

На правах рукописи

ГРАЧЕВА

Мария Ивановна

ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ БЕРЕМЕННЫХ С ПРЕЭКЛАМПСИЕЙ НА
ОСНОВАНИИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ ДНК

14.01.01 – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

доктор медицинских наук
кандидат биологических наук

Кан Наталья Енкиновна
Красный Алексей Михайлович

Официальные оппоненты:

Игнатко Ирина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра акушерства и гинекологии №2 лечебного факультета, профессор

Панова Ирина Александровна – доктор медицинских наук, доцент, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России, отдел акушерства и гинекологии, заведующий

Ведущее учреждение:

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита диссертации состоится «__»_____ 2019 г. в 13.00. ч. на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации http://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/GrachevaMI_diss.pdf

Автореферат разослан «__»_____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, доцент

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Преэклампсия (ПЭ) возникает в 2-8% беременностей и остается ведущей причиной материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [Ходжаева З.С., 2014; Серов В.Н., Дегтярев Д.Н., 2014].

Поскольку последствия тяжелых гипертензивных расстройств снижают качество последующей жизни женщины (высокая частота атеросклероза, сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний), а частота нарушения физического, психосоматического развития преждевременно рожденных детей достаточно высока, так же как и риск развития в будущем у них соматических заболеваний, то эта проблема является значимой в социальном и медицинском плане [Шмаков Р.Г., Сухих Г.Т., 2016].

Несмотря на большой интерес исследователей к данной проблеме, патогенез преэклампсии недостаточно изучен. На данный момент существует несколько теорий возникновения и развития ПЭ, к которым относятся: нарушение инвазии трофобласта, развитие синдрома системной воспалительной реакции и нарушения иммунологической толерантности и др. В последнее время существенное значение в патогенезе преэклампсии отводится оксидативному стрессу с нарушением баланса оксидантно-антиоксидантной системы, приводящих к развитию апоптоза [Сухих Г.Т. 2014, Тютюнник В.Л. 2016; Stein W, 2013; Poon LC, 2013]. Оценка уровня фетальной внеклеточной ДНК при беременности плодами как женского, так и мужского полов, возможна благодаря способу деления материнской и фетальной ДНК по степени метилирования определённых генов.

Однако до настоящего времени патогенез преэклампсии остается не вполне ясным, и ожидаемых успехов в прогнозировании, профилактике и лечении данного заболевания не достигнуто.

Вышеизложенное диктует необходимость проведения дальнейших исследований по уточнению звеньев патогенеза преэклампсии для оптимизации диагностических мероприятий.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время осуществляется немало попыток обобщения накопленного в мировой практике опыта применения внеклеточной ДНК в диагностике и предикции преэклампсии. Несмотря на это, задача до настоящего времени остается нерешенной. Значение внеклеточной фетальной ДНК (cffDNA) в плазме крови матери в качестве индикатора ПЭ впервые обсуждалось в отчете Lo et al. [Lo et al., 1999]. В настоящее время выполнено несколько многоцентровых исследований для подтверждения прогностического значения cffDNA для прогнозирования и мониторинга ПЭ в сочетании с другими потенциальными маркерами (например, Р-селектин, PAPP-A, PP-13, sFlt-1, sEng и PlGF) [Grill, S., 2009; Martin A., 2014]. RASSF1A – это ген – супрессор опухолевого роста, который часто инактивируется повышенным уровнем метилирования промотора фактора при различных опухолях. Поскольку плацента является единственной доброкачественной тканью, демонстрирующей высоко метилированный профиль RASSF1A, количественное определение гиперметилированного RASSF1A может использоваться в качестве эпигенического маркера по cffDNA [Papantoniou N., 2013]. Количественное определение внеклеточной фетальной ДНК является перспективным маркером прогнозирования ПЭ.

Однако в связи с неоднозначностью результатов в опубликованных исследованиях нельзя сделать точного заключения о статистической и клинической значимости данного потенциального маркера ПЭ.

Цель исследования

Оптимизация ведения беременных с преэклампсией путем определения внеклеточной ДНК для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Задачи исследования

1. Выделить клинико-anamнестические особенности пациенток с преэклампсией.
2. Определить уровень внеклеточной общей и фетальной ДНК в крови беременных при преэклампсии в зависимости от степени тяжести.
3. Изучить взаимосвязь изменений уровней про- и противовоспалительных цитокинов при преэклампсии.
4. Оценить диагностическую и прогностическую значимость фетальной ДНК и цитокинов для оценки тяжести преэклампсии и прогнозирования перинатальных осложнений.
5. Оптимизировать алгоритм ведения пациенток с преэклампсией на основании использования молекулярных маркеров.

Научная новизна

На основании сравнения диагностических и прогностических возможностей уровней общей и фетальной внеклеточной ДНК в крови матери при преэклампсии доказана высокая диагностическая ценность обоих маркеров. Показано, что уровень общей внеклеточной ДНК обладает более высокой диагностической ценностью.

Впервые проведено изучение изменения уровня внеклеточной ДНК в крови матери в процессе лечения преэклампсии для оценки ее эффективности, и доказана большая прогностическая значимость оценки изменения ее уровней в отличие абсолютных значений.

Обнаружена взаимосвязь между уровнем внеклеточной ДНК и уровнем цитокинов, имеющих, моноцитарное происхождение в крови матери, отражающими развитие системного воспалительного ответа при преэклампсии.

