

**Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение**

**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ и ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

**ГОРИНА
Ксения Алексеевна**

**ОПТИМИЗАЦИЯ АКУШЕРСКОЙ ТАКТИКИ У ПАЦИЕНТОК
ВЫСОКОГО РИСКА ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ НА
ОСНОВАНИИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ КЛИНИЧЕСКИХ И
МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

14.01.01- акушерство и гинекология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Научные руководители:

**доктор медицинских наук, профессор
Ходжаева З.С.**

**доктор медицинских наук
Припутневич Т.В.**

Москва 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Современные представления о генезе преждевременных родов	16
1.1.1. Роль воспаления в инициации преждевременных родов	19
1.1.2. Эволюция представлений о хориоамнионите	21
1.1.3. Плод как объект инфекционной агрессии	23
1.2. Степень зрелости легких плода и перинатальное программирование	26
1.3. Омиксные предикторы преждевременных родов	29
1.4. Роль кишечной микробиоты матери в преждевременных родах	32
1.5. Пациенты высокого риска спонтанных преждевременных родов	33
1.5.1. Клинико-anamнестические факторы риска.....	33
1.5.2. Лабораторно-инструментальные факторы риска.....	36
1.6. Вопросы безопасности, практической значимости и этики	38
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	40
2.1. Материалы исследования	40
2.1.1. Дизайн исследования	40
2.1.2. Критерии включения в исследование	43
2.2. Методы исследования.....	46
2.2.1. Общеклинические методы исследования.....	47
2.2.2. Биохимические методы исследования.....	48
2.2.3. Функциональные методы исследования.....	48
2.2.4. Анализ течения неонатального периода у новорожденных	50
2.2.5. Специальные методы обследования	51
2.2.6. Статистическая обработка полученных результатов.....	56
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	58
3.1. Структура преждевременных родов в НМИЦ АГП	59
3.2. Клиническая характеристика пациенток высокого риска спонтанных преждевременных родов.....	63
3.2.1. Клинико-anamнестическая характеристика.....	63
3.2.2. Особенности течения и ведения беременности	71

3.2.3. Исходы родов, течение послеродового и раннего неонатального периодов	91
3.3. Характеристика влагалищной микробиоты пациенток высокого риска	103
3.4. Исследование амниотической и цервикагинальной жидкостей пациенток высокого риска, прошедших амниоцентез	105
3.4.1. Клинико-анамнестическая характеристика и особенности течения беременности, родов, пуэрперия и неонатального периода	106
3.4.2. Анализ маркеров воспаления и зрелости легочной ткани плода в амниотической жидкости	108
3.4.3. Метаболомный анализ амниотической и цервикагинальной жидкостей	115
3.4.4. Исследование микробиоты влагалища при проведении амниоцентеза у пациенток высокого риска преждевременных родов.....	122
3.5. Анализ кишечной микробиоты пациенток со спонтанными преждевременными родами	126
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	133
ВЫВОДЫ	150
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	152
Список сокращений	153
Список литературы	154
ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Алгоритм формирования когорты пациенток высокого риска ПР и их антенатального менеджмента	167
ПРИЛОЖЕНИЕ 2: Ранжирование анамнестических факторов риска ПР в зависимости от срока родоразрешения.....	168
ПРИЛОЖЕНИЕ 3: Анкета.....	169

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Преждевременные роды (ПР) – ведущая медико-социальная проблема в области акушерства, пути решения которой ведут к улучшению генофонда нации. Вне всякого сомнения, ПР – это доминирующая причина перинатальной заболеваемости и смертности, а также детской инвалидности [1]. Более 15 миллионов детей ежегодно рождаются «слишком рано» [2]. Среди младенцев, рожденных в сроках 22⁰ - 22⁶ недель беременности смертность составляет 97-98%, при этом менее чем 1% новорожденных удается избежать неврологических дефицитов [3, 4]. В то же время, за каждой статистикой стоит реальная история переживаний семьи [5], и конечно, врачей, в первую очередь акушеров-гинекологов и неонатологов [6]. Подчеркивая масштабы проблемы ПР, последние данные показывают, что пятипроцентное относительное снижение количества ПР в 39 странах с очень высоким индексом развития человеческого потенциала¹ приведет к сокращению преждевременных родов примерно на 58 000, что суммарно составит экономию в 3 млрд. долларов [7].

Преждевременные роды, будучи отдельной нозологией, в то же время, являются частью больших акушерских синдромов, таких как: преэклампсия, синдром задержки роста и антенатальная гибель плода и др., которые имеют общие патогенетические паттерны. Они характеризуются целым рядом консолидирующих их особенностей, а именно: полиэтиологичность; длительное субклиническое течение до развития манифестных форм; вовлечение плода в патологический процесс; клинические проявления, как правило, носят адаптивный характер; и являются результатом сложных взаимодействий между материнским и плодовым геномом и окружающей средой, а также интергенетические взаимодействия, которые могут

¹ «Индекс развития человеческого потенциала» (ИРЧП) — интегральный показатель, рассчитываемый ежегодно для сравнения между странами и измерения уровня жизни, грамотности, образованности и долголетия как основных характеристик человеческого потенциала исследуемой территории (до 2013 года - Индекс человеческого развития - ИЧР); Д. Медоуз. Пределы роста: 30 лет спустя. Лаборатория знаний, 2012.

предрасполагать к фенотипическому проявлению синдрома [8, 9].

Учитывая медицинские, социальные и экономические последствия ПР, а также длительный временной интервал, предшествующий клинической манифестации, вопросы предикции с целью последующей активной таргетной профилактики ПР являются первостепенной задачей, как отдельных исследований, так и здравоохранения в целом². Одним из путей эффективной профилактики является правильный отбор целевой группы пациенток – беременных высокого риска по реализации преждевременных родов [10], критерии которых до конца не определены. Формирование когорты высокого риска на основании клинико-anamnestической оценки с последующим динамическим лабораторно-инструментальным тестированием является следующим важным звеном профилактики ПР. И, в данном случае, полиэтиологическая природа и многофакторность ПР обуславливают необходимость детального, и в тоже время комплексного подхода [11]. Необходимо отметить, что следует четко дифференцировать между собой два больших кластера, первый и наиболее сложный – это спонтанные преждевременные роды (сПР), второй – индуцированные преждевременные роды (индПР), когда происходит «вынужденное» досрочное родоразрешение как следствие тяжелых акушерских, фетальных и/или экстрагенитальных осложнений [1].

Ведущим фактором риска сПР с доказанной причинно-следственной связью является инфекция нижнего генитального тракта (НГТ: влагалище и цервикальный канал), вызванная облигатными [12] и/или факультативными (дисбиоз/бактериальный вагиноз) [13] микроорганизмами. Микробиологическая и молекулярно-генетическая верификация возбудителя еще один этап стратификации риска сПР [14]. В ряде случаев персистенция возбудителя может носить транзиторный характер [15, 16] с последующей его элиминацией (спонтанной или в результате санации), однако подобное, даже кратковременное «пребывание» может способствовать инициации

² WHO. Global strategy for women's and children's health. EVERY WOMAN EVERY CHILD.

внутриамниотического воспаления [17], которое в большинстве случаев протекает, как латентный (субклинический) хориоамнионит [18], не детектируемый рутинными клиническими тестами. Данный факт обуславливает необходимость поиска надежных предикторов сПП, при этом несомненно, что индикатором точности при валидации новых методов является амниотическая жидкость (АЖ), которая как «зеркало» отражает процессы, происходящие на территории матери и плода. Постгеномные метаболомные подходы являются перспективным трендом, так как исследуется большой массив данных с возможным получением панели кандидатных маркеров [19, 20]. Исследование биоактивных липидов, органических кислот и других низкомолекулярных соединений позволяет оценить наличие внутриамниотического воспаления, как результат микробной инвазии или «стерильного» воспаления [21]. Используя амниотическую жидкость, как эталонный биоматериал для верификации и последующего экстраполирования полученных данных, представляется возможность определения и анализа новых предикторов для прогнозирования риска развития ПР.

В 2008 году национальным институтом здоровья США было проведено масштабное многоцентровое исследование – «Микробиом человека»³. В ходе исследования был опубликован ряд статей, доказывающих влияние кишечной микробиоты (КМ) на течение беременности и исходы родов, а также перинатальное программирование [22]. КМ обеспечивает широкий спектр функций, и наиболее интересным аспектом в генезе сПП, находящимся в фокусе новейших исследований, является ее иммуномодулирующий потенциал [23], оказывающий дополнительный вклад в системное воспаление, называемое метаболической эндотоксинемией [24, 25]. Оценка КМ пациенток высокого риска сПП является новой и актуальной клинической проблемой [26]. Вместе с тем, важным субстратом в генезе ПР остается микробиота

³ «Микробиом человека» (the Human Microbiome Project (HMP)) - исследовательская инициатива, целью которой являлось раскрыть структуру, функцию и разнообразие микробиоты из различных топиков организма и понять их роль в патофизиологии, как здорового состояния, так и заболеваний человека.

влагалища, ее разнообразие, стабильность, особенности взаимодействия между видами и семействами микроорганизмов, продолжают активно изучаться.

