

**Горина
Ксения Алексеевна**

**«Оптимизация акушерской тактики у пациенток высокого риска
преждевременных родов на основании комплексной оценки
клинических и молекулярно-биологических факторов»**

Специальность: 14.01.01 - Акушерство и гинекология

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва, 2021

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, профессор
доктор медицинских наук

Ходжаева Зульфия Сагдуллаевна
Припутневич Татьяна Валерьевна

Официальные оппоненты:

Серова Ольга Федоровна – доктор медицинских наук, профессор, главный врач ГБУЗ МО «Московский областной перинатальный центр», заведующая кафедрой акушерства, гинекологии и перинатологии Медико-биологического университета инноваций и непрерывного образования ГНЦ России ФГБУ «Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» ФМБА России

Шалина Раиса Ивановна – доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии педиатрического факультета ФGAOУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

Защита состоится «30» марта 2021г. в 13.00 часов 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» 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 https://science.ncagr.ru/upfiles/pdf/Gorina%20K.A.-dissertation_2021.pdf

Автореферат разослан «__» _____ 202_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Преждевременные роды (ПР) – ведущая медико-социальная проблема в области акушерства; более 15 миллионов детей ежегодно рождаются «слишком рано». Клинически ПР – это большой акушерский синдром, характеризующийся длительным субклиническим течением до развития манифестных симптомов, что требует поиска эффективных предикторов с целью последующей таргетной профилактики (Romero R. et al. 2014).

Одним из путей эффективной профилактики является правильный отбор целевой группы пациенток (Di Renzo G. et al. 2017). В этой связи определение беременных высокого риска на основании клинико-anamnestической оценки с последующим динамическим лабораторно-инструментальным тестированием является важным звеном профилактики ПР. Ведущим фактором риска ПР с доказанной причинно-следственной связью является инфекция нижнего генитального тракта (НГТ) (Reekie J. et al. 2018). Микробиологическая и молекулярно-генетическая верификация возбудителя - еще один этап стратификации риска ПР (Ходжаева З.С. и соавт. 2019). Персистенция возбудителя может приводить к его ретроградной диссеминации в полость матки и инициации внутриамниотического воспаления (ВАВ), преимущественно протекающего, как латентный хориоамнионит (Oh K.J. et al. 2017). Современные постгеномные метаболомные подходы с исследованием биоактивных липидов, органических кислот и других низкомолекулярных соединений позволяют оценить наличие ВАВ (Maddipati K.R. et al. 2016). Однако данный метод требует проведения инвазивной процедуры. В данной связи перспективным субстратом выступает цервикалоагинальная жидкость (ЦВЖ) (Parry S. et al. 2019).

Определение степени зрелости легких плода на основании оценки количества ламеллярных телец (ЛТ) в амниотической жидкости (АЖ) позволяет оптимизировать показания для назначения повторной профилактики РДС плода (Mitsiakos G. et al. 2013), учитывая неблагоприятное воздействие последней на перинатальное программирование.

Глобальный проект «Микробиом человека» позволил получить результаты, доказывающие влияние кишечной микробиоты (КМ) на течение беременности и исходы родов, а также перинатальное программирование (Maddipati K.R. et al. 2016). В аспекте ПР, активно рассматривается иммуномодулирующий потенциал КМ, вносящий дополнительный вклад в системное воспаление, называемое метаболомической эндотоксинемией (Mokkala K. et al. 2016).

Исследование причин и определение методов таргетной профилактики ПР является принципиальной клинической и исследовательской задачей, направленной на улучшение перинатальных исходов.

Степень разработанности темы исследования

Оценка предвестников и признаков ВАВ, как ведущего триггерного фактора, запускающего родовую деятельность и/или преждевременное излитие околоплодных вод (ПРПО), является важным аспектом профилактики ПР. Большое количество данных связано с определением молекулярно-биологических паттернов в АЖ, однако данный метод требует назначения инвазивной процедуры – трансабдоминального (ТА) амниоцентеза, что сопряжено с дискомфортом для пациента и экономическими затратами. Поэтому особый клинический интерес представляет поиск неинвазивных методов, одним из которых на современной «исследовательской арене» выступает анализ ЦВЖ. Микроорганизмы – комменсалы КМ были обнаружены в АЖ пациенток с ПРПО, что подтверждает их связь, вероятнее всего - этиологическую, в развитии ВАВ и обуславливает необходимость диагностики нарушений нормальной микрофлоры не только половых путей, но и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Большинство исследований оценивают вклад отдельных узконаправленных факторов. Однако, только комплексный анализ факторов, вносящих вклад в развитие ПР, таких как преждевременное «созревание» шейки матки, нарушение нормальной микробиоты влагалища и кишечника, высокотехнологичные предикторы (постгеномные метаболомные профили) у пациенток группы высокого риска ПР, способны эффективно реализовать программы, направленные на профилактику данного большого акушерского синдрома.

Цель исследования:

Прогнозирование и оптимизация выбора акушерской тактики у беременных высокого риска преждевременных родов на основании изучения клинических, микробиологических и молекулярно-биологических исследований.

Задачи исследования:

1. Представить сравнительную клинико-anamнестическую характеристику беременных высокого риска с ПР и своевременными родами (СР).
2. Выявить клинико-лабораторные факторы риска спонтанных ПР у беременных высокого риска на основании комплексного подхода, включая исследование АЖ.
3. Оценить степень зрелости легких плода в зависимости от наличия/отсутствия инфекционно-воспалительных маркеров у пациенток группы высокого риска развития ПР.
4. Провести сравнительный анализ метаболомного профиля АЖ и ЦВЖ пациенток группы высокого риска с ПР и СР.
5. Изучить состояние КМ при ПР и сравнить полученные данные с пациентками, родившими в срок.

- б. На основании полученных данных выявить инфекционно-воспалительные предикторы ПР и обосновать диагностические и терапевтические подходы в ведении пациенток высокого риска.

Научная новизна

Проведена детальная клинико-анамнестическая характеристика беременных, группы высокого риска с анализом исходов беременности и родов с учетом срока беременности на момент родоразрешения (см. приложение 1). Выявленные молекулярные маркеры в АЖ позволяют объективизировать показания для проведения профилактики РДС плода.

Впервые проведено исследование метаболомного профиля АЖ и ЦВЖ беременных высокого риска, определены паттерны наиболее значимых органических кислот и их концентрации. Полученные панели метаболитов позволили разработать математические модели, прогнозирующие спонтанные ПР. Разработанные модели, использующие концентрации *N*-ацетиласпарагиновой кислоты, *2*-гидрокси-*3*-метилпентановой кислоты и *4*-гидроксифенилпировиноградной кислоты в АЖ, характеризуются чувствительностью 92% и специфичностью 38%. Модель, использующая концентрации *N*-ацетил тирозина, *2*-оксоадипиновой кислоты, *3*-метилглутаконовой кислоты и *4*-гидроксифенилпировиноградной кислоты в ЦВЖ, характеризуется чувствительностью 92% и специфичностью 82%.

В результате проведенного исследования, показана целесообразность анализа кишечной микробиоты пациенток с ПР, подтверждена роль условно-патогенных микроорганизмов в формировании субклинических дисбиотических процессов ЖКТ, которые, усиливают общий провоспалительный потенциал организма.