Практическая значимость

Показано, что уровень общей внеклеточной ДНК обладает высокой диагностической и прогностической ценностью и его оценка может быть использована в клинической практике.

Применение современных методов диагностики преэклампсии, основанное на определении свободной внеклеточной ДНК в крови матери, плода позволяет снизить частоту осложнений беременности и перинатальных осложнений.

Оценка общей внеклеточной ДНК обладает более высокими диагностическими характеристиками и технологически более проста и надежна по сравнению с оценкой внеклеточной ДНК фетального происхождения, что позволяет рекомендовать для практического применения определения именно общей внеклеточной ДНК в крови матери.

Предложен алгоритм ведения беременных с преэклампсией с учетом уровня свободной внеклеточной ДНК в крови матери. Внедрение этого алгоритма в практику акушерских стационаров и перинатальных центров позволит снизить частоту осложнений беременности, перинатальной заболеваемости и смертности.

Методология и методы исследования

В работе использованы общеклинические и молекулярно-генетические методы исследования. Статистическую обработку проводили с использованием пакета статистического анализа для Microsoft Office Excel 2007 и пакета MedCalc12 для Windows 7.

Положения, выносимые на защиту

1. К наиболее значимым факторам риска развития преэклампсии следует относить заболевания сердечно – сосудистой системы, метаболические нарушения и отягощенный семейный анамнез. Течение беременности при преэклампсии достоверно чаще осложняется ранним токсикозом, угрозой прерывания с формированием ретрохориальной гематомы в первом триместре, угрозой преждевременных родов, задержкой роста плода во втором и третьем триместрах, и неблагоприятными перинатальными исходами.

2. Развитие преэклампсии ассоциировано с увеличением уровней общей и фетальной внеклеточной ДНК, при этом уровень общей

внеклеточной ДНК обладает лучшими диагностическими характеристиками для верификации ее тяжести.

3. Нарастание уровня общей внеклеточной ДНК в процессе лечения преэклампсии является неблагоприятным прогностическим критерием и связано с высоким риском перинатальных осложнений.

4. Разработанный алгоритм ведения беременных с использованием неинвазивных молекулярных маркеров позволит снизить акушерские осложнения и улучшить перинатальные исходы.

Личный вклад автора

Автором проведена систематизация литературных данных по теме диссертации, лично разработана анкета для сбора анамнеза, проведен анализ клинико-anamнестических данных и результатов обследования 181 женщины в проспективном исследовании, удовлетворяющем критериям включения в исследования. Автор лично участвовал в ведении беременности и родоразрешении женщин, включенных в исследование. Автором осуществлялись: забор, подготовка, хранение биологического материала на преаналитическом этапе, участие в молекулярно-генетических исследованиях. Анализ, статистическая обработка полученных данных проведены автором самостоятельно в соответствии с правилами и обеспечивают достоверность результатов и сформулированных выводов. Написание и публикация результатов выполнены автором лично.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 4, 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на конференции акушерского отделения совместно с лабораторией цитологии

22.06.2018 г. и на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (22.08.2018 г., протокол № 9).

Внедрение результатов работы в практику

Основные рекомендации, полученные в ходе исследования, используются в акушерских отделениях и научно-поликлиническом отделении ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России при обследовании и лечении беременных женщин.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 7 научных трудов, в т.ч. 3 статьи в рецензируемых научных изданиях.

Материалы диссертации доложены на XI Всероссийском образовательном конгрессе "Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии" (Москва, 21 - 23 ноября 2018 г.)

Структура работы

Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Работа изложена на 123 страницах, содержит 10 таблиц и 19 рисунков. Библиографический указатель состоит из 212 литературных источников, из них 21 - отечественных и 191 - иностранных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Согласно поставленным цели и задачам, было выполнено исследование «случай-контроль», в которое была включена 181 беременная. На основании критериев включения пациентки были разделены на 2 группы. В I группу вошло 97 беременных с манифестацией ПЭ на сроках от 26 недель до 40 недель 6 дней, во II - 84 условно здоровых беременных без реализации ПЭ.

Диагностика ПЭ основывалась на Международной статистической классификации болезней (МКБ) и соответствовала критериям, разработанным Европейским обществом по изучению АГ. Все пациентки с

ПЭ получали стандартное лечение в соответствии со стандартами оказания медицинской помощи.

Критерии включения: одноплодная беременность, информированное согласие на участие в исследовании

Критерии исключения: тяжелая экстрагенитальная патология, многоплодная беременность, пороки развития плода.

Все включённые в исследование пациентки были обследованы согласно стандартам и подписывали письменное согласие на участие в научном исследовании. При поступлении в стационар производилось взятие биологического материала для реализации задач исследования. Повторное взятие у пациенток с ПЭ проводили через 48 часов после начала терапии.

Проведено подробное анкетирование и последующий анализ полученных данных, включающих сведения о соматическом и акушерско-гинекологическом анамнезе, наличии предгравидарной подготовки.

Специальные методы исследования

В данной работе уровень total cfDNA был оценен количественным ПЦР-анализом путем определения концентрации промотора гена RASSF1A. Оценка уровня фвДНК основана на данных о том, что в геноме плода промотор гена RASSF1A гиперметилован, и, соответственно, концентрация его гиперметилованной части в крови матери будет соответствовать количеству геномных единиц фвДНК.