Степень разработанности темы исследования

Оценка предвестников и признаков внутриамниотического воспаления, как ведущего триггерного фактора запускающего родовую деятельность и/или преждевременное излитие околоплодных вод [27] является важным аспектом профилактики сПР. Большое количество обнадеживающих данных связано с определением молекулярно-биологических паттернов в амниотической жидкости [28, 29], однако данный метод требует назначения инвазивной процедуры – трансабдоминального амниоцентеза, что сопряжено с дискомфортом для пациента и экономическими затратами. Поэтому особый клинический интерес представляет поиск неинвазивных предикторов. В этой связи потенциальным перспективным субстратом на «современной исследовательской арене» выступает цервикагинальная жидкость (ЦВЖ) [30, 31]. Микроорганизмы – комменсалы кишечной микробиоты были обнаружены в амниотической жидкости пациенток с преждевременным излитием околоплодных вод, что подтверждает их связь, вероятнее всего - этиологическую, в развитии внутриутробной инфекции [32] 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 сПР, таких как преждевременное «созревание» шейки матки, нарушение нормальной микробиоты влагалища и кишечника, высокотехнологичные предикторы (постгеномные метаболомные профили) особенно у пациенток группы высокого риска преждевременных родов, способны эффективно реализовать программы, направленные на профилактику ПР.

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-anamnestическую характеристику беременных высокого риска с преждевременными и своевременными родами.
2. Выявить клинико-лабораторные факторы риска спонтанных преждевременных родов у беременных высокого риска на основании комплексного подхода, включая исследование амниотической жидкости.
3. Оценить степень зрелости легких плода в зависимости от наличия/отсутствия инфекционно-воспалительных маркеров у пациенток группы высокого риска развития преждевременных родов.
4. Провести сравнительный анализ метаболомного профиля амниотической и цервикальной жидкости пациенток группы высокого риска с преждевременными и своевременными родами.
5. Изучить состояние кишечной микробиоты при преждевременных родах и сравнить полученные данные с пациентками, родившими в срок.
6. 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-anamnestическая характеристика беременных, группы высокого риска с анализом исходов беременности и родов, что позволило уточнить наиболее значимые факторы, влияющие на реализацию ПР, в том числе с учетом срока беременности на момент

родоразрешения. Выявленные микробиологические показатели и молекулярные маркеры (в том числе в амниотической жидкости) преждевременных родов позволяют объективизировать показания для проведения профилактики РДС плода, что особенно важно, учитывая современные настораживающие данные о влиянии глюкокортикостероидов (ГКС) на перинатальное программирование [33]. Проводился анализ воздействия воспаления на зрелость легких плода. Положительная корреляционная зависимость ($r=0,33$, $p=0,046$) между уровнем нейтрофилов и количеством ламеллярных телец, свидетельствует о потенцирующем эффекте воспаления на продукцию сурфактанта пневмоцитами II порядка.

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

В результате проведенного исследования показана целесообразность анализа кишечной микробиоты пациенток с преждевременными родами, подтверждена роль условно-патогенных микроорганизмов в формировании субклинических дисбиотических процессов ЖКТ, которые, согласно данным исследований, усиливают общий провоспалительный потенциал организма [23].

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенный детальный анализ клинико-анамнестических факторов риска ПР, а также течения беременности, родов, пуэрперия и раннего неонатального периода 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 значимости.

Определение зрелости легких плода на основании оценки количества ламеллярных телец в амниотической жидкости позволяет оптимизировать показания для назначения повторной профилактики РДС плода, в том числе в спорных клинических ситуациях. Методика может быть использована при любой акушерской патологии, когда проводится диагностический/лечебный трансабдоминальный амниоцентез и стоит вопрос о целесообразности проведения глюкокортикостероидной терапии (фетальные аритмии, респираторная дистресс-синдром, фетоскопические операции различного профиля).

Идентифицированная панель метаболитов органических кислот в амниотической (чувствительность 0,92, специфичность 0,38) и цервикагоинальной жидкостях (чувствительность 0,92, специфичность 0,82), ассоциированная с преждевременными родами, позволяет прогнозировать их наступление.

В результате проведенного исследования разработан и введен в клиническую практику алгоритм ведения пациенток высокого риска преждевременных родов, основанный на комплексной оценке стандартных клинико-лабораторных параметров, дополненных специальными методами исследования (см. приложение 1). Применение алгоритма в работе акушера-гинеколога позволит уменьшить частоту акушерских осложнений и улучшить перинатальные исходы.

Методология и методы исследования

Работа проведена на территории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – профессор, академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в 1-м отделении акушерском патологии беременности (заведующая – к.м.н. К.А. Гладкова), в 1-м акушерском физиологическом отделении (заведующая – к.м.н. И.В. Мешалкина) и во 2-ом акушерском физиологическом отделении (заведующая – к.м.н. А.А. Игнатьева). Специальные лабораторные методы исследования: метаболомный и иммуноферментный анализы образцов амниотической и цервикагоинальной жидкостей и плазмы крови выполнены в отделе системной биологии в репродукции (заведующий - кан. физ.-мат.наук В.Е. Франкевич) и в лаборатории клинической иммунологии (заведующая – д.м.н. Л.В. Кречетова), соответственно. Общеклиническое исследование АЖ (определение количества лейкоцитов, ламиллярных телец, уровня глюкозы, С-реактивного белка и др) проводилось в клинко-диагностической лаборатории (заведующая – д.м.н. Т.Ю. Иванец), комплексный микробиологический анализ образцов АЖ, влагалищной и кишечной микробиот методом MALDI-TOF-MS анализа - в отделе микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии (заведующая – д.м.н. Т.В. Припутневич). Исследование проводилось с сентября 2017 года по декабрь 2019 года.

В исследование было включено 240 беременных, наблюдавшихся в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Перед участием в исследовании беременные подписывали добровольное информированное согласие. Комиссией по этике биомедицинских исследований Центра был одобрен протокол проведения данного исследования (№ 9 от 16.11.2017).

Обследование пациенток проводилось в соответствии с приказом Минздрава России №107н от 01.11.2012 г. "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". В работе применены современные методы обследования пациентов:

клинические (детальный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), клинико-лабораторные (клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, биохимический анализ крови с определением уровня С-реактивного белка, гемостазиограмма, общий анализ мочи, микроскопическое исследование мазка окрашенного по Граму, молекулярно-генетическое исследование отделяемого влагалища методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР), инструментальные (ультразвуковое исследование плода - фетометрия, включая доплерометрию и цервикометрию), патоморфологическое исследование тканей плаценты. Специальные методы указаны выше в данном разделе (более подробно описаны в разделы материалы и методы).

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 цервикагинальной жидкости наличие метаболитов органических кислот: 2-оксоадипиновой, 3-метилглутаконовой, 4-гидроксифенилпировиноградной 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.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность данных исследований подтверждается количеством пациенток, включенных в исследование (240), а также использованными современными методами обследования и статистической обработки данных.

Апробация результатов

Основные результаты исследования были представлены на 26 Европейском конгрессе EBCOG: European Board and College of Obstetrics and Gynaecology (Париж, 2018), на международном совещании Preterm Birth International Collaborative (PREBIC) «Biomarker Summit» (Москва, 2018), на XIII Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2019), на международном совещании Preterm Birth International Collaborative (PREBIC) «The interface between mechanism and discovery science in preterm birth» (Хорватия, 2019), на XXI Всероссийском научно-образовательном форуме Мать и Дитя (Москва, 2020).

В конкурсе молодых ученых XII Регионального научно-образовательного форума и Пленума Правления Российского общества акушеров-гинекологов "Мать и Дитя" (Сочи, 2019) доклад занял I место.

В рамках диссертационной работы получен грант российского фонда фундаментальных исследований (№ 19-315-90104) за лучшие проекты фундаментальных научных исследований, выполняемых молодыми учеными, обучающимися в аспирантуре («Аспиранты»).

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, активно используются в практической деятельности акушерских и поликлинического отделений, в клинико-диагностической

лаборатории (заведующая д.м.н. Т.Ю. Иванец) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор академик РАН Г.Т. Сухих). Основные заключения и рекомендации по итогам работы включены в лекции и практические семинары для клинических ординаторов и аспирантов ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. 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 изложена в традиционной форме. 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.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о генезе преждевременных родов

Современная ведущая парадигма, описывающая возможные причины возникновения ПР – это этиологическая, патогенетическая и клиническая мимикрия процесса родоразрешения, независимо от срока гестации. Как при своевременном, так и досрочном родоразрешении имеется один «общий путь», включающий маточный компонент: усиление сократительной активности миометрия; шейечный компонент: «созревание» шейки матки - ее сглаживание, размягчение и раскрытие и оболочечный компонент: разрыв плодных оболочек. Данный процесс и сопутствующие ему изменения назвали трехсторонним компонентом «общие пути родового процесса» (в англ. литературе - “*common pathway of parturition*”, рисунок 1) [11, 34].



Рисунок 1. Общий путь к родоразрешению.

