплексного анализа полученных данных о характере системного и локального воспалительного ответа у беременных с ПРПО, а также результатов изучения генетических маркеров ПРПО разработан способ прогнозирования ПРПО в сроке до 28 недель беременности. Данный способ включает в себя исследование у женщин в сроке гестации до 28 недель в сыворотке крови полиморфизма провоспалительного цитокина IL18: 137G>C, концентрации в сыворотке крови цитокинов IL1 β , IL8, IL10, IFN γ . Для построения модели использовали метод логистической регрессии с пошаговым исключением (метод Вальда). Далее по формуле (1) рассчитывается вероятность преждевременного разрыва плодных оболочек (P) в сроке до 28 недель беременности:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%, \quad (1)$$

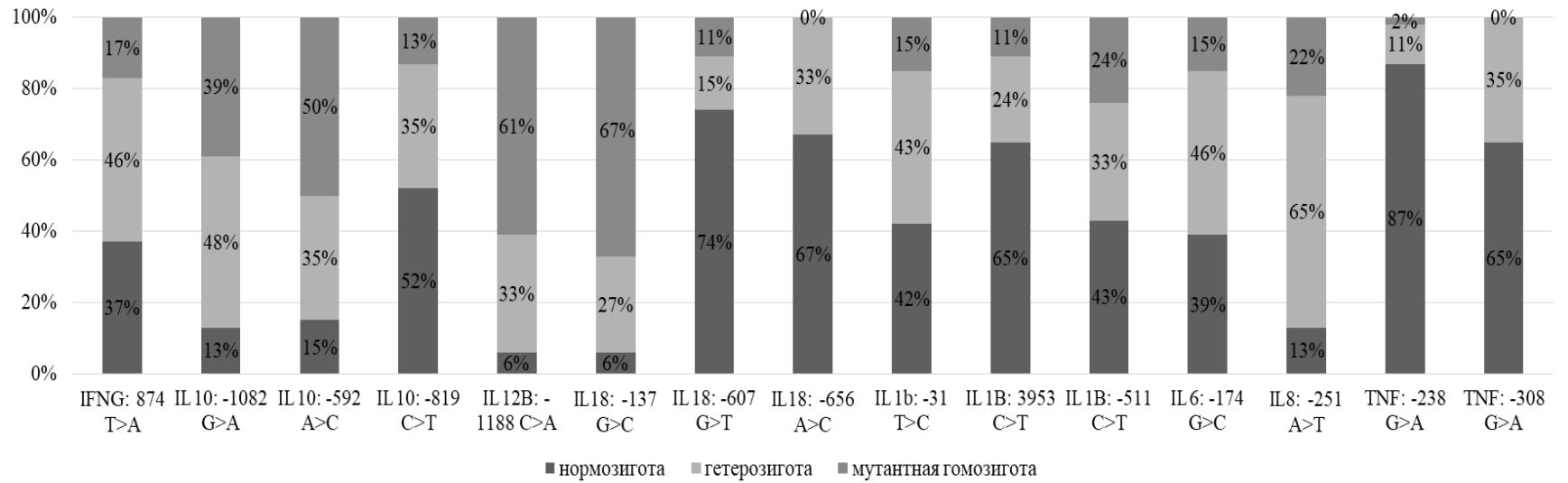
где: e – константа Эйлера $\approx 2,718281$;

$$z = -3,08 + 1,07X_1 - 0,177X_2 + 0,186X_3 + 0,296X_4 - 0,318X_5;$$

X_1 – полиморфизм IL18: -137G>C, может принимать три возможных значения: 3 – генотип CC (мутантная гомозигота), 2 – генотип GC (гетерозигота), 1 – генотип GG (нормальная гомозигота), в формулу подставляется закодированный вариант носительства, а именно цифра 1, 2 или 3; X_2 – концентрация в сыворотке крови цитокина IL1 β (пг/мл); X_3 – концентрация в сыворотке крови цитокина IL8 (пг/мл); X_4 – концентрация в сыворотке крови цитокина IL10 (пг/мл); X_5 – концентрация в сыворотке крови цитокина IFN γ (пг/мл).

Пороговое значение логистической функции P составило 0,5. При значениях $P < 0,5$ прогнозируется низкий риск наступления ПРПО, при значениях $P \geq 0,5$ – высокий риск наступления ПРПО в сроке до 28 недель беременности (чувствительность – 65,2%, специфичность – 93%).