Для подтверждения валидности метода, используемого для определения концентрации фвДНК, была набрана дополнительная группа – 19 женщин без уточненного диагноза на третьем триместре беременности с мужскими плодами и проведено исследование корреляции концентраций гиперметилованной части промотора RASSF 1A и SRY, гена Y хромосомы в плазме крови. Было установлено, что концентрация RASSF1A после обработки рестриктазами коррелирует с концентрацией SRY плазме матери ($r_s = 0.891$; $p < 0,0001$; корреляция Спирмена).

Определение концентрации цитокинов IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN γ и TNF α в плазме периферической крови проводили мультиплексным методом с использованием стандартной 8-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США). Результаты обрабатывали с помощью приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США). Содержание интерлейкинов представлено в пг/мл.

Статистические методы исследования

При помощи программного обеспечения “SPSS Statistics 21 for Windows” выполнялась статистическая обработка полученных данных. В большинстве случаев были применены методы непараметрической статистики, т.к. распределение значений большинства исследованных параметров отличалось от нормального. Медиана (Me) была выбрана в качестве меры центральной тенденции количественных признаков. В качестве интервальной оценки были использованы верхний (H) и нижний квартили (L). Результаты отображались в виде Me (L-H). Для оценки нормально распределенных количественных данных были определены среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ) и ошибка среднего (m). Результаты представлены в виде $M \pm m$.

Определение статистической значимости различий распределения качественных признаков проводили при помощи критериев χ^2 и Фишера.

При оценке связи между количественными переменными рассчитывали ранговый коэффициент корреляции по Спирману.

Построение бинарной логистической регрессионной модели осуществлялось обратным методом Вальда. Качество приближения регрессионных моделей при каждом последующем шаге оценивали при помощи отрицательного удвоенного значения логарифма функции подобию ($-2LL$). Вероятность (P) была вычислена по формуле:

$P=1/(1+e^{-F})$, где F – классифицирующая функция. Оценка качества полученных моделей была выполнена при помощи ROC-анализа.

Вероятность ошибки $p \leq 0,05$, принималась за статистически значимую.

Результаты исследования и их обсуждение

Возраст беременных, включенных в исследование варьировал в пределах от 20 до 40, составляя в среднем $32,7 \pm 2,7$ и $35,1 \pm 3,1$ соответственно по группам. Следует отметить, что при анализе ИМТ были выявлены статистически значимые различия между I и II группами. Нарушение жирового обмена достоверно чаще встречалось в I группе (13,5%, OR=2,1; CI=1,1-8,3) по сравнению с группой сравнения. Среди заболеваний сердечно - сосудистой системы в основной группе превалировала ВСД по гипертоническому типу (14,7%, OR=3,1; CI=2,6-4,3) ($p < 0,01$). Статистически значимых различий в частоте заболеваний органов мочевого выделения, пищеварения и эндокринной системы не выявлено. В структуре гинекологических заболеваний в основной группе превалировали сальпингоофорит (5,5%, OR=3,6; CI=1,8-4,3) и эндометрит (4,8%, OR=1,8; CI=2,1-7,3). Следует отметить, что первобеременные первородящие пациентки достоверно чаще встречались в группе с ПЭ, составив (73,3%, OR=5,2; CI=4,1-12,3).

При этом достоверных различий в частоте искусственного и самопроизвольного прерывания беременности, неразвивающейся беременности выявлено не было. Особый интерес представлял анализ семейного анамнеза преэклампсии в исследуемых подгруппах. Были получены статистически значимые различия в частоте выявленных случаев преэклампсии у родственных пробандов (матерей) пациенток из подгруппы тяжелой преэклампсии (3,5%, OR=3,1; CI=2,1-3,2). Также в этой группе чаще отмечалось указание на наличие детей с ЗРП (4,2%, OR=2,1; CI=1,9-3,3).

При анализе течения беременности в первом триместре при ПЭ статистически значимо чаще отмечался ранний токсикоз (11,5%, OR=4,3;

CI=2,1-6,3), угроза прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы (4,5%, OR=3,3; CI=4,2-14,3).

Во втором триместре такие осложнения, как угроза прерывания беременности и ИЦН примерно с одинаковой частотой отмечены в обеих группах. Однако выявлена статистически значимая более высокая частота ЗРП при ПЭ (22,5%, OR=7,1; CI=3,1-9,3), что согласуется с данными других исследователей [Тютюнник В.Л. 2017; Harrington, К. 2011].

При сравнительном анализе сроков родоразрешения в обследованных группах установлено, что срок родоразрешения в подгруппе с ПЭ составил $32,2 \pm 3,05$, а группе сравнения $39,28 \pm 0,7$.

Длительность пролонгирования беременности с момента манифестации ПЭ и до момента родоразрешения в подгруппе в тяжелой ПЭ были достоверно ниже, чем при умеренной ПЭ, ($5,7 \pm 4,9$) против $10,4 \pm 7,2$ дней, соответственно ($p < 0,01$).

подавляющее большинство пациенток с ПЭ были родоразрешены путем операции кесарева сечения, при этом при умеренной ПЭ в 58% случаев. Ранние преждевременные роды в сроке 28 - 33,6 недель произошли у 30% (OR=5,2; CI=1,2-9,6) женщин только в подгруппе с тяжелой ПЭ ($p < 0,01$).

Результаты изучения исхода родов для плода и течения раннего неонатального периода у новорождённых показали, что у детей в подгруппах с ПЭ достоверно чаще диагностировалась асфиксия (23,5%, OR=3,5; CI=2,5-6,3), РДС (25,1%, OR=4,1; CI=1,5-11,3), ЗРП (17,5%, OR=3,1; CI=4,2-8,7).