Биология беременности уникальна, и требует «мирного» сосуществования двух «хозяев» (матери и плода). Проблемы, связанные с их тесными взаимоотношениями, лежат в основе формирования различных патологических состояний во время беременности, в том числе и ПР. Согласно представлениям *R. Romero* - это «преждевременный родовой синдром» (в англ.

литературе - *the preterm parturition syndrome*), то есть каскад патологических процессов, потенциально приводящих к досрочному родоразрешению, который включает: внутриутробную инфекцию, ишемизацию тканей матки, перерастяжение миометрия, аномальное аллогенное распознавание плода, аллергоподобный иммунный ответ (гиперчувствительность I типа), преждевременное созревание шейки матки и эндокринные расстройства [35].

Не существует отечественной общепринятой классификации, отражающей инфекционный статус амниотической жидкости, а также степень вовлечения децидуальных тканей и непосредственно плода в инфекционно-воспалительный процесс. Тем не менее, внутриамниотическая инфекция (ВАИ), как следствие микробной инвазии в амниотическую полость (МИАП) - основополагающий фактор в инициации преждевременных родов [35–40]. В 1983 году *Rudolph P. Galask* опытным путем установил потенцию *Streptococcus group B* к адгезии к оболочкам амниона с последующей инвазией в течение 8 часов к плоду. Данный феномен обосновал способность определенных микроорганизмов контаминировать внутриматочные структуры без непосредственного дефекта плодного пузыря [41].

Согласно данным зарубежной литературы, МИАП определяют, как персистенцию микроорганизмов в амниотической жидкости. У пациенток с картиной угрожающих ПР и целым плодным пузырем распространённость зафиксированного роста микроорганизмов в амниотической жидкости (АЖ) составляет 12,8% [35, 42]. Следует отметить, что даже отрицательный результат культурального или генетического определения наличия микробных культур не позволяет исключить присутствие внутриамниотического воспаления (ВАВ). В пользу этого постулата говорит повышенный уровень провоспалительных цитокинов [43]. ВАИ (в отечественной литературе более употребим термин внутриутробная инфекция (ВУИ) или хориоамнионит) представляет собой инфекцию с сопутствующим воспалительным процессом в околоплодных водах, плаценте, у плода и/или в плодных оболочках [44], то есть это сочетание МИАП и ВАВ [27]. Частота выявления признаков острого

хориоамнионита по данным гистологического исследования тканей последа составляет 94% в случаях, когда родоразрешение происходит в сроках между 21 и 24 неделями. Данный факт еще раз подтверждает ключевой вклад инфекционно-воспалительного процесса в инициацию родовой деятельности, особенно при экстремально ранних ПР [45].

R. Romero описывает МИАП, как наименее клинически значимое и опасное изменение инфекционно-воспалительного статуса амниотической жидкости [46]. Метод культуральной детекции микроорганизмов имеет ряд весомых ограничений, в первую очередь он обусловлен необходимостью соблюдения оптимальных условий культивирования, когда выдержаны все необходимые критерии для роста конкретного микроба. Нередко для различных микроорганизмов они несовместимы и поэтому не выявление микроорганизмов не свидетельствует об их отсутствии. Другими словами, в то время как положительная культура указывает на МИАП, отрицательная культура, может отражать ложноотрицательный результат. [35]. На данный момент инновационным методом детекции микроорганизмов является определение последовательности гена 16S рибосомальной РНК (16S рРНК) возбудителя, который способен определять некультивируемые микроорганизмы. Благодаря использованию данного метода *Jennifer H. Steel* и *Sotiris Malatos* по результатам своей работы заключили о возможности персистенции бактерий в амниотических мембранах без индукции воспалительного ответа [47]. Поэтому господствовавшая ранее догма о «стерильности» тканей последа в настоящее время отвергнута. Плацента, как и многие другие органы, имеет свою неповторимую микробиоту, наличие которой не ассоциировано с развитием различных осложнений [48, 49]. Все вышеописанное подтверждает фундаментальное значение именно воспалительного компонента. Детальный анализ АЖ с помощью 16S рРНК секвенирования подтвердил наличие бактериальных и вирусных культур, который аналогичен композиционному составу мекония новорожденных, следует отметить, что, оцениваемый биоматериал был получен от женщин с

физиологически протекавшей беременностью, завершившейся своевременными родами [50].

1.1.1. Роль воспаления в инициации преждевременных родов

У десяти процентов пациенток с ПР и целым плодным пузырем верифицируют черты внутриамниотического воспаления, что является индуктором начала родов и/или преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО), а также вносит весомый вклад в развитие послеродовых и неонатальных осложнений [51]. Этиология ПР многогранна и гетерогенна, тем не менее ВАВ и ВАИ, вносят ведущий вклад в реализацию преждевременных родов и имеют доказанную причинно-следственную связь. Триггерами для развития ВАВ могут быть: 1) МИАП, 2) DAMPs (молекулярный фрагмент, ассоциированный с повреждением/*damage-associated molecular pattern*) [28, 52]. Определение интерлейкина-6 (ИЛ-6) в амниотической жидкости с помощью иммуноферментного анализа является хорошо зарекомендовавшим себя методом, тем не менее верификация и валидация новых маркеров активно продолжается. В большинстве случаев ВАВ наблюдается у пациенток: с ПР и интактными плодными оболочками, с бессимптомным укорочением шейки матки, с ПРПО и с симптомами клинического хориоамнионита при доношенном сроке беременности [51–54].

Воспаление - жизненно важный и необходимый для защиты от патогенов процесс. В ответ на инфекционную инвазию происходит активация врожденного иммунитета, в первую очередь, нейтрофилов и макрофагов, ответственных за фагоцитоз и синтез провоспалительных цитокинов и хемокинов, с последующей активацией лимфоидной ткани [55]. Моноцитарная и лейкоцитарная инфильтрация тканей миометрия и шейки матки сопровождается увеличением экспрессии провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ИЛ-8. Сократительная активность миометрия резко увеличивается в результате каскадного поступления ионов кальция в гладкомышечные клетки под влиянием ИЛ-1, дополнительный вклад вносят

простагландины (ПГ) F2 α и E2 под влиянием «троицы» ИЛ-1 β + ИЛ-6 + ИЛ-8 [56]. Дальнейшая экспозиция провоспалительных цитокинов приводит к стимуляции экспрессии матриксных металлопротеиназ (ММП), в частности ММП-9, которая вызывает деградацию внеклеточного вещества и, как следствие, ремоделирование шейки матки. Гладкомышечные клетки матки характеризуются бимодальной функциональностью, совмещая в себе свойства миоцита и иммунной клетки. На этом факте основан противовоспалительный эффект влагалищного прогестерона, который ингибирует липополисахарид (ЛПС)-индуцированную экспрессию ИЛ-6, как на уровне мРНК, так и на уровне синтеза белка [57–59]. Схожие механизмы, ведущие к ПРПО, происходят в плодных оболочках. Патогенез ПРПО представляет собой спектр последовательных биохимических реакций, таких как ферментативная активация, приводящая к деградации внеклеточного матрикса и апоптотическое ремоделирование. Микробная инвазия вызывает «массовую» деградацию коллагена посредством прямого протеолиза и активации ММП, стимуляции клеток врожденного иммунитета и продукции провоспалительных цитокинов и хемокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α , моноцитарный хемотоксический фактор 1), вызывая вторичную супериндукцию синтеза ММП, что вызывает биомеханическое ослабление мембран и разрыв плодных оболочек [60, 61].

Таким образом, итогом каскада патогенетической цепи родо-ассоциированных провоспалительных изменений являются: 1) индукция утеротонической активности миометрия; 2) деградация внеклеточного матрикса плодных оболочек; и 3) созревание шейки матки, как следствие гиперсекреции ММП и снижения экспрессии их ингибиторов (рисунок 2) [34, 62, 63]. То есть процессы, лежащие в основе ПР, представляют собой те же фундаментальные аспекты, которые происходят при физиологических родах, за исключением сроков возникновения указанных событий.