Группа 1 (n = 80)



Группа 2 (n = 40)

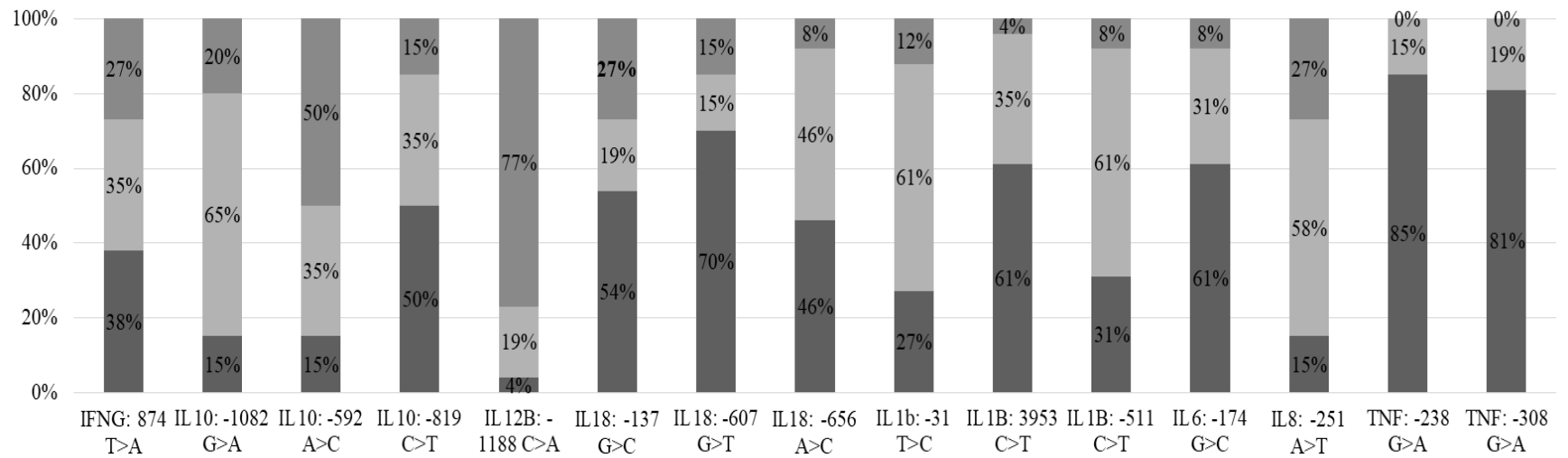


Рисунок 2 – Частоты генотипов по полиморфизму генов про- и противовоспалительных цитокинов у беременных клинических групп

Для облегчения индивидуальных расчетов по формуле (1) и вычисления абсолютного показателя риска ПРПО в 22–27 недель 6 дней, позволяющего отнести беременную к группе низкого или высокого риска по развитию ПРПО в сверхранние сроки, была разработана компьютерная программа, пример использования которой представлен на рисунке 3. Полученное значение логистической функции P (0,91 и 0,38, рисунок 3) позволяет отнести беременную к группе высокого ($P = 0,91$) или низкого риска ($P = 0,38$) по развитию ПРПО до 28-й недели. Разработанная компьютерная программа автоматизирует расчет по формуле (1) и облегчает практическое применение данного метода.

Параметры	Значение:
П18: - 1376 > С	3
П1β (пг/мл)	4,2
П8 (пг/мл)	2,7
П10 (пг/мл)	15,8
ИНу (пг/мл)	7,0
Рассчитать	
0.91	
Высокий риск	

Параметры	Значение:
П18: - 1376 > С	1
П1β (пг/мл)	1,25
П8 (пг/мл)	9,7
П10 (пг/мл)	7,5
ИНу (пг/мл)	7,2
Рассчитать	
0.38	
Низкий риск	

Рисунок 3 – Скрин страницы компьютерной программы для расчета риска преждевременного разрыва плодных оболочек в сверхранние сроки.

У всех беременных, включенных в группу 1, после случившегося ПРПО беременность была пролонгирована: 55 пациенток были родоразрешены в сверхранние сроки (средний срок гестации на момент родоразрешения составил 26 недель \pm 1 неделя 2 дня), 22 пациентки – в ранние сроки (средний срок гестации на момент родоразрешения 29 недель 3 дня \pm 3 дня), 3 пациентки – в сроки 31–33 недели 6 дней (средний срок гестации на момент родоразрешения 32 недели 1 день \pm 1 неделя 1 день).