Неонатальные исходы в подгруппе с тяжелой ПЭ, по сравнению с умеренной ПЭ, были более неблагоприятны, что обусловлено более ранними сроками родоразрешения и ЗРП. Неонатальные исходы в подгруппе умеренной ПЭ были сопоставимы с группой сравнения, что связано с поздними сроками родоразрешения, более редким сочетанием умеренной ПЭ с ЗРП.

Гиперметилированный ген RASSF1 является универсальным маркером эмбриональной ДНК и легко обнаруживается в материнской плазме. Внеклеточная циркулирующая фетальная ДНК в материнском кровотоке появляется при апоптозе или некрозе клеток плаценты.

Достоверные различия были обнаружены в уровне как фетальной, так и общей ДНК. При ПЭ концентрации фетальной ДНК составила 384,2 ГЕ/мл, во II группе – 149,3 ГЕ/мл. Концентрация общей ДНК при ПЭ составила 6701,1 ГЕ/мл, в группе сравнения – 1522,2 ГЕ/мл. Результаты распределения уровней фвДНК и овДНК в основной и группе сравнения представлены на рисунке 1.

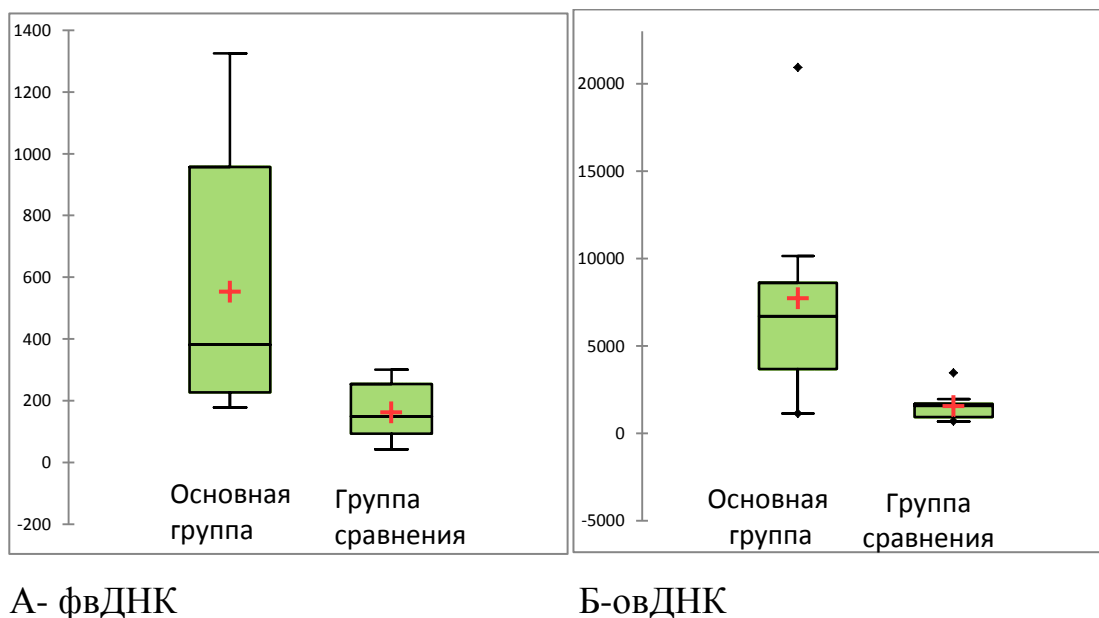


Рисунок 1. Диаграмма распределения уровня фвДНК (А) и овДНК (Б) в обследованных группах. Р – значение, рассчитанное с помощью U – критерия Манна – Уитни, составило < 0,0001.

Хорошую диагностическую эффективность согласно оценке площади под ROC –кривой показали как фвДНК, так и овДНК. Между уровнем фвДНК и овДНК наблюдалась высокая корреляция как в группе ПЭ ($p=0,000003$), так и в группе сравнения ($p=0,004$). Наиболее точным критерием ПЭ явился уровень овДНК, при этом $AUC=0.924$, 95% ДИ (0.83; 1.0), чувствительность составила 89.4%; специфичность - 93.7%, при значении концентрации равным 2873 ГЕ/мл (рис. 2а). Для фвДНК

AUC=0.868, 95% ДИ (74.7; 99), чувствительность составила 73.6% специфичность - 87.5%, при значении концентрации равным 277 ГЕ/мл (рис. 2б).