Теоретическая и практическая значимость

Проведенный детальный анализ клинико-анамнестических факторов риска ПР, а также течения беременности позволяет оптимизировать предикцию и акушерскую тактику при угрожающих ПР. Ряд сложившихся методик, таких как антибиотикопрофилактика, «тотальная» профилактика РДС плода без строгого учета клинико-лабораторных критериев неминуемых ПР, значений длины шейки матки в зависимости от триместра беременности, не подтвердили своей информативности и значимости.

Определение степени зрелости легких плода на основании оценки количества ЛТ в АЖ позволяет оптимизировать показания для назначения повторного курса профилактики РДС плода. Идентифицированная панель метаболитов органических кислот в АЖ (чувствительность 0,92, специфичность 0,38) и в ЦВЖ (чувствительность 0,92, специфичность 0,82), ассоциированная с ПР, позволяет прогнозировать их наступление.

Разработан и введен в клиническую практику алгоритм ведения пациенток высокого риска ПР, основанный на комплексной оценке стандартных клинико-лабораторных параметров, дополненных специальными методами исследования (см. приложение 2).

Положения, выносимые на защиту:

1. Экстремально ранние и очень ранние преждевременные роды отмечаются у беременных ≥ 35 лет с привычным выкидышем в анамнезе и манифестацией дисбиотических нарушений микрофлоры влагалища с I триместра. Повторные выскабливания полости матки, инфекции, передаваемые половым путем, пороки развития матки, гематомы и эпизоды кровотечений в I триместре превалируют при ранних преждевременных родах. Ожирение является фактором риска, независимым от срока преждевременных родов.
2. Прогностическим критерием преждевременных родов в III триместре беременности является длина шейки матки менее 15 мм. Профилактика РДС плода в 34% случаях была проведена пациенткам, родившим своевременно, и нуждается, в четких показаниях и критериях угрожающих преждевременных родов. Системная антибактериальная терапия должна назначаться исключительно по строгим клинико-лабораторным показаниям. Повторные курсы антибактериальной терапии не способствуют пролонгированию беременности.
3. Маркерами внутриамниотического воспаления являются уровень нейтрофилов $\geq 83\%$ (чувствительность 82% и специфичность 42%), а также метаболиты органических кислот: *N*-ацетиласпарагиновой, *2*-гидрокси-*3*-метилпентановой и *4*-гидроксифенилпировиноградной (чувствительность 92% и специфичность 38%). В цервикагоинальной жидкости наличие метаболитов органических кислот: *2*-оксоадипиновой, *3*-метилглутаконовой, *4*-гидроксифенил-пировиноградной и *N*-ацетил тирозина прогнозирует вероятность наступления спонтанных преждевременных родов (чувствительность 92% и специфичность 82%).
4. Преждевременные роды ассоциированы с дисбалансом кишечной микробиоты, вызванной ростом факультативно-анаэробных условно-патогенных микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* и/или *Klebsiella pneumoniae* на фоне «обеднения» облигатно-анаэробными бактериями семейства *Bacteroidaceae*.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе тематики исследования, формировании плана научной работы, формулировке цели и задач, сборе биоматериала, структурировании, статистическом анализе данных и написании научных статей по результатам, проведенной работы. Диссертант проанализировал данные медицинской документации, выполнил клиническую часть работы и обобщил полученные результаты.

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, 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация результатов

Результаты исследования представлены на 26 Европейском конгрессе EBCOG (Париж, 2018), на международных совещаниях PREBIC (Москва, 2018 и Хорватия, 2019), на XXI Всероссийском научно-образовательном форуме Мать и Дитя (Москва, 2020). В конкурсе молодых ученых XII Регионального научно-образовательного форума "Мать и Дитя" (Сочи, 2019) доклад занял I место. В рамках диссертационной работы получен грант РФФИ (№ 19-315-90104) за лучшие проекты, выполняемые молодыми учеными. Работа обсуждена на межклинической конференции (13.08.2020) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (07.09.2020, протокол №27).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанные выводы и положения, базирующиеся на результатах исследования, используются в практической деятельности отделений и лабораторий ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Основные заключения и рекомендации по итогам работы включены в лекции и практические семинары для клинических ординаторов и аспирантов. По теме диссертации опубликовано 14 печатных научных работ, в том числе 7 статей - в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК («Акушерство и гинекология», «Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения»).

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, глав собственного исследования, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Работа представлена на 169 страницах, иллюстрирована 40 рисунками и 28 таблицами. Библиографический указатель включает 4 работы на русском и 195 - на английском языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследование включено 240 беременных, которые были разделены на 3 группы: I группу составили беременные высокого риска, родившие преждевременно (ВР ПР, n=80), II группу - беременные высокого риска, родившие своевременно (ВР СР, n=70) и III группу - здоровые беременные, родившие в срок (НР СР, n=90). Учитывая высокую гетерогенность внутри популяции ПР для детализации факторов риска пациентки групп высокого риска, были разделены на подгруппы в зависимости от гестационного срока на момент родоразрешения, представленные в таблице 1.

Таблица 1

Подгруппы	Характеристика подгрупп	Количество беременных
Ia подгруппа	беременные ВР, родившие в сроках 22 ⁰ – 29 ⁶ недель	20
Ib подгруппа	беременные ВР, родившие в сроках 30 ⁰ – 33 ⁶ недель	30
Ic подгруппа	беременные ВР, родившие в сроках 34 ⁰ – 36 ⁶ недель	30
IIa подгруппа	беременные ВР, родившие в сроках 37 ⁰ – 37 ⁶ недель (ранние своевременные роды)	20
IIb подгруппа	беременные ВР, родившие в сроках 38 ⁰ и более недель	50

✓ Критерии включения для всех участников исследования:

1. Информированное согласие на участие в исследовании,
2. Одноплодная беременность.

✓ Критерии формирования группы высокого риска ПР:

- Анамнестические данные: спонтанные ПР, потери беременности во II триместре, бессимптомное укорочение шейки матки;
- Изменения шейки матки во время данной беременности (укорочение и сглаживание): по данным УЗ-цервикометрии длина шейки матки < 25мм, и/или клинические признаки - централизация, размягчение, расширение.

✓ Критерии включения пациентов в группу ВР ПР с целью культуральной и молекулярно-биологической оценки АЖ:

1. Срок беременности 29⁰ - 36⁰ недель беременности,
2. Наличие критериев высокого риска ПР (см. выше),
3. Добровольное информированное согласие пациентки на участие в исследовании и проведение процедуры ТА-амниоцентеза,

✓ Критерии невключения для всех участников исследования: многоплодная беременность, предлежание и/или вращение плаценты, хромосомные аномалии у плода, синдром задержки роста плода, преэклампсия, тяжелая экстрагенитальная патология.