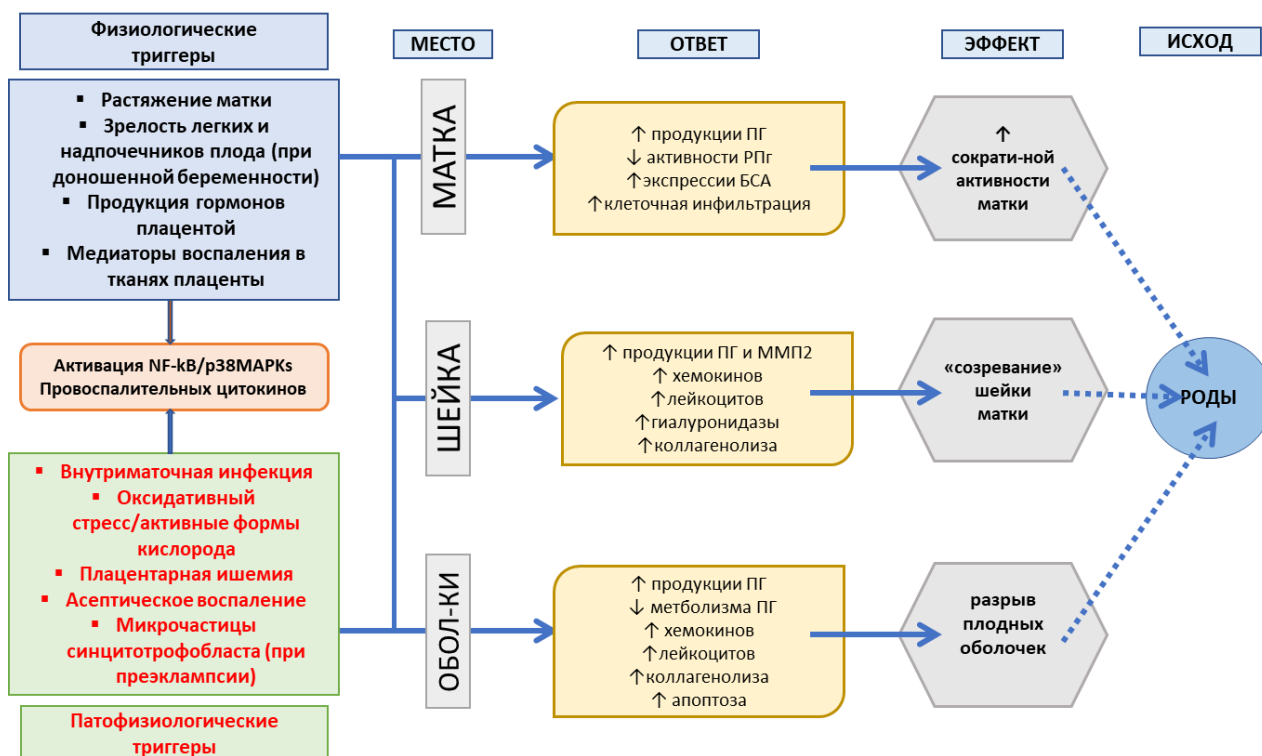


Рисунок 2. Провоспалительные сигнальные пути. ПГ – простагландины; РПг – рецепторы прогестерона; БСА – белки сократительной активности миометрия [62].

1.1.2. Эволюция представлений о хориоамнионите

Хориоамнионит – прогрессирующий инфекционный процесс, который может быть острым, подострым или хроническим. Пролонгированное во времени субклиническое течение хориоамнионита ведет к развитию таких неблагоприятных неонатальных осложнений, как: очень низкая масса тела при рождении, ретинопатия недоношенных и нарушение формирования головного мозга [45].

Redline R.W. et al. предприняли попытку классифицировать хориоамнионит по двум категориям на основании материнского и плодового воспалительного ответа. Для оценки тяжести течения хориоамнионита американскими исследователями предложено стадирование процесса на основании степени его распространенности, а также определение степени интенсивности воспалительного ответа [63]. В контексте материнской воспалительной реакции стадия I характеризуется наличием нейтрофилов в

хорионе или субхорионическом пространстве; стадия II - нейтрофильной инфильтрацией соединительной ткани хориона и/или амниона; и стадия III – некрозом тканей амниона с дегенерацией нейтрофилов (кариорексис). Степень I (от легкой до умеренной) представляет собой кумуляцию небольшого количества нейтрофилов, диффузно проникающих через слои хориона, хориальную пластину или амнион. Степень II (тяжелая) наступает при наличии трех и более микроабсцессов в хорионе, которые формируют массовое скопление нейтрофилов [64–66].

Интересные данные представили корейские исследователи из Сеульского национального университета. В их работе распространенность гистологически верифицированного хориоамнионита (ГХА, без клинически манифестных признаков) с отрицательной культурой амниотической жидкости составила 23,5% (36 из 153 пациенток), что было сопоставимо при ГХА с положительной культурой АЖ. Однако у пациенток с микробно-отрицательным ГХА чаще и в более раннем гестационном возрасте наступали ПР ($29,3 \pm 4,3 / 30,1 \pm 3,8$ недель), значимо выше оказалась неонатальная заболеваемость (56%/40%). Эти данные подчеркивают исключительную роль воспаления, независимо от результатов культивирования АЖ, как основного фактора реализующего преждевременные роды и неблагоприятные перинатальные исходы [40, 67].

Ретроградный путь инфицирования из нижнего генитального тракта имеет доказанную причинно-следственную связь в инициации ВАИ и является наиболее распространенным [34–36, 68, 69]. Микробное разнообразие влагалища, в том числе за счет условно-патогенных форм является типичным для всего периода гестации, однако сам по себе данный феномен не стимулирует развитие воспалительного процесса. Шеечная слизь («слизистая пробка») – это анатомический (механический), иммунологический и функциональный барьер на пути ретроградной диссеминации патогенов. Полость матки – не стерильна и имеет свой нормальный уникальный микробиом, при этом децидуальное пространство остается интактным [70–72].

Инфицирование внутриутробных структур из нижнего генитального тракта при ПР состоит из нескольких последовательных этапов. I стадия начинается с изменения микроценоза влагалища и/или шейки матки, которая характеризуется колонизацией облигатными патогенами и/или обильным ростом факультативных комменсалов. Следующим препятствием на пути распространения инфекции является амниотическая мембрана, однако вначале микроорганизмам необходимо преодолеть область перешейка матки (стадия II). Дальнейшее распространение инфекционного процесса приводит к инвазии непосредственно амниона (амнионит) с последующим диссеминированием в амниотической полости, что классически именуют внутриутробной инфекцией (стадия III), затем через входные ворота инфекции микробы могут «атаковать» плод (стадия IV, рисунок 3). Входными воротами инфекции у плода являются дыхательные пути (в результате периодической активности дыхательной мускулатуры), желудочно-кишечный тракт (в процессе заглатывания АЖ), кожа и ушные раковины, в определенные гестационные сроки возможна контаминация конъюнктивы [36, 73].



Рисунок 3. Инфекционно-воспалительный континуум [62].

1.1.3. Плод как объект инфекционной агрессии

Любая микробная инвазия в амниотическую полость может протекать транзиторно, не оставляя серьезных последствий и эффективно элиминироваться

иммунными «силами» организма. Однако при дефектах в «системе защиты» происходит прогрессирование микробной инвазии и поражение плода. В 30% случаев ВАИ в кровотоке плода выявляются бактерии, что приводит к системной воспалительной реакции у плода (СВРП). При наличии данного синдрома, имеется значительно более высокий риск возникновения отсроченных осложнений, таких как церебральный паралич и хроническая патология легких, данные осложнения у недоношенных новорожденных вызваны не только незрелостью органов и систем, но и в большей степени последствиями внутриутробного воспалительного процесса [74, 75].

Синдром системной воспалительной реакции у плода – это состояние, характеризующееся системной активацией его врожденной иммунной системы, с признаками полиорганного поражения и более высоким уровнем заболеваемости, независимо от гестационного возраста. Субклинический хориоамнионит - наиболее частая причина синдрома СВРП. Он представляет собой фетальный аналог синдрома системного воспалительного ответа у взрослых. Термин синдром СВРП был предложен в 1997 году *R. Gomez* и *R. Romero* на основании анализа образцов крови плода и АЖ, полученной путем амнио- и кордоцентеза [76]. Частота СВРП при сПР составляет около 39%, интересно и объяснимо, что СВРП присутствует почти у 50% плодов с ПРПО. Однако, при синдроме СВРП имеются уникальные обстоятельства «пациента» (плода) и его окружения (матки) и возникает ряд проблем, которые создают преграды для верификации подобного состояния. Ведущим диагностическим критерием синдрома СВРП являются высокие уровни ИЛ-6 в плазме пуповинной крови [35, 36, 77].

Определение гестационных тканей, ответственных за активацию внутриутробного воспаления, является важным шагом в понимании этапов развития и прогрессии синдрома СВРП, а также поиске потенциальных методов лечения. Большая часть литературных данных описывает непосредственное участие легких плода [78, 79]. Однако в последнее время угол зрения смещен на кожу, которая представляет собой большой, обильно

васкуляризированный и иммунокомпетентный орган, находящийся в постоянном контакте с околоплодными водами (рисунок 4). В экспериментах на животных было доказано, что ЛПС-индуцированное воспаление приводит к воспалительному ответу со стороны кожи, который проявляется увеличением мРНК ИЛ-1 β , -6 и -8 уже через 16 часов.

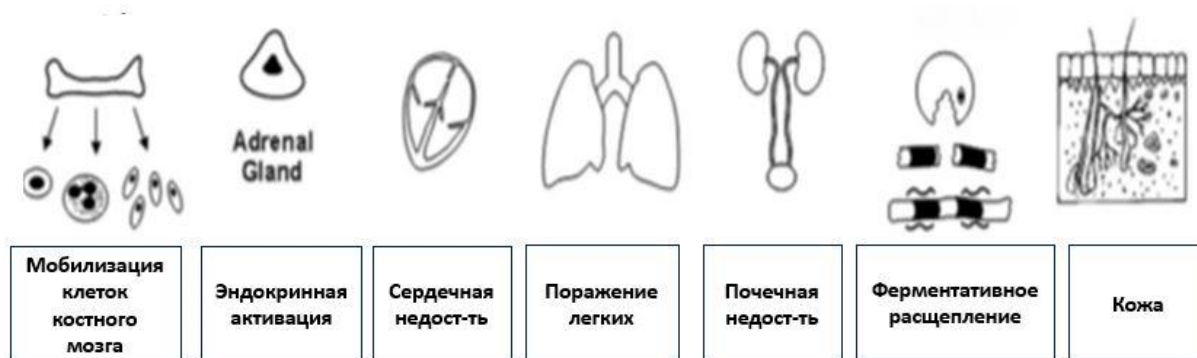


Рисунок 4. Органы-мишени плода при синдроме СВРП [73].