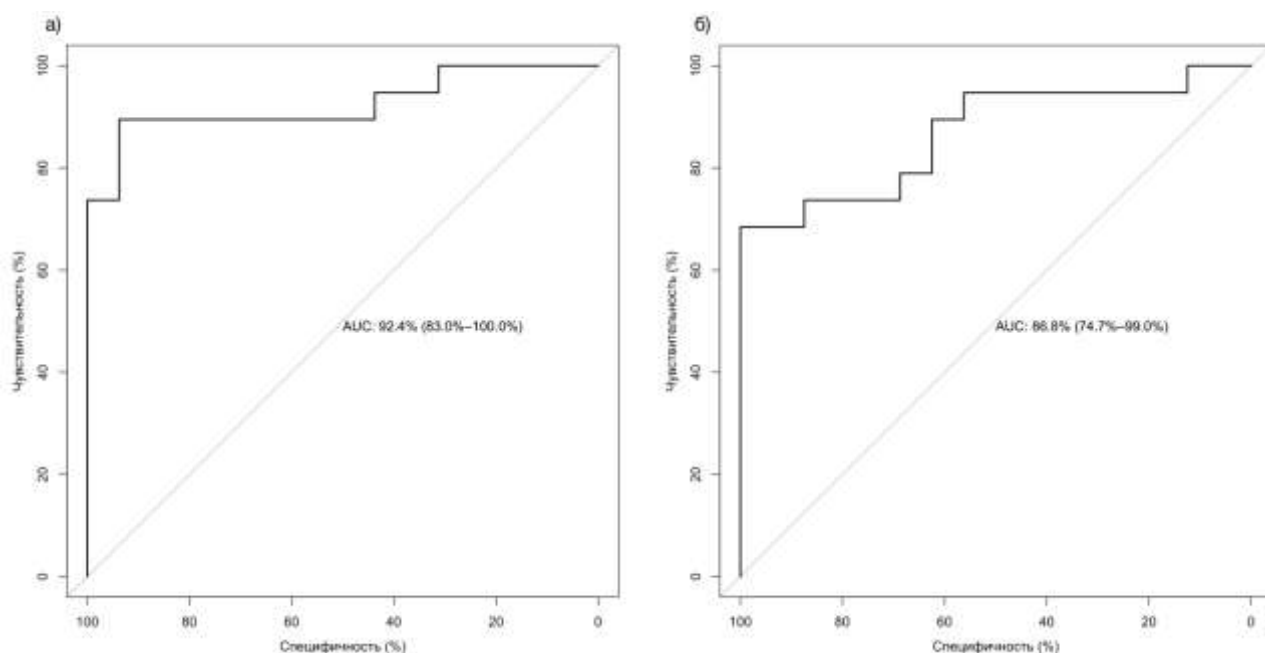


Рисунок 2. Оценка площади под ROC – кривой фвДНК и овДНК.

овДНК,
 AUC=0.924, 95% ДИ (0.83; 1.0),
 чувствительность 89.5%;
 специфичность - 93.8%,
 при значении концентрации 2873 ГЕ/мл

фвДНК
 AUC=0.868, 95% ДИ (74.7; 99),
 чувствительность 73.7%
 специфичность - 87.5%,
 при значении концентрации 277 ГЕ/мл

Наблюдалась высокая корреляция между уровнем фвДНК и овДНК как в группе ПЭ ($p=0,000003$), так и в группе сравнения ($p=0,004$), что позволяет предложить их определение в качестве маркеров ПЭ при этом большей информативностью обладает уровень овДНК в крови матери по сравнению с уровнем фвДНК.

Учитывая тяжесть состояния пациенток, обусловленную основным критерием формирования групп – наличием преэклампсии был проведен анализ потенциальных конфаундеров (факторы, влияющие на исход). Одним из важнейших факторов, влияющих на перинатальные исходы является срок и метод родоразрешения, во многом определяемые тяжестью ПЭ.

Для дальнейшего углубленного анализа были отобраны пациентки, родоразрешенные с помощью операции КС. С помощью ROC-анализа был определен пороговый срок родоразрешения между умеренной и тяжелой ПЭ, который составил 35,5 недель. До 35,5 недель были родоразрешены 97,6% пациенток с тяжелой ПЭ, а после – 90,6% пациенток с умеренной ПЭ. Основная доля перинатальных осложнений наблюдалась при сроке родов до 35,5 недель, поэтому для дальнейшего анализа были отобраны женщины, родоразрешенные до этого срока. Это позволило минимизировать влияние данного конфаундера на перинатальные исходы. Была проанализирована структура показаний к родоразрешению путем операции КС и пациентки были разделены на подгруппы в зависимости от ведущего показания к КС. При родоразрешении в интересах матери у ребенка чаще диагностировалась умеренная и тяжелая асфиксия. Более благоприятные перинатальные исходы при родоразрешении в интересах плода свидетельствуют об эффективности активной акушерской тактики для профилактики неонатальной заболеваемости. Поскольку перинатальные исходы при родоразрешении до 35,5 недель в интересах матери были хуже, чем при родоразрешении в интересах плода, можно сделать предположение о недооценке тяжести состояния плода при ухудшении состояния беременной.

В связи с вышеуказанным в качестве потенциального маркера состояния плода был проведен анализ уровня свободной внеклеточной ДНК в зависимости от перинатальных исходов.

У пациенток, дети которых родились с асфиксией умеренной и тяжелой степени уровень свободной внеклеточной ДНК был несколько выше, но различия не достигали статистической значимости. При этом наблюдалась высокая вариабельность этого показателя.

Для оценки влияния лечения на уровень свободной внеклеточной ДНК был проведен повторный анализ через 48 часов терапии. Была рассчитана разница между конечным и исходным уровнем. Положительные значения

соответствовали приросту, а отрицательные – снижению уровня свободной внеклеточной ДНК в процессе лечения.

Медиана разницы уровня свободной внеклеточной ДНК была выше при асфиксии, что свидетельствовало о нарастании уровня свободной внеклеточной ДНК в процессе лечения. У женщин, родивших детей без асфиксии, уровень свободной внеклеточной ДНК в процессе лечения снижался или оставался неизменным.

Статистически значимые различия в уровне свободной внеклеточной ДНК отмечены только в случае родоразрешения по показаниям со стороны матери. Вышеуказанное может свидетельствовать о недооценке в ряде случаев тяжести состояния плода. Таким образом, для улучшения перинатальных исходов требуется более информативный маркер оценки состояния плода при ПЭ у матери. Поскольку уровень фетальной ДНК связан с состоянием фетоплацентарного комплекса, а снижение этого показателя в ответ на лечение ассоциировано с благоприятными перинатальными исходами, был проведен анализ информативности данного показателя при ПЭ.