Проведена оценка влияния тактики ведения беременности на перинатальную заболеваемость (сепсис, внутрижелудочковые кровоизлияния) и смертность (таблица 3).

При использовании метода логистической регрессии установлено, что:
– пролонгирование беременности при ПРПО в 22–27 недель 6 дней более

двух суток повышает в 4,1 раза вероятность сепсиса у новорожденных (ОШ = 4,1, 95%-ный ДИ: [1,27;13,2], $p = 0,026$) при сверхранных преждевременных родах;

– родоразрешение беременных при ПРПО до срока 28 недель при наличии выраженного маловодия (ИАЖ менее 1-го перцентиля) в 5,1 раза повышает вероятность развития сепсиса у новорожденных (ОШ = 5,1, 95% ДИ: [1,62;16,4], $p = 0,006$).

Таблица 3 – Влияние тактики ведения беременности на развитие сепсиса недоношенных новорожденных у беременных с ПРПО, родивших до 28 недель

Показатель	Сепсис новорожденного		p-value*
	наличие, $n = 26$	отсутствие, $n = 29$	
Индекс амниотической жидкости			
Менее 1-го перцентиля, $n = 29$	19 (65,5%)	10 (34,5%)	0,006
Более 1-го перцентиля, $n = 26$	7 (27%)	19 (73%)	
Хориоамнионит с клиническими проявлениями			
Наличие, $n = 20$	13 (65%)	7 (35%)	> 0,05
Отсутствие, $n = 35$	13 (37%)	22 (63%)	
Длительность безводного периода			
До двух суток, $n = 22$	6 (27%)	16 (73%)	0,026
Более двух суток, $n = 33$	20 (61%)	13 (39%)	

Примечание: *точный двусторонний критерий Фишера.

Оценка влияния тактики ведения беременности на перинатальные исходы при пролонгировании беременности с ПРПО свыше 28 недель показала, что только хориоамнионит с клиническими проявлениями на момент родоразрешения ассоциирован с развитием сепсиса новорожденных (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние тактики ведения беременности на развитие сепсиса недоношенного новорожденного у беременных с ПРПО, родивших в сроке с 28 до 30 недель 6 дней

Показатель	Сепсис новорожденного		p-value*
	наличие, $n = 18$	отсутствие, $n = 4$	
Индекс амниотической жидкости			
Менее 1-го перцентиля, $n = 17$	14 (82%)	3 (18%)	>0,05
Более 1-го перцентиля, $n = 5$	4 (80%)	1 (20%)	
Хориоамнионит с клиническими проявлениями			
Наличие, $n = 17$	17 (100%)	–	<0,01
Отсутствие, $n = 5$	1 (20%)	4 (80%)	
Длительность безводного периода			
До двух суток, $n = 22$	18 (82%)	4 (18%)	
Более двух суток, $n = 0$	–	–	>0,05

Примечание: *точный двусторонний критерий Фишера.

В ходе исследования установлено, что метод родоразрешения беременных с ПРПО в 22–27 недель 6 дней не влияет на перинатальную заболеваемость (сепсис новорожденных, внутрижелудочковые кровоизлияния) и смертность.

Оценка влияния наследственных факторов матери (полиморфизм гена провоспалительного цитокина IL18: -137G>C у матери) на перинатальную заболеваемость (таблица 5) показала, что предиктором сепсиса новорожденных при ПРПО в 22–27 недель 6 дней является генотип матери CC гена IL18: -137G>C (ОШ = 12,2, 95%-ный ДИ: [3,8;38,5], $p < 0,001$).

Основными критериями оценки тактики ведения недоношенной беременности являются показатели перинатальной и неонатальной смертности. Самый высокий процент смертности новорожденных в первые 7 суток и с 7-го до 28-го дня наблюдался при родоразрешении беременных в сверхранные сроки (до 28 недель). При этом установлено, что пролонгация беременности при ПРПО до срока ранних ПР приводит к снижению перинатальной смертности в 1,5 раза (таблица 6).