Проспективное аналитическое исследование, включающее 120 недоношенных новорожденных, оценивало краткосрочные и долгосрочные (через один год после рождения) осложнения синдрома СВРП. Была отмечена статистически значимая разница в моторном развитии в группе с СВРП по сравнению с группой контроля без признаков воспаления (87,6 против 93,07). Процент младенцев с аномальным коэффициентом развития (DQ)⁴ был больше в группе с СВРП (10% против 1,8%). В австрийском исследовании 57 из 176 недоношенных новорожденных (32%) имели неблагоприятные перинатальные исходы (наличие бронхо-легочной дисплазии (БЛД), перивентрикулярной лейкомаляции (ПВЛ), внутрижелудочкового кровоизлияния (ВЖК), некротизирующего энтероколита (НЭК), ранний и поздний дебют септических осложнений и/или смерть) данные исходы сопровождалась более высокой концентрацией ИЛ-6 в пуповинной крови и более низким гестационным возрастом на момент рождения [77, 80, 81].

⁴ Коэффициент развития, или DQ (*Development Quotient*) - удобная форма, отражающая темп развития, представляет собой отношение возраста зрелости ребенка (выведенного из характеристики его поведения) и актуального возраста. Арнольд Гезелл: нормальное детство.

1.2. Степень зрелости легких плода и перинатальное программирование

В контексте ПР усилия, принимаемые направленные на снижение неонатальной заболеваемости и смертности, имеют первостепенное значение. Антенатальная профилактика респираторного дистресс-синдрома плода остается одним из важнейших механизмов управления рисками в акушерской практике.

Впервые в 1969 году новозеландский акушер и исследователь *Graham Liggins* в британском журнале «Эндокринология» опубликовал статью: «Преждевременные роды у плодов ягнят, подвергшихся инфузии кортикостероидов» [82]. Систематический обзор рандомизированных клинических исследований (РКИ), проведенный *Patricia A. Crowley* с 1972 по 1994 годы, показал наиболее выраженный эффект для новорожденных, когда родоразрешение происходило между 24 часами и 7 днями после начала курса профилактики [83]. Эффект антенатальной профилактики уменьшается, когда временной интервал между введением ГКС и родоразрешением превышает 7 дней [84]. Поэтому очень важно тщательно правильно оценить клиническую картину и необходимость применения первого курса ГКС [85].

Долгосрочные когнитивные, поведенческие, психологические и физиологические последствия антенатальной профилактики РДС остаются в центре внимания исследователей [86]. Согласно доказанным, научно подтвержденным фактам беременность пролонгируется на 1-2 недели от начала первого курса профилактики у 50% женщин, что неминуемо ставит вопрос о проведении повторного курса при сохранении картины угрожающих преждевременных родов [87]. Масштабное исследование по оценке отрицательных эффектов профилактики РДС – «Многократные курсы антенатальной профилактики преждевременных родов» (*Multiple courses of antenatal corticosteroids for preterm birth – MACS-1*), результаты которого опубликованы в *Lancet*, доказывает, что повторные курсы профилактики РДС плода не улучшают исходы для недоношенных новорожденных, а напротив

связаны с уменьшением массы (2216г против 2330г, $p=0,0026$), длины (44,5см против 45,4см, $p<0,001$) и окружности головы (31,1см против 31,7см, $p<0,001$) при рождении [88]. Задачей *MACS-5* (второго этапа исследования), был поиск ассоциаций между гестационным возрастом на момент рождения, матерям которых во время беременности проводили одно- или многократные курсы профилактики РДС, и долгосрочными перспективами, в первую очередь, со стороны нервной системы в возрасте пяти лет. Интересен тот факт, что у доношенных новорожденных, когда исключен такой значимый конфаундер, как гестационная незрелость, отмечено достоверное повышение вероятности развития нейросенсорной инвалидности в группе с повторными курсами антенатальной профилактики (19/212 (9.0%) против 7/247 (2.8%); $p = 0.004$) [33]. Экспериментальные работы на животных, включая мышей, крыс, кроликов, овец и бабуинов, продемонстрировали, что антенатальные инъекции ГКС, включая однократный курс, оказывает различное влияние на плод в зависимости от срока гестации, в том числе на долговременные последствия у зрелого потомства. Применение ГКС, в том числе однократное, у беременной макаки-резус снижало величину пирамидальных нейронов в гиппокампе и объем зубчатой извилины, представляющей собой консолидацию преимущественно гранулярных нейронов. Отмечалась также редукция размеров гиппокампа у 9-месячного потомства [89]. Исследование ключевых генов почечного транскриптома потомства в контексте ГКС-индуцированного программирования в развитии гипертензии проводилось на беременных крысах. Дексаметазон существенно повышал экспрессию белка *sEH* (растворимая эпоксидгидролаза) в почках 16-недельных крысят, подтверждая вклад метаболитов арахидоновой кислоты в программирование гипертензии, а также транскрипцию генов *Npr3*, *Ptgs2*, *Agt*, *Edn3*, *Ephx2*, *Agtr1b* и *Gucy1a3* отвечающих за функционирование клеток эндотелия [90]. Воздействие ГКС, особенно в декретируемые сроки развития головного мозга, может отрицательно влиять на формирование коры, и как следствие, приводить когнитивным аномалиям у взрослого потомства [91].

Аntenатальное применение ГКС у крыс приводило к регистрируемой ангедонии и расстройствам коммуникации между юными и взрослыми особями. Анализируемая группа демонстрировала снижение общего пройденного пути и количества времени проведенного в центре арены по сравнению с контрольной [92]. Экспозиция ГКС способствовала развитию интеллектуально-мнестических расстройств и тревожности. Уменьшение мезолимбической дофаминергической передачи было ассоциировано с изменением социоэмоциональной сферы взаимодействия, а также коррелировало с нейроанатомическими изменениями: увеличением объема опорного ядра терминального тяжа, уменьшением размера миндалевидного тела из-за выраженной дендритной атрофии [93].

Функциональные и лабораторные тесты для определения зрелости легких плода (ЗЛП) в настоящее время должны рассматриваться клиницистами, как ключевой инструмент для объективизации показаний при назначении профилактики РДС плода. Актуализация проблемы фетального программирования в контексте поиска истоков развития заболеваний во взрослом возрасте обуславливает необходимость решения вопросов проведения профилактики в дискуссионных клинических случаях: в сроках пограничной выживаемости плода, при назначении повторных курсов ГКС, поздних преждевременных родах [94–96] и т.д.. Использование тестов определения ЗЛП также возможно при ранних своевременных родах (37⁰ – 38⁶ недель), когда имеется вероятность развития транзиторного тахипноэ новорожденных, вследствие относительной незрелости легочной ткани [97]. Существует множество лабораторных тестов, часть из показателей, таких как соотношение лецитин-сфингомиелин и сурфактант-альбумин, определение фосфотидилглицерола в настоящее время не используются из-за длительного, трудоемкого и экономически затратного алгоритма детекции [98]. Определение количества ламеллярных телец в АЖ с целью прогнозирования вероятности развития респираторных осложнений в раннем неонатальном периоде остается перспективным, практичным и бюджетным методом [99–

101]. Использование теста возможно в стационаре любого уровня, так как для детекции данного маркера ЗЛП необходим штатный гематологический анализатор (размер ламеллярных телец (диаметр 1 – 5 микрон, объем 1,7 – 7,3 fL) равен размеру тромбоцитов). Ламеллярные тельца (рисунок 5) – это «слоистые» пакеты, место хранения «драгоценного» сурфактанта, продуцируемого пневмоцитами II порядка [102].

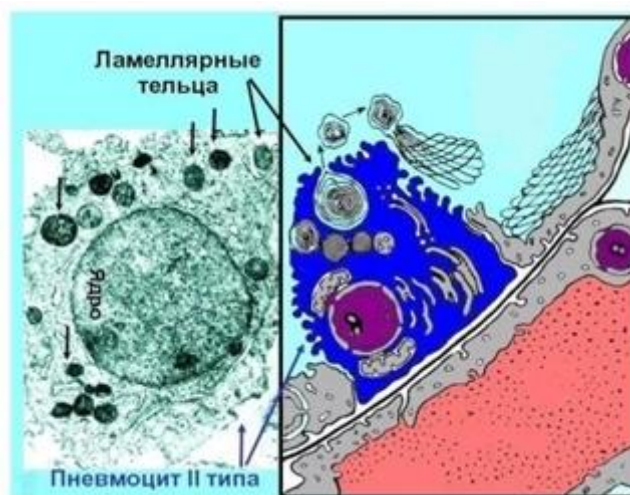


Рисунок 5. Ламеллярные тельца (микрофотография и схема)⁵.