Пациентки с ПР составили основную группу в исследовании, в котором были детально проанализированы клиничко-анамнестические, инструментальные и лабораторные данные с оценкой акушерских и неонатальных исходов. На II этапе, после подписания информированного согласия пациенткам из группы высокого риска было предложено проведение диагностического ТА-амниоцентеза под УЗ-ассистенцией с целью исключения микробной инвазии в амниотическую полость; одновременно проводился комплексный анализ влагалищной микробиоты. На третьем этапе исследования проводилось молекулярно-биологическое исследование образцов плазмы крови, АЖ и ЦВЖ с определением потенциальных маркеров, ассоциированных с ПР (ИЛ-6, нейтрофилы, ЛТ, органические кислоты). На четвертом этапе был проведен сравнительный анализ КМ в раннем послеродовом периоде у пациенток, родивших преждевременно и в доношенном сроке беременности. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

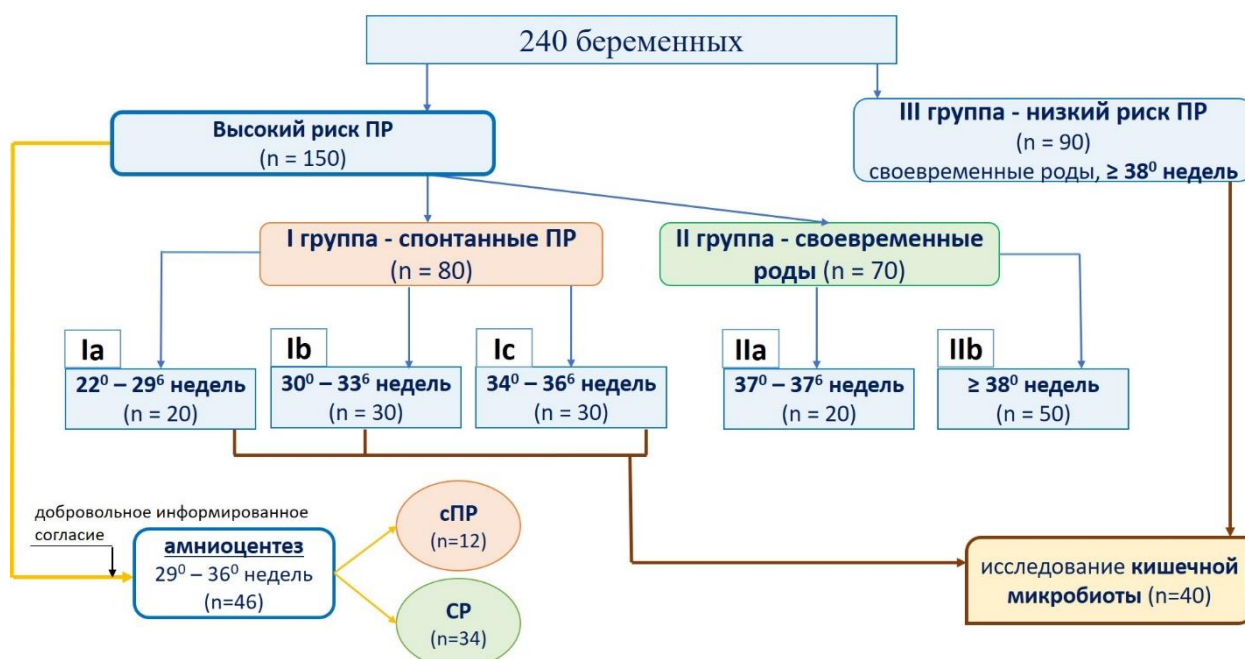


Рисунок 1. Дизайн исследования.

Все анализируемые результаты вносились в индивидуально разработанную регистрационную карту и в электронную базу данных на платформе MS Excel Microsoft. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистических программ IBM SPSS Statistics v22 (США) и GraphPad Prism 8.3 (США).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Комплексный анализ клинико-anamnestических данных

Средний возраст обследованных пациенток, составил $32,01 \pm 4,69$ лет. Возраст пациенток высокого риска, родивших преждевременно, был достоверно выше ($33,82 \pm 5,31$) по сравнению с родившими своевременно ($31,09 \pm 4,07$; $p=0,0007$) и группой контроля ($31,06 \pm 4,04$; $p=0,0002$). При сравнительном анализе экстрагенитальной патологии в анамнезе не выявлено статистически значимых различий между подгруппами, общая коморбидность была в равной степени распространена между группами. Однако, при анализе частоты встречаемости ожирения между группами выявлены статистически значимые различия. В группе ВР ПР избыточная масса тела встречалась чаще (18,75%) в сравнении с группой контроля (5,56%; $p=0,0089$, ОШ 3,92 95% ДИ 1,434 – 10,16).

При изучении специфики гинекологического анамнеза обследованных беременных, удалось выявить ряд факторов, ассоциированных с развитием ПР. Операция *abrasio cavi uteri* чаще встречалась в подгруппе Ib – ранних ПР в отличие от группы контроля ($p=0,0104$; ОШ 3,29 95% ДИ 1,353 – 7,523), при этом количество процедур было достоверно больше в подгруппах Ia и Ib по сравнению с контрольной группой ($p=0,0075$ и $p=0,0136$, соответственно). Инфекции, передаваемые половым путем (такие как *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Treponema pallidum* и др.) статистически значимо чаще встречались в подгруппе Ib по сравнению с группой контроля ($p=0,0018$; ОШ 4,529 95% ДИ 1,825 - 11,53). Детальный спектр гинекологической патологии представлен на рисунке 2.

Гинекологический анамнез обследованных женщин

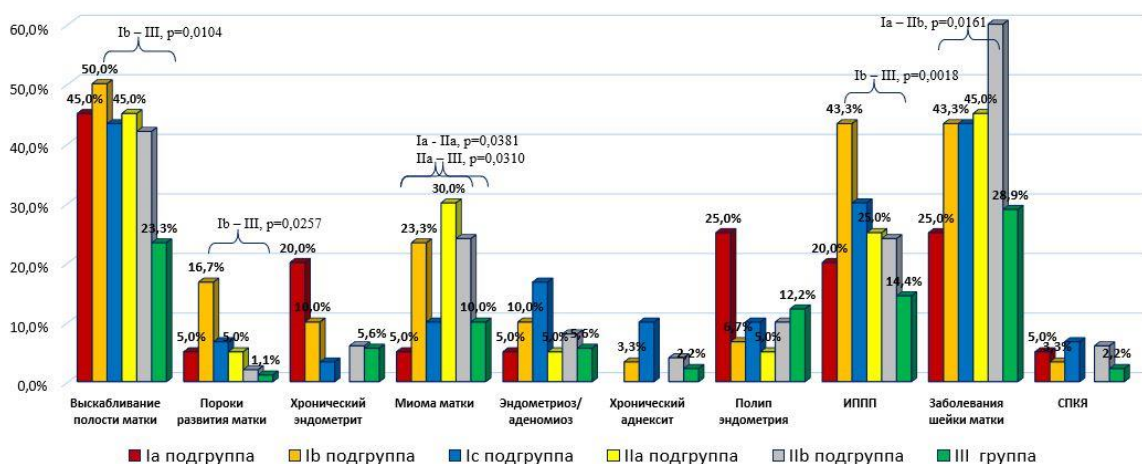


Рисунок 2. Гинекологический анамнез обследованных женщин.