Таблица 5 – Ассоциация полиморфизма IL18: -137G>C матери с риском развития сепсиса недоношенных новорожденных у беременных с ПРПО

Вариант генотипа матери IL18: -137G>C	Сепсис новорожденного		p-value*	ОШ (95%-ный ДИ**)
	наличие, $n = 44$	отсутствие, $n = 36$		
GG ($n = 5$)	1 (2%)	4 (11%)	$> 0,05$	–
GC ($n = 22$)	4 (9%)	18 (50%)	$< 0,001$	–
CC ($n = 53$)	39 (89%)	14 (39%)	$< 0,001$	12,2 [3,8;38,5]

Примечания: *точный двусторонний критерий Фишера; **метод логистической регрессии.

Таблица 6 – Показатели смертности среди недоношенных новорожденных в зависимости от срока гестации на момент родов

Срок родов	Неонатальные исходы	
	смертность до 7 дней, n (%)	смертность с 7 до 28 дней, n (%)
Сверхранные преждевременные роды (с 22 до 27 недель 6 дней), $n = 55$	7 (13%)	13 (24%)
Ранние преждевременные роды (с 28 до 30 недель 6 дней), $n = 22$	2 (9%)	0 (0%)
Преждевременные роды в сроке 31–33 недели 6 дней, $n = 3$	0 (0%)	0 (0%)

Сравнительный анализ показателей смертности недоношенных новорожденных, родоразрешенных в различные сроки (до и после 28 недель), показал, что дети, рожденные до 28 недель, умирают в 2,5 раза чаще, чем рожденные после 28 недель, при одинаковой тактике ведения беременности (рисунок 4).

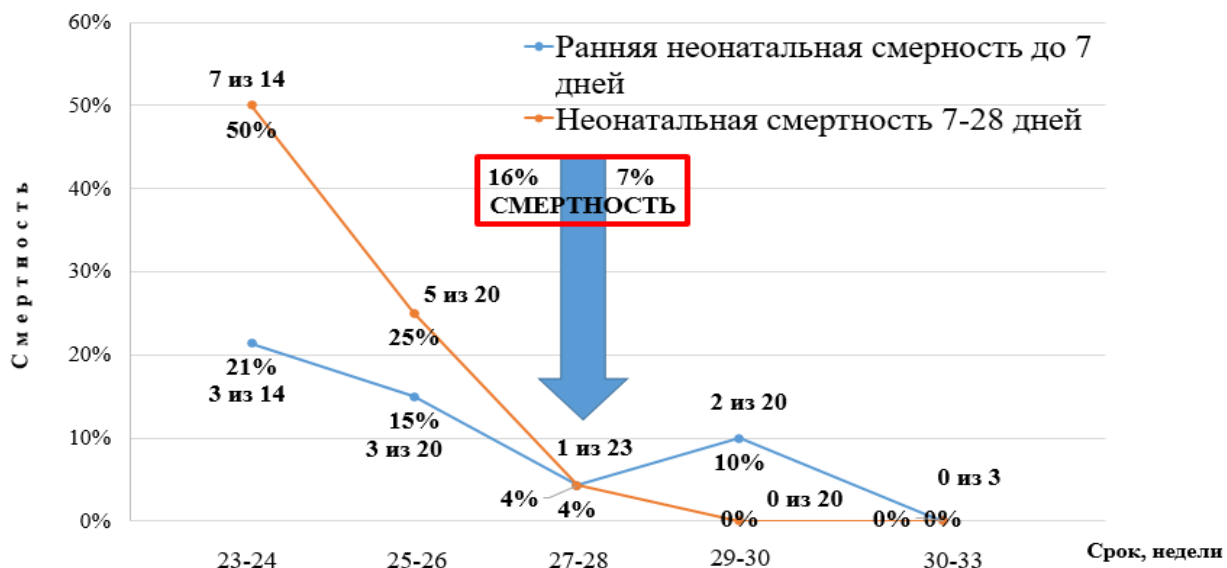


Рисунок 4 – Смертность недоношенных новорожденных и срок гестации на момент родоразрешения

Результатом заключительного этапа исследовательской работы явилась разработка модели мероприятий для предикции и профилактики ПРПО в сверхранние сроки (рисунок 5).