Широкий аналитический спектр гематологического анализатора, позволяет детектировать не только уровень ламеллярных телец, но и другие клетки периферической крови [109], в первую очередь маркеры воспаления: лейкоциты, лимфоциты, а также С-реактивный белок и глюкозу [104].

1.3. Омиксные предикторы преждевременных родов

Преждевременные роды – это сложный и многофакторный синдром, который имеет длительную доклиническую фазу, сложные аспекты взаимодействия между матерью и плодом, с определенным воздействием генетических и экологических факторов, с формированием длительных адаптивных механизмов. Эти сложные взаимодействия, а также определенные пробелы в понимании базовых механизмов являются основными

⁵ Кафедра патофизиологии Сеченовского Университета, д.м.н. профессор Войнов В.А.

ограничениями для идентификации точных предикторов сПР [105].

Precision medicine, или точная медицина⁶ – это инновационный подход в системе здравоохранения, целью которого, является разработка стратегий профилактики и менеджмента различных заболеваний, с учетом индивидуальной изменчивости молекулярного фенотипа. Классическим инструментом точной медицины являются генетические исследования, в частности, секвенирование молекулы ДНК, однако в последнее время, к данному формату относят также исследование метаболома с последующим биоинформатическим анализом [106, 107]. Изучение метаболизма на глобальном уровне или уровне «-омики» является современным фундаментальным подходом в изучении любой патологии, в том числе сПР [108]. Исследователями предложен новый термин "*metabotype*", отражающий метаболомный профиль человека [109].

Метаболомика изучает различные метаболиты (низкомолекулярные соединения) - промежуточные продукты и субстраты химических реакций в организме, - путем их идентификации и количественного определения [110, 111]. Набор малых молекул с низким весом называется метаболомом, который является «отпечатком» метаболических процессов в данный момент времени [112]. Использование масс-спектрометрических методик позволяет проводить колоссальный анализ малых молекул с получением многообещающих данных для выявления новых путей, которые ранее были не изучены, либо на них не было сфокусировано внимание исследователей в силу отсутствия прямой логической связи⁷ [113, 114]. Патологическое и физиологическое состояния, особенно процессы происходящие внутриутробно лучше отражаются в

⁶ Существует много совпадений между терминами «точная медицина» и «персонализированная медицина». По данным Национального исследовательского совета США, «персонализированная медицина» более старый термин, значение которого похоже на «точную медицину». Однако было высказано опасение, что слово «персонализированный» может быть неверно истолковано как означающее, что методы лечения и профилактики разрабатываются индивидуально для каждого человека; в точной медицине основное внимание уделяется определению того, какие подходы будут эффективными для групп пациентов на основе генетических факторов, факторов окружающей среды и образа жизни. U.S. National Library of Medicine, Genetics Home Reference, May 12, 2020.

⁷ В качестве примера возможно привести метаболизм фосфотидилхолина, осуществляемый микроорганизмами кишечной стенки и риск сердечно-сосудистых заболеваний. *W H Wilson Tang. Intestinal Microbial Metabolism of Phosphatidylcholine and Cardiovascular Risk. 2013.*

метаболомном профиле биохимических веществ, чем в анализе РНК или протеомных сигнатурах, поскольку метаболом представляет собой мостик между геномом и фенотипом [115].

Воспаление, как ведущий патогенетический триггер, через выработку простагландинов, производных фосфолипазы А2, запускает родовой процесс [35]. Следовательно, поиск метаболитов органических кислот позволит, при их детекции, говорить о наличии возможных воспалительных предикторов и риске сПП [115]. В новом исследовании, опубликованном в 2020 году в *International Journal of Molecular Sciences*⁸ были исследованы метаболомные сигнатуры тканей плаценты. Количественный анализ множества метаболитов продемонстрировал значительное повышение уровня аминокислот, простагландинов, сфинголипидов, лизолипидов и ацилкарнитинов в «недоношенных» плацентах [116].

Амниотическая жидкость уникальный биоматериал, «этиологический дуализм» - одновременно материнское и плодовое происхождение делают ее крайне привлекательной для исследований. Анализ концентраций длинноцепочечных и некоторых незаменимых жирных кислот в АЖ в группах своевременных и преждевременных родов показывает различные уровни [115, 117]. Для АЖ пациенток сПП характерны более высокие уровни аминокислот и их производных, ненасыщенных жирных кислот (в частности, 3-метоксибензолпропановой кислоты), оксипинов (например, 4-гидроксиноненала), жирных альдегидов (предполагаемый метаболит: муконовый альдегид) [20].

Однако, технические трудности и эмоциональный дискомфорт пациента, связанный с забором АЖ (необходима инвазивная процедура трансабдоминального амниоцентеза), требуют поиска неинвазивных подходов, в качестве потенциального источника выступает цервиковагинальная жидкость. Большая часть работ посвящена исследованию протеома ЦВЖ [118], в то время, как метаболом практически не освоен.

⁸ International Journal of Molecular Sciences. ISSN 1422-0067. 5-летний Impact Factor: 4.331 (2018).

1.4. Роль кишечной микробиоты матери в преждевременных родах

История изучения микробиома начинается с анализа микрофлоры кишечника и насчитывает более трех столетий. Однако, важнейшие открытия в исследовании микробиома получены в рамках крупнейшего общемирового проекта Национального Института здоровья США - «Микробиом Человека» продолжительностью более декады и бюджетом около 215 млн. долларов. Фундаментальной задачей исследовательского процесса было определение роли микробиома в физиологии и патологии различных процессов, происходящих в организме [119]. Термин «микробиота» описывает микробную композицию конкретного органа или полости организма, а «микробиом» - общий геномный каталог, однако нередко их взаимозаменяемо используют в данной области исследований [120].

Свыше ста триллионов бактерий населяют кишечный тракт и объединены в единый континуум - кишечная микробиота [121]. КМ обеспечивает широкий спектр функций, и наиболее интересным в генезе сПР, находящимся в фокусе современных исследований является иммуномодулирующий потенциал [23]. Дисбаланс КМ создает благоприятный фон для развития пристеночного воспаления, результатом которого является формирование повышенной проницаемости кишечной стенки с последующей активной диссеминацией микроорганизмов («дырявый кишечник» с англ. “*leaky gut*”) [121]. Чрезмерная проницаемость также обуславливает распространение продуктов жизнедеятельности и компонентов микроорганизмов, таких как ЛПС, содержащихся в клеточной стенке грамотрицательных бактерий, оказывая дополнительный вклад в системное воспаление, называемое метаболической эндотоксинемией (двух-трехкратное повышение уровня циркулирующих эндотоксинов в крови) [24, 25]. Активация провоспалительного пути от физиологического до чрезмерного уровня, может так же вносить весомый вклад в развитие и других больших акушерских синдромов, в частности задержку роста плода и преэклампсию [122, 123]. Микроорганизмы – симбиоты КМ были детектированы в АЖ беременных с ПРПО, что указывает

на их вклад в развитие ВУИ [32]. Предложено несколько теорий подобной микробной транслокации, первая - это циркуляция ЛПС с последующим их стимулирующим эффектом на синтез медиаторов воспаления и простагландинов; вторая – гематогенная диссеминация патогенов («дырявый кишечник») в плаценту или матку [124].

Недавно появившаяся концепция «**ось кишечник – головной мозг**» (с англ. «*gut-brain axis*») исследует, в том числе, вопросы фетального программирования. Ранее была незыблемой теория, что мозг необходим для контроля функций ЖКТ, однако впоследствии оказалось, что данная связь является двунаправленной, например, неблагоприятные факторы могут нарушать состав КМ, что, в свою очередь, изменяет поведение хозяина [125, 126]. В фокусе исследования перинатального программирования микробиота является потенциально модулируемым аспектом воздействия, влияющим на развитие организма хозяина. Гарвардский институт здоровья в своих исследованиях продемонстрировал взаимосвязь между кишечной микробиотой и развитием нервной системы детей дошкольного возраста. Обеднение микробного композиционного состава достоверно коррелировало с невысокими показателями работы мелкой моторики ($p = 0,01$) и более высокими шансами ее задержки в перспективе [127, 128].

1.5. Пациенты высокого риска спонтанных преждевременных родов

Формирование групп пациенток высокого риска развития спонтанных преждевременных родов основывается на выделении клиничко-анамнестических и лабораторно-инструментальных факторов⁹ [1, 4, 10, 105].

1.5.1. Клиничко-анамнестические факторы риска [4]

✓ Репродуктивный анамнез

Спонтанные преждевременные роды в анамнезе являются основным

⁹ Preterm birth, WHO, 2015.

фактором риска ПР, что важно - рецидивы часто происходят в том же гестационном сроке. При этом в зоне особого риска находятся пациентки с отсутствием своевременных родов в интервале между ПР и данной беременностью, а также при наличии нескольких преждевременных родов подряд [129].

Индукцированные преждевременные роды в анамнезе повышают риск повторного досрочного родоразрешения на 23%, стоит отметить, что данная когорта пациенток имеет риск не только индуцированных, но и сПР [130].