Анализ репродуктивного потенциала, показывает, что пациентки высокого риска, родившие, как своевременно, так и преждевременно, имели большее среднее количество беременностей и родов (подгруппы Ib - III - $p=0,0144$), среди них чаще встречались

повторнородящие, однако достоверные различия были найдены в подгруппах Ia ($p=0,0173$; ОШ 3,692 95% ДИ 1,323 – 10,35), Ib ($p=0,0040$; ОШ 3,692 95% ДИ 1,589 – 8,374), Ic ($p=0,0069$; ОШ 3,487 95% ДИ 1,471 – 7,998) и IIa (ранние СР, $p=0,0359$; ОШ 3,009 95% ДИ 1,065 – 7,819) по сравнению с группой контроля. Неразвивающаяся беременность ($p=0,0172$) и привычный выкидыш ($p=0,0060$; ОШ 5,519 95% ДИ 1,764 – 16,39) в анамнезе статистически значимо чаще встречались в подгруппе Ia, являясь фактором риска экстремально и очень ранних преждевременных родов. ПР в анамнезе, статистически значимо чаще встречались в подгруппах Ia, Ib и Ic ($p < 0,0001$).

Анализ течения беременности показал, что ретрохориальная/ретроамниотическая гематома и эпизоды кровянистых выделений из половых путей достоверно чаще отмечались в подгруппе Ib - ранних ПР в сравнении с контролем ($p=0,0121$ и $p=0,0014$, соответственно). Начиная с I триместра фиксируются нарушения микрофлоры влагалища, ассоциированные с ПР, причем с увеличением срока гестации на момент родов снижается количество таких случаев в подгруппе (Ia – 25%, Ib – 13,33%, Ic – 10,00%). Статистически значимые различия получены в подгруппе Ia - экстремально и очень ранних ПР (у каждой четвертой пациентки) в сравнении с группой контроля ($p=0,0048$; ОШ 9,667 95% ДИ 2,117 – 38,28).

В нашем исследовании оценивалось применение системной антибактериальной терапии во II и III триместрах. Всем пациенткам групп высокого риска статистически значимо чаще в сравнении с группой контроля назначалась антибактериальная терапия, причем наиболее часто - в подгруппах Ia (75%) и Ib (63,33%). При детальном межгрупповом анализе найдены статистически значимые различия у пациенток высокого риска, как между подгруппами, родившими преждевременно Ia и Ic ($p=0,0034$; ОШ 7,000 95% ДИ 1,879 – 24,08), так и между подгруппами Ia и Ib – пациентками ВР, родившими в срок ($p=0,0353$; ОШ 3,522 95% ДИ 1,189 – 9,851). При анализе частоты назначения системной антибактериальной терапии пациенткам ВР ПР отмечена обратно пропорциональная зависимость со сроком беременности. Среднее количество курсов системной антибактериальной терапии в течении всей беременности было статистически значимо выше у всех пациенток ВР ПР, при межгрупповом анализе статистически значимые различия отмечались в подгруппах Ia и Ic ($p < 0,0001$). График, отражающий срок родоразрешения и общее количество курсов антибактериальной терапии представлен на рисунке 3.



Рисунок 3. Срок родоразрешения и общее количество курсов антибактериальной терапии.

Основополагающим элементом профилактики ПР является оценка длины шейки матки и своевременная коррекция истмико-цервикальной недостаточности (ИЦН). Для оценки диагностической значимости длины шейки матки в III триместре проводился ROC-анализ, AUC (площадь под кривой) составила 0,74 [95% ДИ 0,68 – 0,81; $p < 0,0001$], график представлен на рисунке 4. При значениях длины шейки матки 15 мм и менее с чувствительностью 91,7% и специфичностью 32,9% наиболее вероятны ПР.

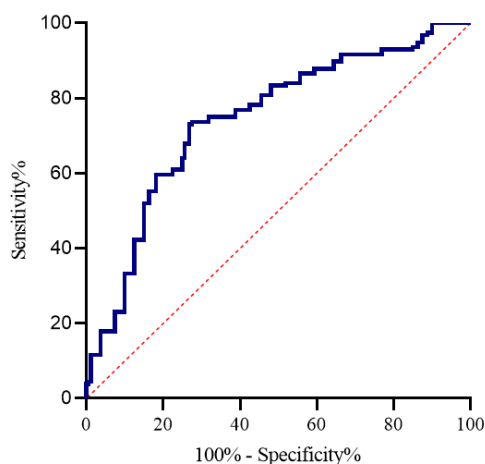


Рисунок 4. ROC-анализ, оценка диагностической значимости длины шейки матки в III триместре беременности.

Профилактика РДС плода - необходимый компонент менеджмента ПР. Всего проведен 101 курс антенатальной профилактики (42,08%, 101/240), из них 31 курс у пациенток с СР (30,69%, 31/101), то есть треть курсов была выполнена нецелесообразно. Разница между сроком проведения профилактики РДС плода и сроком родоразрешения в подгруппе Па (роды в 37⁰ - 37⁶ недель) составила $7,5 \pm 2,91$ недель. При более детальном анализе подгруппы Ib стандартное отклонение интервала между проведением курса и

родами составляет $2,2 \pm 2,91$ недель, то есть в ряде случаев время между проведением профилактики и родоразрешением составило более 5 недель, в то время как эффект от проведенной терапии длится 7 дней. Полученные данные убедительно свидетельствуют о необходимости обоснования диагноза угрожающих ПР на основании объективных клинико-лабораторных критериев, а самое главное – взвешенном подходе к проведению первого курса профилактики РДС плода.

Исследование АЖ и ЦВЖ пациенток высокого риска, прошедших амниоцентез, а также микробиоты влагалища и кишечника

Фундаментальный этап данной работы, представлял проспективный анализ, в который включены 46 беременных высокого риска ПР из общего числа пациенток, подписавших добровольное информированное согласие на проведение ТА-амниоцентеза. Пациентки были разделены на две группы в зависимости от срока родоразрешения – преждевременные ($n=12$) и своевременные роды ($n=34$), средний срок родов составил $35,1 \pm 1,5$ недель и $38,6 \pm 0,9$ недель, соответственно. Срок беременности на момент проведения амниоцентеза составил $32,4 \pm 2,1$ недель. Исследование проводилось одномоментно, то есть параллельно с забором амниотической жидкости происходило взятие остального биоматериала. Таким образом, учитывая, что деление пациентов на группы проводилось уже после родоразрешения, исключался субъективный вклад авторов при делении групп.

Анализ маркеров воспаления и зрелости легочной ткани плода в АЖ

С целью оценки потенциальных предикторов ПР проведен детальный сравнительный анализ состава АЖ. Статистически значимой оказалась разница в количестве ламеллярных телец ($p=0,0456$), нейтрофилов ($p=0,0480$) и общего белка ($p=0,0490$). С целью выявления порогового значения количества нейтрофилов, при котором наиболее вероятны ПР был проведен ROC-анализ (рисунок 5А). Полученные данные показали, что при уровне нейтрофилов более 83,8% с чувствительностью 82,4% и специфичностью 41,7% вероятны ПР, площадь под кривой составила 0,69 [95% ДИ 0,53 - 0,86; $p=0,047$]. Для оценки влияния воспалительного процесса на зрелость легочной ткани плода проводился корреляционный анализ, между уровнем нейтрофилов и количеством ЛТ, отмечена положительная взаимосвязь ($r=0,33$, $p=0,046$), что может свидетельствовать о потенцирующем эффекте воспаления на выработку сурфактанта пневмоцитами II порядка (рисунок 5В).