На рисунке 3 представлено отношение шансов основных перинатальных исходов при повышении уровня свободной внеклеточной ДНК в процессе лечения при родоразрешении в интересах матери. Повышение уровня свободной внеклеточной ДНК является неблагоприятным прогностическим критерием, хотя, в силу ограниченности выборки, статистически значимые различия достигнуты только для умеренной или тяжелой асфиксии.

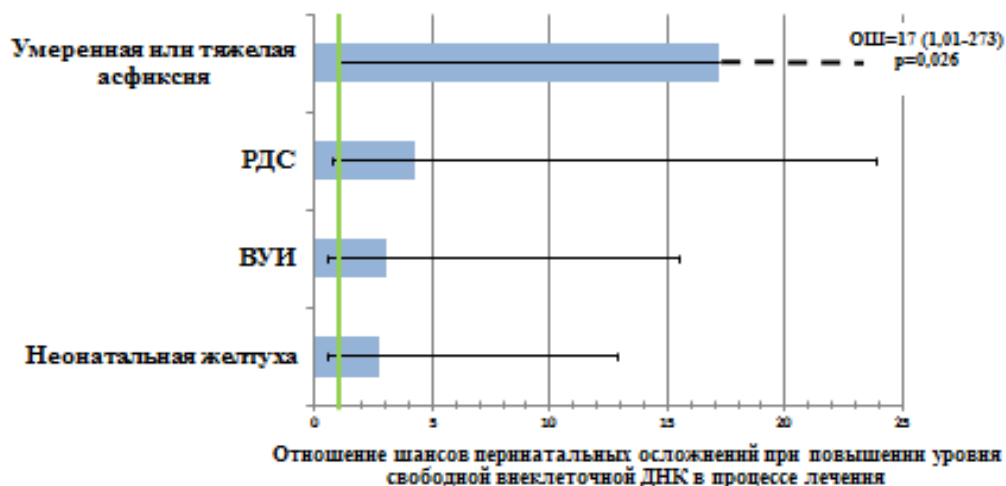
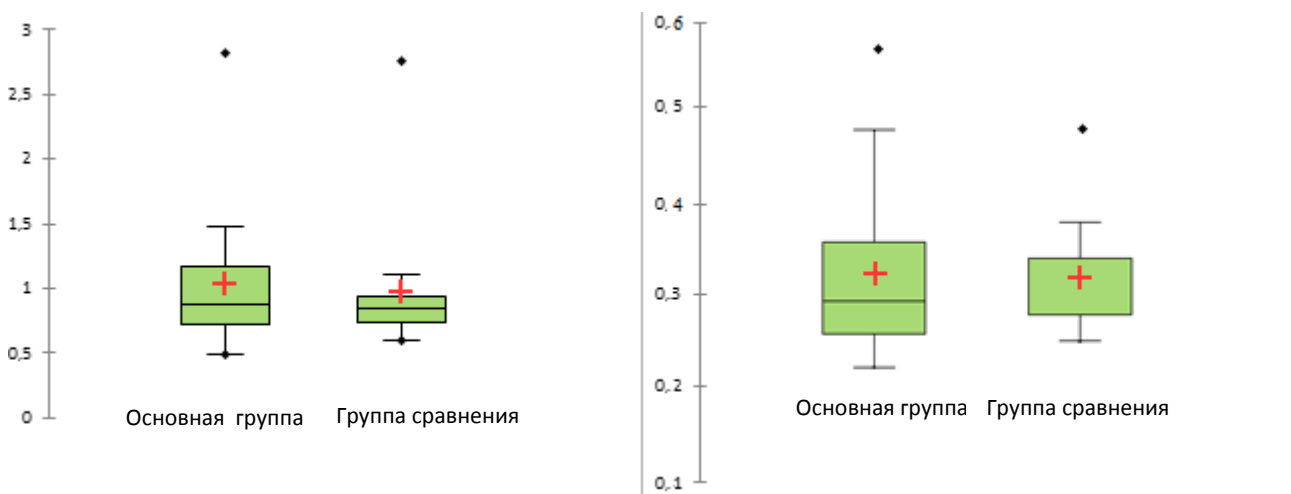


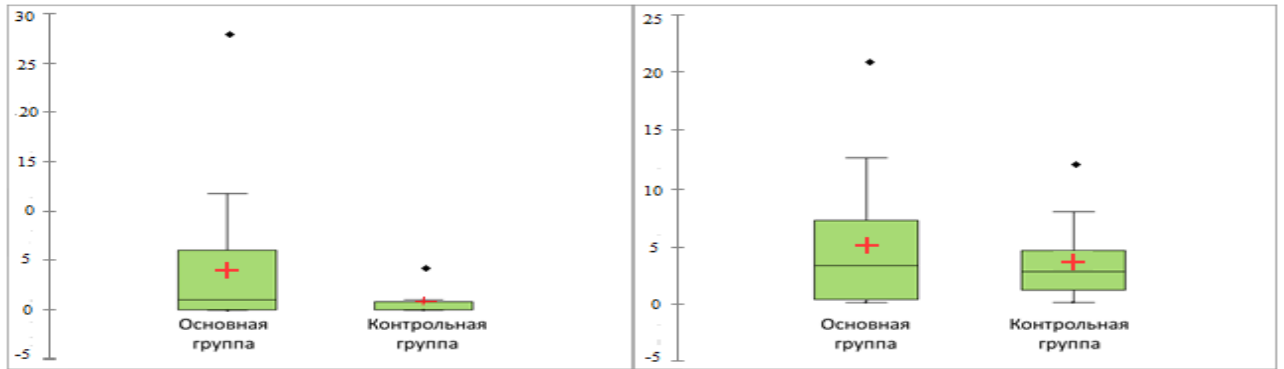
Рисунок 3. Предсказательная ценность повышения уровня свободной внеклеточной ДНК в процессе лечения при родоразрешении в интересах матери.