Аборты в анамнезе вызывают небольшое, но статистически значимое повышение риска развития ПР (как спонтанные аборты, так и инструментальное прерывание беременности), что доказано в исследовании на популяции более 1 млн. женщин [131].

✓ **Наследственность**

Прослеживается более высокий риск ПР в некоторых семейных родословных и расово-этнических группах, у женщин, которые сами родились недоношенными, и у женщин, родственники первой линии которых имели ПР [132, 133]. Отцовский генотип не оказывает существенного влияния на ПР [134].

✓ **Возраст**

Частота возникновения ПР выше в крайних возрастных группах. Физиологическая незрелость и социально-экономические факторы могут повышать риск для матерей-подростков; более высокая распространенность ранее существовавших хронических заболеваний и ожирения может увеличить риск для старшего репродуктивного возраста [135].

✓ **Патология шейки матки**

Конизация шейки матки и *электрохирургическая эксцизия* связаны с повышенным риском позднего выкидыша и ПР вследствие потери прочности стромы шейки матки, повышенной восприимчивости к инфекции из-за уменьшения количества желез и потери эластичности шейки матки из-за рубцовой деформации тканей [136].

✓ **Аномалии матки**

Врожденные – степень риска ПР зависит от конкретной аномалии.

Приобретенные - женщины с миомой матки подвержены несколько повышенному риску потери беременности и ПР. Миома матки больших размеров (≥ 5 -6 см) или множественная, являются более весомыми факторами риска; подслизистое расположение узла сопровождается высоким риском выкидыша [136].

✓ **Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ)**

Беременность, наступившая в результате ВРТ, подвержена более высокому риску возникновения ПР, даже при отсутствии многоплодия. Повышенный риск может быть связан с исходными материнскими факторами, связанными с бесплодием [137].

✓ **Кровотечения на ранних сроках беременности**

Кровотечения в ранние сроки, как правило, децидуального происхождения, ассоциированы с риском сПР [138].

✓ **Инфекция**

Заболевания пародонта - два систематических обзора подтверждают связь между заболеванием пародонта и ПР, однако нет убедительных доказательств того, что осложнения беременности, включая ПР, возникают в результате заболеваний пародонта [139].

Инфекция/колонизация генитального тракта - многочисленные исследования выявили связь между ПР и колонизацией половых путей. Степень риска ПР зависит от возбудителя [58, 139, 140].

✓ **Микробиота влагалища**

Исследования последних лет показали, что беременность изменяет микробиоту влагалища, делая ее более «гостеприимной» для *Lactobacillus* и менее благоприятной для *Garnerella vaginalis* (*G. vaginalis*) и других таксонов, связанных с бактериальным вагинозом (БВ) [141].

✓ **Другие факторы, повышающие риск ПР**

Короткий интергравидарный интервал, профессиональная физическая

активность, курение (модифицируемый дозозависимый фактор), употребление наркотических и психоактивных веществ, голодание, масса тела (ожирение ассоциировано с ПР), рост (женщины с более низким ростом подвержены повышенному риску ПР), стресс, окружающая среда, неквалифицированная антенатальная медицинская помощь, гендерная принадлежность плода (мужской пол) [142–144].

✓ Укорочение шейки матки

Существует прямая зависимость между длиной шейки матки, измеренной при трансвагинальном ультразвуковом исследовании на 16-24 неделе беременности¹⁰, и гестационным сроком на момент родоразрешения (таблица 1). Высокий балл по шкале Бишопа, указывающий на преждевременное «созревание» шейки матки, также связан с увеличением вероятности возникновения ПР [145, 146].

Таблица 1

Длина шейки матки, мм	Перцентиль	Относительный риск ПР	Доверительный интервал
≤35	50	2.35	1.42 ± 3.89
≤30	25	3.79	2.32 ± 6.19
≤26	10	6.19	3.84 ± 9.97
≤22	5	9.49	5.95 ± 15.15
≤13	1	13.99	7.89 ± 24.78

1.5.2. Лабораторно-инструментальные факторы риска [4]

✓ Трансвагинальное ультразвуковое исследование

Ультразвуковое (УЗ) измерение длины шейки матки является значимым фактором для подтверждения/исключения диагноза ПР, особенно в неясной клинической ситуации. Короткая шейка матки является фактором высокого риска ПР во всех популяциях. Длина шейки матки является прогностическим измеряемым индикатором угрожающих ПР даже у «бессимптомных» женщин (без клинических признаков ПР), ее воронкообразное расширение добавляет прогностическую ценность. Значение длины шейки 25 мм и менее в сроке

¹⁰ ACOG Practice Bulletin No.142: Cerclage for the management of cervical insufficiency, 2014.

беременности 20 недель и более, ассоциировано с риском ПР, который повышается в 6 раз в сравнении с общей популяцией [147].

✓ **Лабораторные тесты для выявления риска преждевременных родов**
Фосфорилированная форма протеин-1 связанного инсулиноподобного фактора роста (ПСИФР-1). Данный белок продуцируется плацентарными децидуальными клетками и определяется в шейечно-вагинальном секрете в результате повреждения хориодецидуальной зоны [148]. Качественный тест (результат положительный или отрицательный), определяется между 22 и 36 неделями беременности в цервикальном секрете для оценки зрелости шейки матки. Отрицательный результат указывает на низкий риск преждевременных родов в течение 7 дней после проведения теста [149].

Плацентарный альфа-микроглобулин-1 (ПАМГ-1). Данный гликопротеин синтезируется децидуальными оболочками, присутствует в амниотической жидкости в высоких концентрациях, но для его детекции в шейечно-вагинальном секрете достаточно небольшого количества [150]. Появление данного маркера при угрожающих ПР объясняется повышенной транссудацией через хориоамниотические поры или деградацией экстрацеллюлярного матрикса вследствие воспалительного процесса [58, 140, 151]. Клиническая значимость положительного теста у пациенток с угрожающими ПР и интактным плодным пузырем состоит в высокой прогностической ценности обнаружения ПАМГ-1 для наступления ПР в течение 48 час, 7 дней и 14 дней. Чувствительность теста 84%, специфичность – 95% [152]. Отрицательное значение теста на определение ПАМГ-1 говорит о низком риске развития ПР в течение ближайших 7-14 дней.

Плодовый фетальный фибронектин (fFN). Выявление его в шейечно-вагинальном секрете до 35 недель гестации указывают на высокий риск ПР, особенно в течение 14 дней с момента проведения теста. Современные диагностические возможности определения уровня fFN позволяют определять, как качественное, так и количественное соотношение. При нормальном течении беременности фетальный фибронектин отсутствует в

шеечно-влагалищном секрете с 24 недель и практически до родов [131].

1.6. Вопросы безопасности, практической значимости и этики

Возможности диагностического амниоцентеза многогранны, и не лимитируются исключительно диагностикой анеуплоидий. В Европе и США, а так же ряде стран Юго-Восточной Азии его применение для диагностики/исключения внутриамниотической инфекции является рутинной клинической процедурой при наличии показаний [27, 28, 39, 153]. Для оценки эффективности, полученных при амниоцентезе данных и их влиянии на неонатальные исходы пациенток с ПР и интактными плодными оболочками был проведен анализ 174 случаев в сроках 22 – 34 недели гестации, 67 пациенткам проведен трансабдоминальный амниоцентез (ТА) под УЗ-ассистенцией. Многофакторный анализ показал, что после корректировки конфаундеров, гестационный возраст на момент родоразрешения (ОШ 0,4, 0,3–0,7) и проведения амниоцентеза (ОШ 0,1, 0,02–0,3) оставался значимо различным. Оценка исходов для новорожденных также не показала отрицательного воздействия непосредственно амниоцентеза [154, 155]. В исследовании безопасности проведения генетического амниоцентеза в сроках более 20 недель, результаты - свидетельствуют о безопасности, выполняемой процедуры и не коррелируют с показателями частоты позднего выкидыша и преждевременных родов, и в целом аналогичны тем результатам, при которых амниоцентез выполнялся до 20 недель [156].

Амниоцентез – инвазивная диагностическая процедура, но современная УЗ техника и девайсы позволяют ее делать максимально бережно и безопасно для пациентки и ее будущего ребенка. Как и от любой другой манипуляции пациентка вправе отказаться при наличии необоснованных предрассудков о возможных последствиях, однако научные факты и опыт не подтверждают эти опасения. Стоит отметить, что ПР, как и ПРПО вызывает не пункция амниотической полости, а инфекция и катастрофические последствия воспаления, неразлучно сопутствующие ей. При проведении научных

исследований процедура трансабдоминального амниоцентеза обязательно должна получить одобрение местного этического комитета.