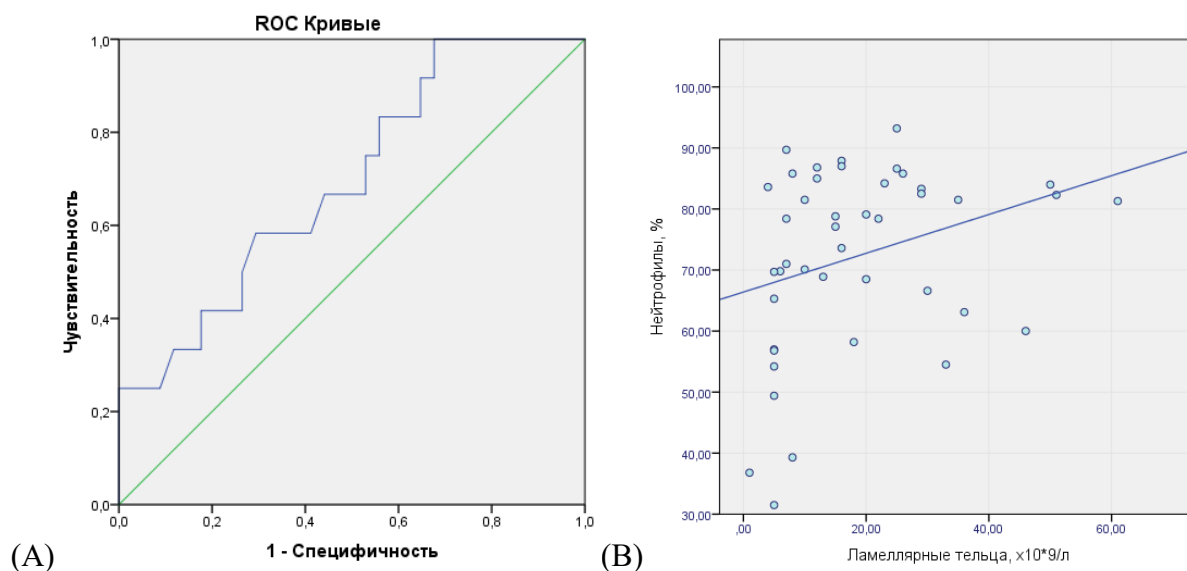


Рисунок 5. (А) ROC-кривая прогнозирования ПР в зависимости от количества нейтрофилов в АЖ; (В) Диаграмма рассеяния, отражающая взаимосвязь между уровнем нейтрофилов и количеством ЛТ

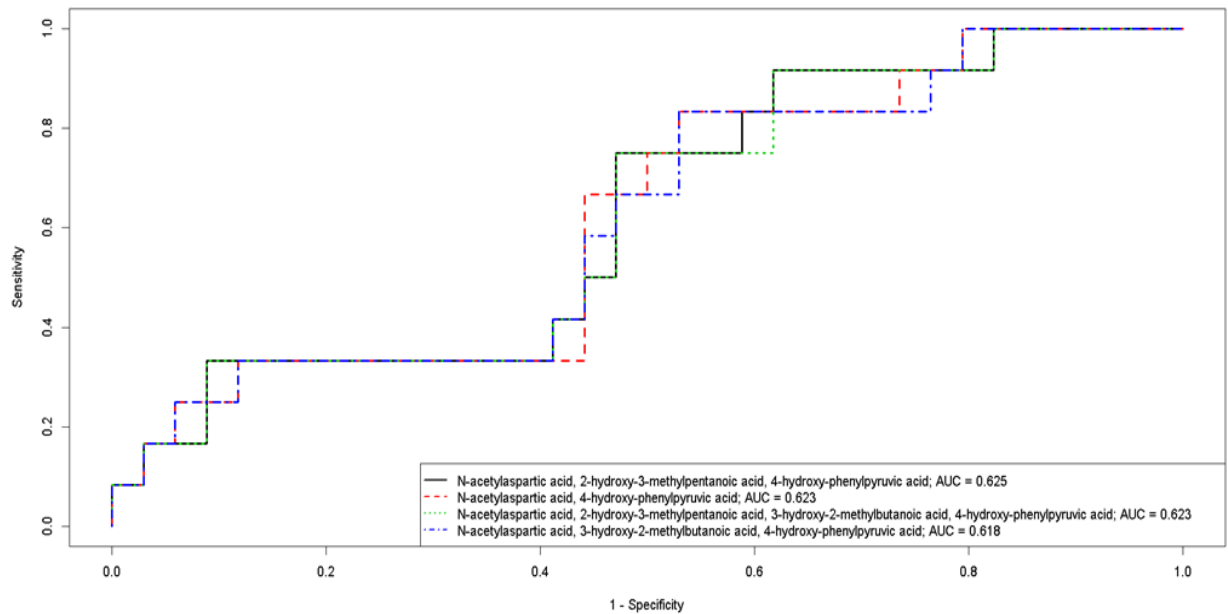
Метаболомный анализ амниотической и цервикагинальной жидкостей

При анализе метаболомного профиля АЖ пациенток с ПР наибольшая концентрация наблюдалась для *N*-ацетиласпарагиновой кислоты (NAA), которая повышает сократительную способность клеток гладкой мускулатуры, а также участвует в воспалительном каскаде и приводит к окислительному стрессу. Статистически значимые различия получены для *2*-гидрокси-*3*-метилпентановой и *3*-гидрокси-*2*-метилбутановой кислот, участвующих в метаболизме изолейцина, проявляющего противовоспалительную активность. Были построены четыре модели логистической регрессии органических кислот с максимальным значением AUC. ROC-кривые данных моделей представлены на рисунке 6А.

ЦВЖ является первичным адаптивным звеном иммунного ответа. В нашем исследовании в ней доминировала *янтарная кислота*, которая участвует в цикле трикарбоновых кислот. Как и в АЖ, *2*-гидрокси-*3*-метилпентановая кислота имела более высокую концентрацию у пациенток из группы СР, что подтверждает ее протективный вклад, как ингибитора провоспалительных медиаторов. *4*-гидроксифенилпировиноградная кислота в группе женщин с СР встречалась в следовых количествах, в то время как в группе ПР значения достигали 3 мкг/мл. Не исключено, что данный факт может отражать микробный композиционный состав микробиоты влагалища, так как она является метаболитом бактерий рода *Escherichia*. Производные молочной кислоты в большей концентрации встречались у пациенток из группы СР, что, несомненно, отражает и подтверждается доминированием представителей семейства *Lactobacillus*. Были построены

четыре модели логистической регрессии на основе уровней четырех органических кислот в ЦВЖ с максимальным значением AUC - не менее 0,8. ROC-кривые данных моделей представлены на рисунке 6В.