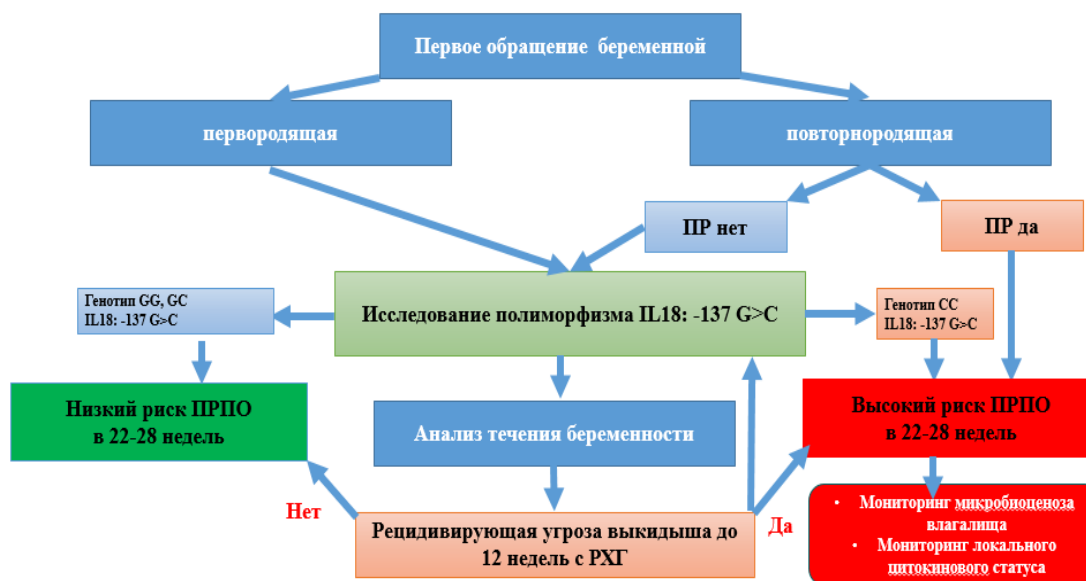


Рисунок 5 – Модель мероприятий для предикции и профилактики ПРПО

На основании установленных в ходе исследования материнских предикторов сепсиса новорожденных дополнена тактика ведения беременности при ПРПО в сроке от 22 до 28 недель, направленная на снижение риска сепсиса новорожденных и улучшение перинатальных исходов (рисунок 6).