С целью определения иммунологических аспектов, влияющих на содержание внеклеточной ДНК в крови беременных женщин с преэклампсией было проведено сравнение уровней ряда цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN γ и TNF α) в плазме крови женщин с ПЭ и группы сравнения. Статистически значимых различий в уровне IL-2 и IL-4 выявлено не было. Однако отмечено повышение уровней IL-6 и IL-10 при ПЭ. Также наблюдалась тенденция к повышению уровня IL-8, хотя различия не достигали уровня статистической значимости. Распределение уровней анализируемых показателей в основной и группе сравнения отображено на рисунке 4.



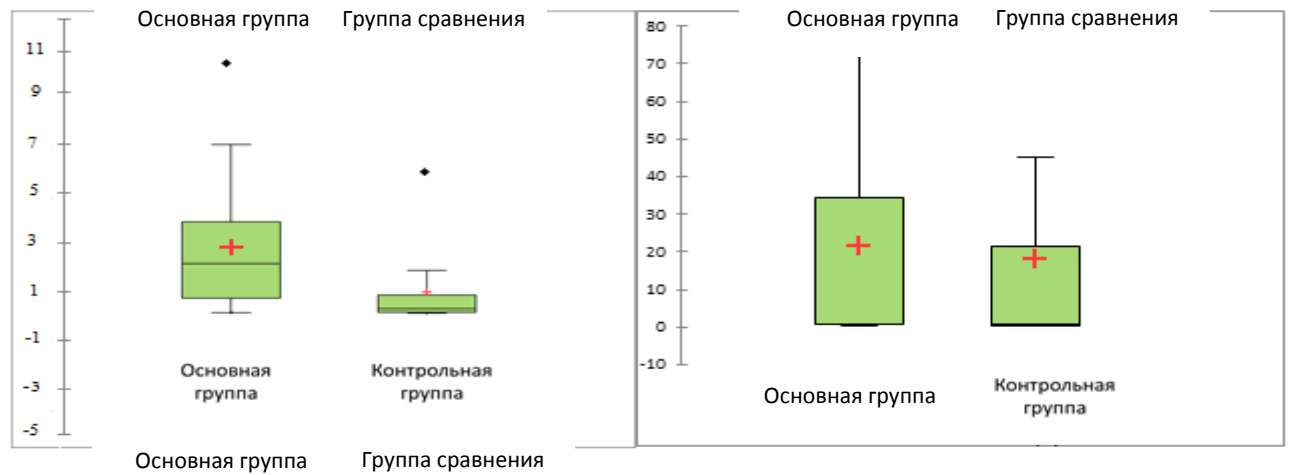
А Размах распределения уровней IL-2

Б Размах распределения уровней IL-4



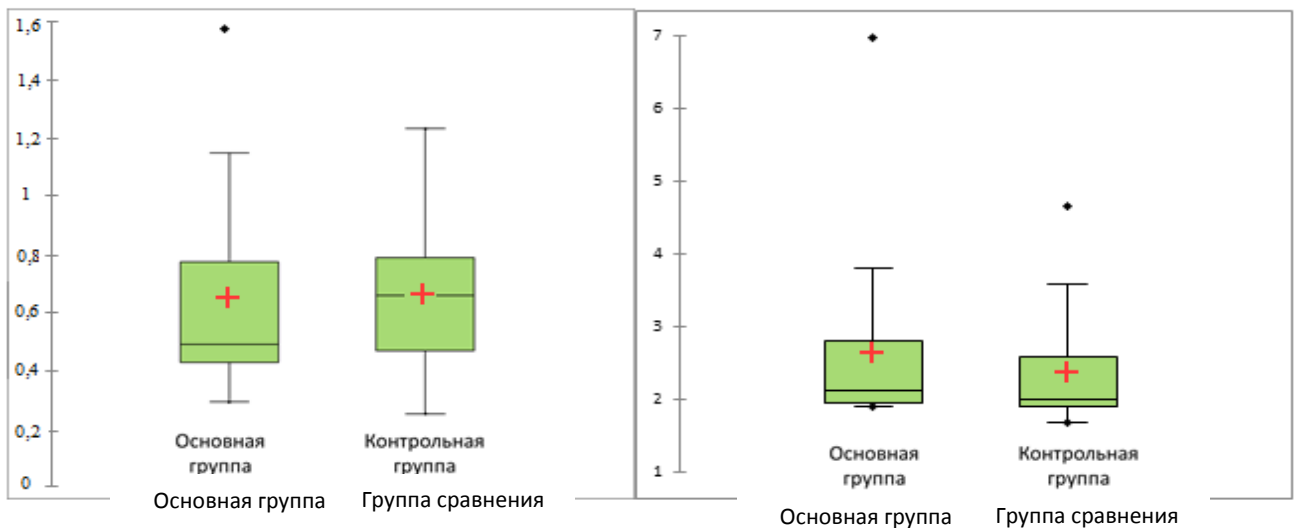
В Размах распределения уровней IL-6

Г Размах распределения уровней IL-8



Д Размах распределения уровней IL-10

Е Размах распредел



Ж Размах распределения уровней GM-CSF

З Размах распределения уровней IL-17A

Рисунок 4. Диаграмма размаха распределения уровней анализируемых показателей в основной и группе сравнения. Содержание интерлейкинов представлено в пг/мл. + - средние значение, ● – максимум и минимум. А: Р – значение для IL-2, рассчитанное с помощью U – критерия Манна – Уитни, составило 0,594; Б: Р – значение, для IL-4, составило 0,955; В: Р – значение, рассчитанное с помощью U – критерия Манна – Уитни, составило 0,046.