(А)



(В)

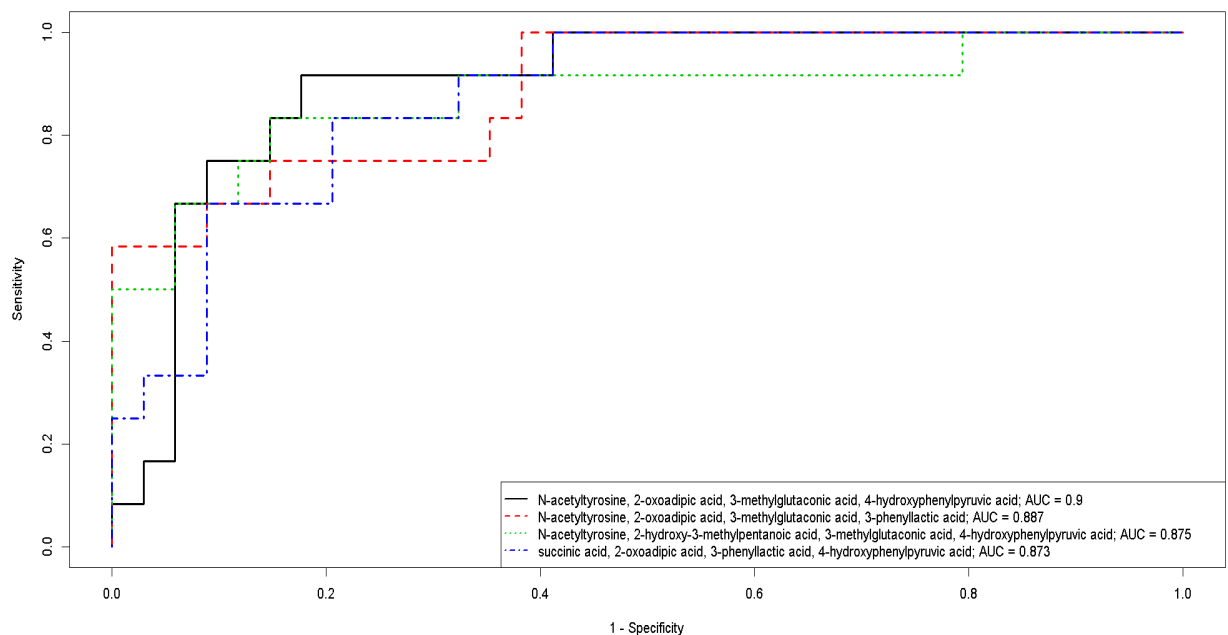


Рисунок 6. ROC-кривые моделей логистической регрессии, разработанные на основании концентраций органических кислот в АЖ (А) и ЦВЖ (В).

Исследование микробиоты влагалища у пациенток высокого риска ПР

В нашем исследовании проведена детальная сравнительная оценка видового состава лактобацилл в группах ПР и СР, представленная на рисунке 7. В группе пациенток с ПР отмечено меньшее видовое разнообразие лактобацилл, и меньшая частота выделения

отдельных представителей рода *Lactobacillus*. Статистически значимые различия получены для вида *L. crispatus* ($p=0,0440$; ОШ 0,21 95% ДИ 0,05 – 0,89), который в группе ПР встречался у 25% (3/12) пациенток, а в группе СР у 62% (21/34). Отмечено доминирование *L. iners* в группе ПР, что подтверждает наличие дисбиотических нарушений во влагалище.

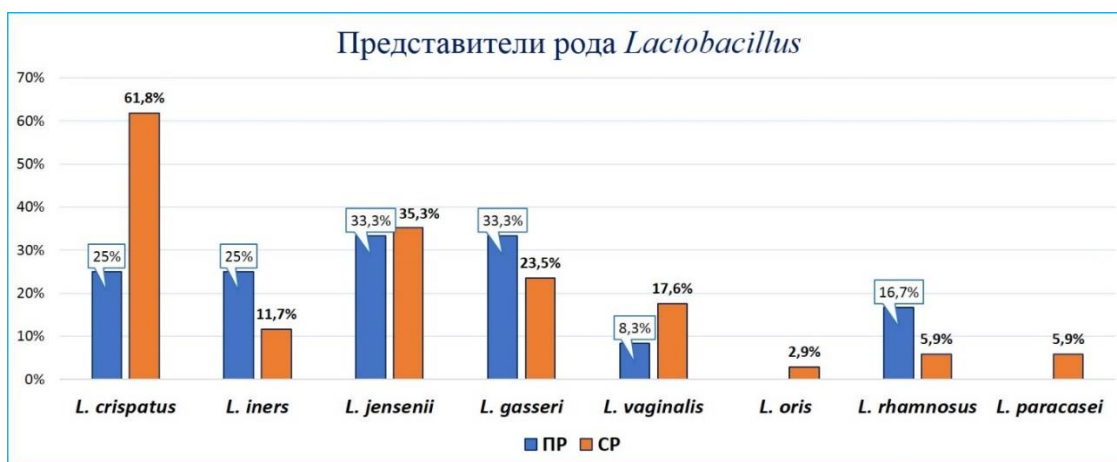


Рисунок 7. Сравнительная оценка видового состава лактобацилл в группах преждевременных и своевременных родов.

Видовой состав микробиоты влагалища обеих групп показан на круговой гистограмме на рисунке 8. Статистически значимые различия получены для *E. coli* ($p=0,0326$) – отмечалась их большая распространенность и *L. crispatus* ($p=0,0440$), которые представлены со значимой редукцией в группе ПР.

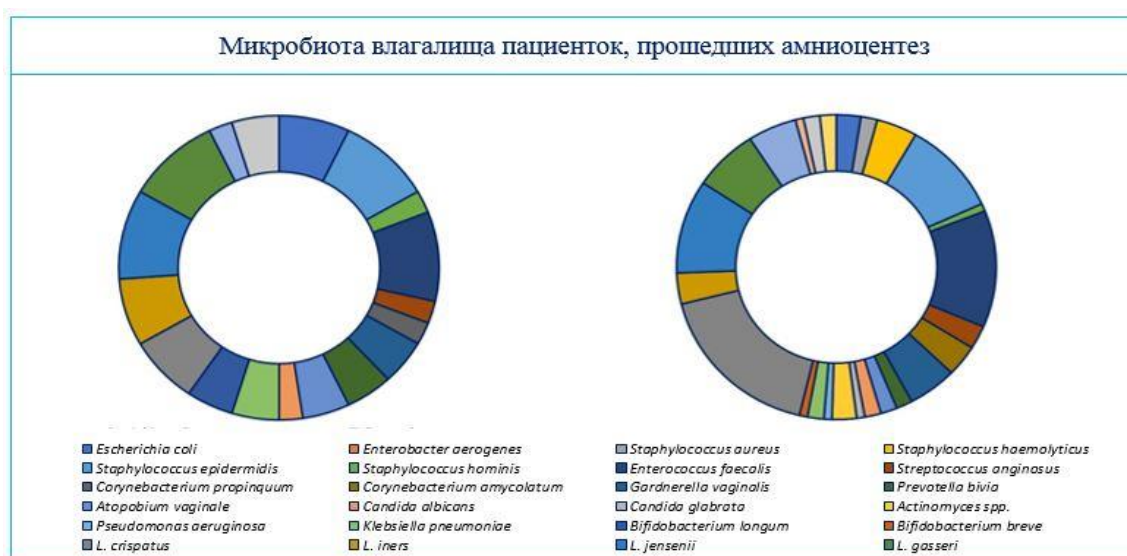


Рисунок 8. Видовой состав микробиоты влагалища пациенток, при проведении амниоцентеза в группах преждевременных (слева) и своевременных (справа) родов.