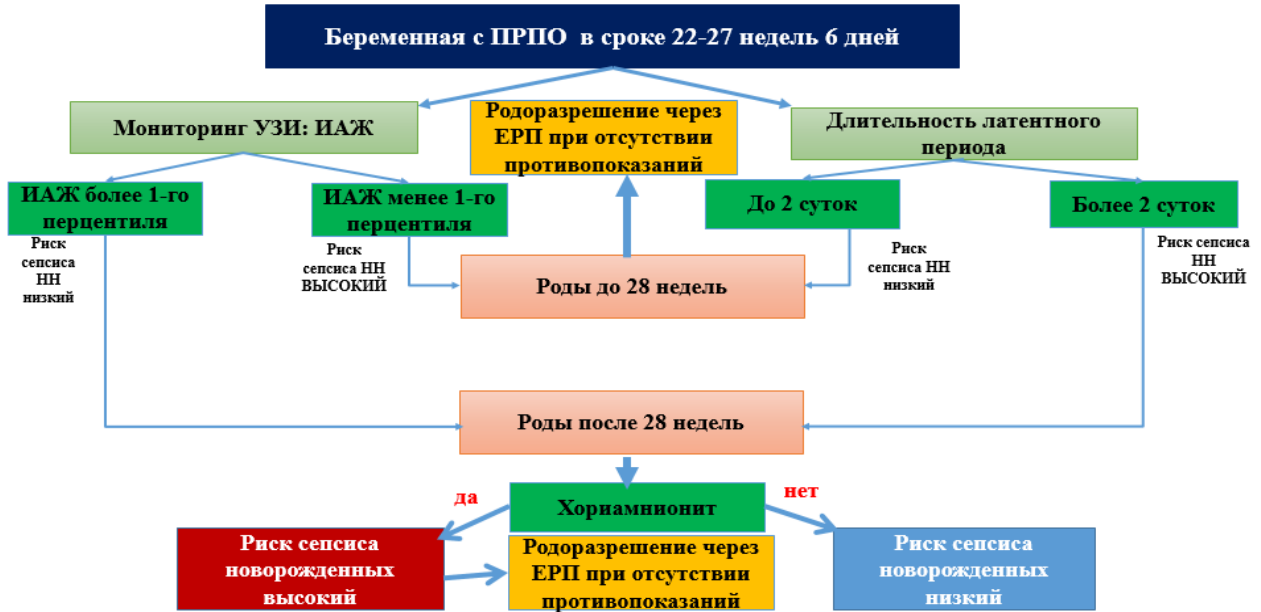


Рисунок 6 – Акушерская тактика при ПРПО в сроке от 22 до 28 недель

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявленные в настоящем исследовании генетически детерминированные предикторы преждевременного разрыва плодных оболочек в сверхранние сроки беременности обозначают перспективы его первичной профилактики. Персонафицированное ведение беременных при случившемся разрыве плодных оболочек в сроке 22–28 недель с учетом молекулярно-генетических детерминант, инициирующих развитие гиперергического воспалительного ответа матери, модулирующего гнойно-септические осложнения у плода, позволит профилактировать неблагоприятные перинатальные исходы.

ВЫВОДЫ

1. Предикторами преждевременных родов при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней являются: преждевременные роды в анамнезе (ОШ 7,6), рецидивирующая угроза выкидыша с ретрохориальной гематомой в первом триместре (ОШ 13,3), патологические выделения из половых путей с 12-й по 22-ю неделю, ассоциированные с вагинитом (ОШ 3,0), гомозиготное носительство полиморфного аллеля (генотип СС)

провоспалительного гена IL18: -137G>C (ОШ 5,6).

2. Особенности цитокинового профиля беременных при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней являются: высокий уровень индекса воспаления в нижнем отделе репродуктивного тракта (85%), потенцируемый повышением в крови продукции провоспалительных цитокинов IL18 (на 60%), IFN γ (на 72%), TNF α (на 22%), снижением уровня противовоспалительного цитокина IL10 (на 32%), каскад которых модулирует в нижнем отделе репродуктивного тракта повышение уровней экспрессии мРНК генов провоспалительных цитокинов (IL1 β – на 24%, TNF α – на 97%), Toll-подобного рецептора 4-го класса (на 77%), β 2-микроглобулина (на 51%).

3. Фактором риска неблагоприятных перинатальных исходов (сверхранные преждевременные роды, сепсис новорожденных, перинатальная смертность) при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней являются молекулярно-генетические особенности матери – наличие полиморфизма (генотип CC) провоспалительного цитокина IL18: -137G>C, обуславливающего гиперергический воспалительный ответ матери.

4. Факторами риска развития сепсиса новорожденных от матерей при сверхранных преждевременных родах, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней, являются: безводный период более двух суток (ОШ 4,1), выраженное маловодие (индекс амниотической жидкости менее 1-го перцентиля) на момент родоразрешения (ОШ 5,1), генотип матери CC IL18: -137G>C (ОШ 12,2); от матерей с ранними преждевременными родами, ассоциированными с преждевременным разрывом плодных оболочек, в 22–27 недель 6 дней – хориоамнионит с клиническими проявлениями.

5. Пролонгирование беременности при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней до срока ранних преждевременных родов (28–31 неделя) приводит к снижению перинатальной смертности в 1,5 раза, неонатальной смертности – в 2,5 раза по сравнению с родоразрешением в сроке сверхранных родов (до 28 недель). При наличии у новорожденного сепсиса риск смертности новорожденных повышается в 2,6 раза.

6. Метод родоразрешения беременных с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней не влияет на перинатальную заболеваемость (сепсис новорожденных, внутрижелудочковые кровоизлияния) и

смертность.

7. Персонализированное ведение беременных при преждевременном разрыве плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней с учетом молекулярно-генетических детерминант (наличие полиморфизма – генотипа СС – провоспалительного цитокина IL18: -137G>C), инициирующих развитие гиперергического воспалительного ответа матери, модулирующего гнойно-септические осложнения у плода, позволяет профилактировать неблагоприятные перинатальные исходы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В группу высокого риска по развитию преждевременных родов, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек, в 22–27 недель 6 дней следует относить: повторнородящих с преждевременными родами в анамнезе; перво- и повторнородящих с осложненным течением настоящей беременности (рецидивирующая угроза с ретрохориальной гематомой в первом триместре, патологические выделения из половых путей с 12-й по 22-ю неделю, ассоциированные с вагинитом).

2. Первородящим и повторнородящим без преждевременных родов в анамнезе с осложненным течением настоящей беременности (рецидивирующая угроза с ретрохориальной гематомой в первом триместре, патологические выделения из половых путей с 12-й по 22-ю неделю, ассоциированные с вагинитом) рекомендуется проводить генотипирование (определение полиморфизма гена IL18: -137G>C) для оценки генетически обусловленного риска сверхранных преждевременных родов, ассоциированных с преждевременным разрывом плодных оболочек.