Также имелась тенденция к повышению IFN γ , который является важным активатором макрофагов и индуктором высвобождения молекулы основного комплекса гистосовместимости класса II (MHC).

В группе пациенток с ПЭ наблюдалась корреляция уровня IL-10 и IL-6 с уровнем общей и фетальной внеклеточной ДНК, что может свидетельствовать об интенсивности разрушения эндотелия материнских сосудов и клеток трофобласта плаценты при системном воспалительном ответе, характерном для ПЭ.

Таким образом, на основании полученных результатов, можно сделать предположение, что причиной развития ПЭ может быть разрушение эндотелия материнских сосудов и клеток трофобласта плаценты при повышенной активности провоспалительных макрофагов, обуславливающие повышение уровней общей и фетальной ДНК в крови матери.

Своевременное выявление беременных с риском реализации ПЭ имеет решающее значение для улучшения мониторинга и профилактической терапии данного осложнения для оптимизации результатов лечения и улучшения перинатальных исходов.

ВЫВОДЫ

1. К факторам риска развития преэклампсии относятся сердечно – сосудистые заболевания, нарушение жирового обмена и отягощенный семейный анамнез по преэклампсии.

2. Течение беременности при преэклампсии ассоциировано с высоким риском угрозы прерывания в первом триместре с формированием ретрохориальной гематомы, угрозой преждевременных родов и задержки роста плода во втором и третьем триместрах.

3. Уровень общей и фетальной внеклеточной ДНК в крови матери при преэклампсии имеет высокую диагностическую ценность.

4. Преэклампсия характеризуется повышением уровней провоспалительных цитокинов и наличием взаимосвязей между

внеклеточной ДНК в крови матери и цитокинами имеющими, в основном, моноцитарное происхождение.

5. Повышение уровня внеклеточной ДНК на фоне проводимой терапии преэклампсии свидетельствует о ее неэффективности и высоком риске перинатальных осложнений.

6. Разработанный алгоритм позволит оценить степень тяжести преэклампсии для решения своевременного вопроса о сроке родоразрешения для снижения перинатальных осложнений.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Беременным группы высокого риска целесообразно определение уровней свободной внеклеточной ДНК для своевременной верификации тяжести преэклампсии и определения тактики ведения.

2. У беременных с ПЭ целесообразно определение в крови уровня общей внеклеточной ДНК, имеющее высокую диагностическую ценность для оценки тяжести ПЭ.

3. Динамическое определение внеклеточной ДНК в крови матери с преэклампсией целесообразно для оценки эффективности проводимой терапии и оптимизации срока родоразрешения.

4. Ведение беременных группы высокого риска необходимо проводить согласно разработанному алгоритму.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Апоптоз и экспрессия генов ферментов антиоксидантной защиты в плаценте при преэклампсии / Сухих Г.Т., Красный А.М., Кан Н.Е., Майорова Т.Д., Тютюнник В.Л., Ховхаева П.А., Сергунина О.А., Тютюнник Н.В., **Грачева М.И.**, Вавина О.В., Озернюк Н.Д., Борис Д.А.// **Акушерство и гинекология.** - 2015. - № 3. - С. 11-15.

2. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности / **Грачева М.И.**, Кан Н.Е., Красный А.М. // **Акушерство и гинекология.** – 2016. - № 10. - С. 5-10.

3. Комбинированное исследование общей, фетальной ДНК, цитокинов в плазме крови матери при преэклампсии / Красный А.М., **Грачева М.И.**, Садекова А.А., Вторушина В.В., Балашов И.С., Кан Н.Е., Боровиков П.И., Кречетова Л.В., Тютюнник В.Л. // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.** - 2017. - Том 164, № 12. - С. 686- 691.

4. Влияние выбора тактики родоразрешения на перинатальные исходы у беременных с преэклампсией./ **Грачева М.И.**, Кан Н.Е., Донников А.Е., Тютюнник В.Л. // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. 2018. - № 8(1). - С. 41–44.

5. Новые возможности прогнозирования преэклампсии / **Грачева М.И.**, Кан Н.Е., Красный А.М.// Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии: материалы XI Всероссийского образовательного конгресса (Москва, 21 - 23 ноября 2018 г.)

6. Роль цитокинов в патогенезе развития преэклампсии / **Грачева М.И.**, Кан Н.Е., Красный А.М. // Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии: материалы XI Всероссийского образовательного конгресса (Москва, 21 - 23 ноября 2018 г.)

7. Влияние выбора тактики родоразрешения на перинатальные исходы при преэклампсии / **Грачева М.И.**, Кан Н.Е., Донников А.Е.// Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии: материалы XI Всероссийского образовательного конгресса (Москва, 21 - 23 ноября 2018 г.)

Алгоритм ведения беременных с преэклампсией