Анализ кишечной микробиоты пациенток с ПР

С целью изучения потенциального влияния КМ матери на реализацию ПР у пациенток высокого риска, родивших преждевременно (I группа) и соматически здоровых

женщин безотягощенного акушерского анамнеза (II группа) был исследован кал на 1 – 3 сутки послеродового периода. Клинико-анамнестическая характеристика пациенток была описана выше. Группы были сопоставимы по возрасту, массо-ростовым показателям и индексу массы тела. В акушерском анамнезе пациенток из группы ПР статистически значимо чаще по сравнению со своевременными родами отмечались ПР в анамнезе ($p=0,04$), ИЦН (40% и 10%), соответственно, $p=0,029$) с проведенной коррекцией в виде серкляжа (75%) или акушерского pessaria (25%). Назначение антибактериальной терапии в III триместре беременности было более частым в I группе у 7 из 20 беременных (35%), чем в контрольной: у одной из 20-ти пациенток (5%, $p=0,02$).

При изучении особенностей КМ пациенток с ПР был проведен детальный анализ ее состава в исследованных группах (рисунок 9). Необходимо подчеркнуть, что при одинаковом таксономическом разнообразии отмечается «обеднение» практически всех представителей нормальной микробиоты кишечника у пациенток с ПР.



Рисунок 9. Сравнительный анализ состава КМ в группах преждевременных и своевременных родов.

Согласно полученным данным, со спонтанными ПР ассоциирован рост условно-патогенной микрофлоры (УПМ) в виде *Staphylococcus aureus*, который встречался у 50% (10/20) пациенток с ПР. Обильный рост *S. aureus* (более 1×10^4 КОЕ) у пациенток с ПР составил 40% (8/20), что является статистически значимым ($p=0,02$, ОШ 12,67 95% ДИ 1,8 – 146,6) по сравнению с СР (отмечен у 5% (1/19) пациенток). Обильный рост *Klebsiella pneumoniae* отмечен у 40% (8/20), то есть у всех пациенток в группе ПР, причем значение

было не менее 1×10^6 КОЕ, в то время как у пациенток из группы контроля она встречалась в 5% (1/19), данные различия, аналогично *S. aureus* были статистически значимыми ($p=0,02$, ОШ 12,67 95% ДИ 1,8 – 146,6). КМ участниц исследования представлена в виде тепловой карты на рисунке 10.

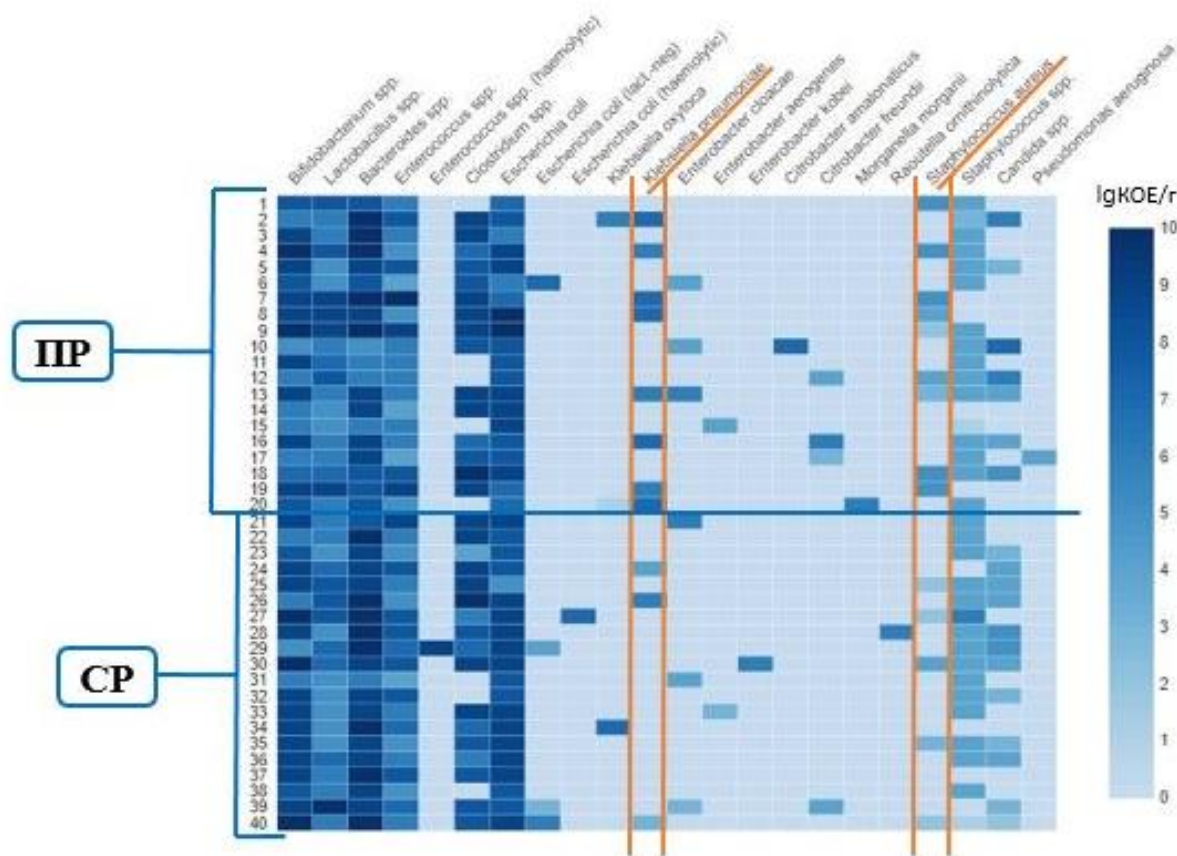


Рисунок 10. Тепловая карта представителей КМ при преждевременных и своевременных родах.

Тепловая карта отражает графическое изображение полученных данных и полный спектр микроорганизмов, обнаруженный у родильниц с ПР и СР (I и II группы). Каждая тонкая горизонтальная линия представляет собой состав КМ родильницы (n=40). Каждая ячейка отображает степень обсемененности микроорганизмами в lgKOE/г.

ВЫВОДЫ

1. Стратификация беременных высокого риска развития ПР на основании анамнестических данных является важной составляющей оптимизации акушерского менеджмента. К анамнестическим факторам риска относятся ожирение, неоднократные выскабливания полости матки, перенесенные ИППП, паритет, неразвивающиеся беременности и привычное невынашивание, ПР с прямой зависимостью от количества их случаев в анамнезе. К не модифицируемым факторам риска ПР относится возраст старше 35 лет.