3. При развитии преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней у беременных с генотипом GG IL18: -137G>C рекомендуется пролонгирование беременности до срока ранних преждевременных родов (28–31 неделя 6 дней) с целью снижения перинатальной и неонатальной смертности.

4. При развитии преждевременного разрыва плодных оболочек в 22–27 недель 6 дней у беременных с генотипом СС IL18: -137G>C рекомендуется при выраженном маловодии (индекс амниотической жидкости менее 1-го перцентиля) не пролонгировать беременность более двух суток для снижения риска сепсиса у новорожденных.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Список публикаций по теме диссертации Клинико-анамнестические особенности беременных с ретрохориальными гематомами / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, Е.А. Забанова, **М.П. Дмитриева** [и др.] // Медицинский вестник Юга России. – 2017. – Т. 8, № 4. – С. 53–60.

2. **Дмитриева, М.П.** Прогнозирование перинатальных осложнений при преждевременном разрыве плодных оболочек / **М.П. Дмитриева**, А.П. Баранов, Г.М. Ильясова // 6-я итоговая научная сессия молодых ученых РостГМУ: сборник материалов. – Ростов н/Д, 2019. – С. 71–72.

3. Кузнецова, Н.Б. Этиология и патогенез преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности / Н.Б. Кузнецова, В.С. Дыбова, **М.П. Дмитриева** // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2019. – Т. 14, № 4. – С. 57–61.

4. Локальный цитокиновый профиль у женщин с преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, **М.П. Дмитриева** [и др.] // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2019. – Т. 9, № 6. – С. 684–693.

5. Этиология и патогенез преждевременного разрыва плодных оболочек при недоношенной беременности / Н.Б. Кузнецова, Буштырева И.О., Дыбова В.С., Барина В.В., **Дмитриева М.П.** // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2019. – Т. 9, № 6. – С. 783–791.

6. Кузнецова, Н.Б. Локальный цитокиновый профиль у женщин с преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек / Н.Б. Кузнецова, В.С. Дыбова, **М.П. Дмитриева** // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 1. – С. 43–47.

7. Кузнецова, Н.Б. Преждевременный разрыв плодных оболочек при недоношенной беременности: выбор сроков и способа родоразрешения / Н.Б. Кузнецова, **М.П. Дмитриева** // Материалы конференции XIV Международного конгресса по репродуктивной медицине (Москва, 21–24 января 2020 г.). – М., 2020. – С. 177–178.

8. Локальный цитокиновый профиль у женщин с преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек /

Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, **М.П. Дмитриева** [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 80–84.

9. Полиморфизмы гена ИЛ 18 у беременных с преждевременными родами / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, А.В. Гугуева, О.С. Оксенюк, Е.В. Машкина, **М.П. Дмитриева** // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, № 2. – С. 85–88.

10. Новый гематологический маркер внутриутробного сепсиса при преждевременных родах и преждевременном разрыве плодных оболочек / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, **М.П. Дмитриева** [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – № 4. – С. 84–89.

11. Патент № 2752550 Российская Федерация. Способ прогнозирования преждевременного разрыва плодных оболочек в сроке до 28 недель беременности: № 2020137495; заявл. 16.11.2020; опубл. 29.07.2021 / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, **М.П. Дмитриева**, О.С. Оксенюк. – 11 с.

12. Полиморфизм гена интерлейкина-18 у беременных с преждевременным разрывом плодных оболочек: исследование «случай-контроль» / И.О. Буштырева, Н.Б. Кузнецова, **М.П. Дмитриева** [и др.] // Кубанский научный медицинский журнал. – 2021. – Т. 28, № 2. – С. 144–156.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДИ – доверительный интервал
ЕРП – естественные родовые пути
ИАЖ – индекс амниотической жидкости
КС – кесарево сечение
НН – недоношенный новорожденный
ОШ – отношение шансов
ПР – преждевременные роды
ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РХГ – ретрохормальная гематома
УЗИ – ультразвуковое исследование
IL – интерлейкин
TLR4 - Toll-подобный рецептор 4-го класса
TNF – фактор некроза опухоли
В2М - β 2-микроглобулин.