2. Особенности течения беременности у пациенток высокого риска ПР характеризуются повторными эпизодами угрозы прерывания и кровянистых выделений из половых путей, нарушениями микробиоты влагалища с ранних сроков, наличием ГСД у пациенток с поздними преждевременными родами. Длина шейки матки менее 15 мм в III триместре беременности является прогностическим критерием неминуемых ПР с чувствительностью 92% и специфичностью 33%.
3. Количество ламеллярных телец в амниотической жидкости отражает степень зрелости легких плода, а также пропорционально степени внутриамниотического воспаления. Уровень нейтрофилов амниотической жидкости более 83,8% с чувствительностью 82% и специфичностью 42% позволяет прогнозировать развитие ПР.
4. Модель, построенная на панели «*N*-ацетиласпарагиновая кислота, 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная кислота» в АЖ с чувствительностью 92% и специфичностью 38% предсказывает вероятность досрочного родоразрешения. Для ЦВЖ характерны более высокие прогностические характеристики, так модель, использующая панель «*N*-ацетил тирозин, 2-оксоадипиновая кислота, 3-метилглутаконовая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная кислота» обладает чувствительностью 92% и специфичностью 82%.
5. Рост условных патогенов *E. coli* и *E. faecalis* на фоне дефицита представителей семейства *Lactobacillus*, в частности *L. crispatus* во влагалищном микробиоме, выявленный накануне родоразрешения, статистически значимо доминировал среди пациенток высокого риска, родивших преждевременно.
6. Среди пациенток с ПР отмечается выраженный дисбаланс КМ, ассоциированный с увеличением численности факультативно-анаэробной условно-патогенной микрофлоры в виде *Staphylococcus aureus* и/или *Klebsiella pneumoniae*, а также скудное количество облигатно-анаэробного компонента - бактериоидов.
7. Объективизация диагноза «истинных» угрожающих ПР возможна на основании данных УЗ-цервикометрии, клинико-лабораторных маркеров воспаления в амниотической жидкости, микробиологического контроля НГТ и КМ, а также оценки метаболомной панели органических кислот в ЦВЖ. Наличие нескольких факторов свидетельствует о высоком риске ПР и позволяет объективизировать показания для назначения токолитической терапии, профилактики РДС плода.
8. В клинически спорных случаях для определения зрелости легочной ткани плода, а также для выявления признаков ВАВ и/или микробной инвазии в амниотическую полость возможно проведение ТА-амниоцентеза под УЗ-ассистенцией, в том числе для

объективизации показаний для назначения системной антибактериальной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На этапе планирования беременности при выявлении факторов высокого риска ПР необходимо тщательное дообследование, включая повторную оценку соматического, гинекологического и репродуктивного анамнезов, течения предыдущей/предыдущих беременностей и особенностей родоразрешения для персонифицированного определения комплекса диагностических и лечебно-профилактических мер.
2. При наличии анамнестических критериев высокого риска стартовым этапом диагностических мероприятий выступает расширенный динамический микробиологический мониторинг-контроль состояния микрофлоры НГТ, включающий культуральные и молекулярно-генетические методы детекции микроорганизмов.
3. При наличии в анамнезе данных, указывающих на нарушения в работе ЖКТ по типу дисбиоза, а также у пациенток высокого риска с клинической картиной угрожающих ПР, при исключении других возможных причин, следует провести оценку КМ.
4. Пациенткам высокого риска ПР в случае эпизода угрожающих ПР рекомендовано проведение метаболомного анализа ЦВЖ в качестве дополнительного критерия для определения показаний к проведению профилактики РДС и нейропротекции плода, токолитической терапии.
5. Проведение инвазивной диагностики возможно и показано при подозрении за наличие внутриамниотической инфекции/воспаления, при решении вопроса о назначении антибактериальной терапии, повторном курсе профилактики РДС плода, либо в спорных ситуациях (поздние ПР, факторы, свидетельствующие о незрелости легких плода).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Преждевременные роды: актуальные вопросы акушерского менеджмента / Ходжаева З.С., Гусейнова Г.Э., **Горина К.А.**, // Медицинский оппонент. – 2018. - № 1. – С. 70-76.
2. Антенатальная профилактика респираторного дистресс-синдрома плода: взгляд в будущее / Ходжаева З.С., **Горина К.А.** / Акушерство и гинекология. – 2019. - № 5. – С. 12-18.
3. Оценка состава и стабильности микробиоты влагалища у беременных в процессе динамического наблюдения / Ходжаева З.С., Припутневич Т.В., Муравьева В.В., Гусейнова Г.Э., **Горина К.А.** / Акушерство и гинекология. – 2019. - № 7. – С. 30-38.
4. Программирование здоровья новорожденного – роль материнского микробиома / Ходжаева З.С., **Горина К.А.**, Тимошина И.В., Припутневич Т.В. / Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. – 2019. - № 4. – С. 61-65.
5. Преждевременные роды: прошлые ограничения и новые возможности / **Горина К.А.**, Ходжаева З.С., Белоусов Д.М., Баранов И.И., Гохберг Я.А., Пашенко А.А. / Акушерство и гинекология. – 2020. - № 1. – С. 12-49.
6. Особенности состава амниотической жидкости у беременных высокого риска преждевременных родов / Ходжаева З.С., **Горина К.А.**, Муминова К.Т., Иванец Т.Ю., Кесслер Ю.В., Припутневич Т.В., Белоусов Д.М. / Акушерство и гинекология. – 2020. - № 8. – С. 82-87.
7. Роль микробиоты кишечника матери при спонтанных преждевременных родах / **Горина К.А.**, Ходжаева З.С., Муравьева В.В., Муминова К.Т., Донников А.Е., Припутневич Т.В. / Акушерство и гинекология. – 2020. - № 8. – С. 64-71.
8. Lamellar bodies as a predictor of fetal lung maturity / **K. Gorina**, Z. Khodzhaeva, T Ivanets, Yu. Kessler, D. Belousov, N. Klimenchenko // 26th EBCOG's European Congress of Obstetrics and Gynaecology, Paris, 2018. Vol. 234, E19-E20.
9. Evaluation of the stability of the vaginal microbiota during pregnancy / **K. Gorina**, Z. Khodzhaeva, G. Guseinova, T. Priputnevich, V. Muraveva. // XXVI ECPM - European congress perinatal medicine, S. Petersburg, 2018. ID 671.
10. Благоприятный исход беременности и родов у пациентки с многократными хирургическими вмешательствами во время беременности: обзор клинического случая / **Горина К.А.**, Ходжаева З.С., Мартынов С.А., Потапова А.А., Снеткова Н.В. // Материалы XIII международного конгресса по репродуктивной медицине, Москва, 2019. – С.237.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Ранжирование анамнестических факторов риска ПР в зависимости от срока родоразрешения

Факторы риска	Срок беременности на момент родоразрешения, нед			
	22 ⁰ - 29 ⁶	30 ⁰ - 33 ⁶	34 ⁰ - 36 ⁶	37 ⁰ - 37 ⁶
Особенности соматического, гинекологического и репродуктивного анамнеза				
Возраст беременной (более 36 лет)	+	-	-	-
Ожирение	+	+	+	-
Выскабливание полости матки в анамнезе	+	+	-	-
Врожденные пороки развития матки	-	+	-	-
Миома матки	-	-	-	+
Инфекции, передаваемые половым путем	-	+	-	-
Паритет	-	+	-	-
Первобеременные первородящие	-	+	-	-
Неразвивающаяся беременность в анамнезе	+	-	-	-
Привычное невынашивание беременности	+	-	-	-
Преждевременные роды в анамнезе	+	+	+	-
Особенности течения I триместра беременности				
Гематома полости матки	-	+	-	-
Эпизоды кровянистых выделений из половых путей	-	+	+	-
Угрожающий выкидыш	-	+	-	+
Нарушения микрофлоры НГТ	+	-	-	-
Особенности течения II триместра беременности				
Угрожающий поздний выкидыш	+	+	+	+
Гестационный сахарный диабет	-	-	+	+
Дисбиоз влагалища	+	+	-	-

ПРИЛОЖЕНИЕ 2: Алгоритм формирования когорты пациенток высокого риска ПР и их антенатального менеджмента