Таким образом, можно заключить, что детальное понимание факторов риска, а также поиск широкого спектра различных предикторов, основанных на патогенетической связи с досрочным родоразрешением, позволит осуществлять своевременный и правильный выбор метода профилактики и акушерской тактики при спонтанных преждевременных родах.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материалы исследования

Работа выполнялась на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – профессор, академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая часть работы выполнена в 1-м отделении акушерском патологии беременности (заведующая – к.м.н. К.А. Гладкова), в 1-м акушерском физиологическом отделении (заведующая – к.м.н. И.В. Мешалкина) и во 2-ом акушерском физиологическом отделении (заведующая – к.м.н. А.А. Игнатьева). Специальные методы исследования: иммуноферментный и метаболомный анализы образцов амниотической и цервикагинальной жидкостей и плазмы крови выполнены в отделе системной биологии в репродукции (заведующий - кан. физ.-мат. наук В.Е. Франкевич) и в лаборатории клинической иммунологии (заведующая – д.м.н. Л.В. Кречетова), соответственно. Общеклиническое исследование АЖ (определение количества лейкоцитов, ламиллярных телец, уровня глюкозы, С-реактивного белка и др) проводилось в клинико-диагностической лаборатории (заведующая – д.м.н. Т.Ю. Иванец), комплексный микробиологический анализ образцов АЖ, влагалищной и кишечной микробиот методом MALDI-TOF-MS анализа - в отделе микробиологии, клинической фармакологии и эпидемиологии (заведующая – д.м.н. Т.В. Припутневич).

Сбор материала осуществлялся с ноября 2017 года по декабрь 2019 года.

2.1.1. Дизайн исследования

Для оценки общей структуры преждевременных родов в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России было проанализировано 854 истории родов с сентября 2017 года по декабрь 2019 года.

В исследование включено 240 беременных, которые были разделены на 3 группы, распределение пациенток представлено в таблице 2.

Таблица 2

Группы	Характеристика групп	Количество беременных
I группа	Беременные высокого риска, родившие преждевременно (ВР ПР)	80
II группа	Беременные высокого риска, родившие своевременно (ВР СР)	70
III группа	Здоровые беременные, родоразрешенные в срок (НР СР)	90

Учитывая высокую гетерогенность внутри популяции преждевременных родов для детализации анамнестических данных и факторов риска пациентки групп высокого риска, были дополнительно разделены на подгруппы в зависимости от гестационного срока на момент родоразрешения, представленные в таблице 3.

Таблица 3

Подгруппы	Характеристика подгрупп	Количество беременных
Ia подгруппа	беременные высокого риска, родившие в сроках 22 ⁰ – 29 ⁶ недель ¹¹	20
Ib подгруппа	беременные высокого риска, родившие в сроках 30 ⁰ – 33 ⁶ недель	30
Ic подгруппа	беременные высокого риска, родившие в сроках 34 ⁰ – 36 ⁶ недель	30
IIa подгруппа	беременные высокого риска, родившие в сроках 37 ⁰ – 37 ⁶ недель (ранние своевременные роды)	20
IIb подгруппа	беременные высокого риска, родившие в сроках 38 ⁰ и более недель	50

Внутригрупповое деление в когорте пациенток, родивших преждевременно основано на неонатальных исходах¹², когда до 28 недель отмечается самая низкая частота ПР - менее 5%, но прогноз для новорожденных крайне неблагоприятный, при этом в сроках 28–30 недель

¹¹ Срок беременности был определен согласно дате последней менструации и данным I ультразвукового скринингового исследования плода (по копчико-теменному размеру (КТР) [197], [198].

¹² Преждевременные роды. Клинические рекомендации. Письмо Минздрава России от 17.12.2013г №15-4/10/2-9480.

сохраняется морфофункциональная незрелость с сомнительными исходами. 31–33⁶ недель формируют около 20% всех ПР, у новорожденных имеет место недоношенность средней степени. После 34 недели (поздние преждевременные роды) прогноз для роста и развития ребенка – благоприятный, так как легочная ткань близка к своей морфофункциональной зрелости. Классически ранние своевременные роды определяются при рождении ребенка в сроках 37⁰ – 38⁶ недель и составляют 17,5% от всех детей, рожденных живыми. Однако, более детальный понедельный анализ перинатальной заболеваемости показывает, что частота неблагоприятных прогнозов снижается с 1,69% до 0,24% к 38 неделе гестации и только после этого срока остается относительно стабильной¹³ [157].

Все пациенты обследованы в соответствии с приказом Минздрава России №572н от 01.04.2013г. "Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". Первый этап исследования представлял анализ структуры преждевременных родов в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (сроки и методы родоразрешения, наиболее вероятные причины). Пациентки со спонтанными преждевременными родами (как с интактными плодными оболочками, так и с преждевременным разрывом плодных оболочек) составили основную группу в исследовании, в котором были детально проанализированы клиничко-anamnestические, инструментальные и лабораторные данные с оценкой акушерских и неонатальных исходов. На втором этапе исследования, после подписания добровольного информированного согласия пациенткам из группы высокого риска было предложено проведение диагностического трансабдоминального амниоцентеза под УЗ-ассистенцией с целью исключения микробной инвазии в амниотическую полость; одновременно проводился комплексный анализ влагалищной микробиоты. На третьем этапе исследования проводилось

¹³ Burgundy Perinatal Network

молекулярно-биологическое исследование образцов плазмы крови, АЖ и ЦВЖ с определением потенциальных маркеров, ассоциированных с сПР (лейкоциты, нейтрофилы, ИЛ-6 и спектр органических кислот). На четвертом этапе был проведен сравнительный анализ кишечной микробиоты в раннем послеродовом периоде у пациенток, родивших преждевременно и в доношенном сроке беременности. Общая схема исследования представлена на рисунке 6.

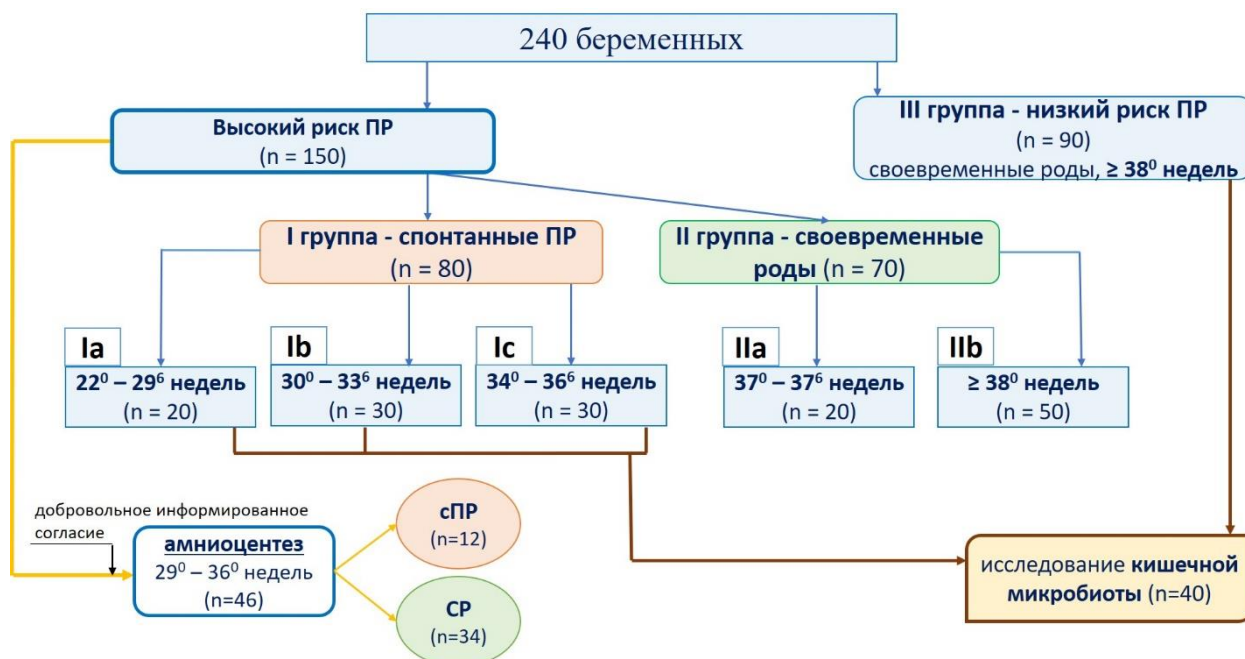


Рисунок 6. Дизайн исследования.

2.1.2. Критерии включения в исследование

Согласно данным современных исследований, клиническим рекомендациям и протоколам ведущих мировых акушерских сообществ, ПР определяются как роды, наступившие между 22 0/7 и 36 6/7 неделями беременности. Диагноз преждевременных родов основывается на клинических критериях: регулярных сокращениях матки, сопровождающихся изменениями конфигурации (централизация), длины (укорочение) и консистенции (размягчением) шейки матки¹⁴. Выделяют также продромальные признаки, которые могут присутствовать в течение

¹⁴ Practice Bulletin No. 171: Management of Preterm Labor. Obstet Gynecol, 2016 Oct;128(4): e155-64.

нескольких дней и часов, до возникновения типичных симптомов родовой деятельности: менструальноподобные спастические боли, неболезненные и нерегулярные сокращения матки, боли в пояснице, ощущение давления во влагалище или малом тазу, слизистые выделения из влагалища, которые могут быть прозрачными, розовыми или слегка кровянистыми («слизистая пробка»). Слабые нерегулярные сокращения матки являются нормальным явлением во второй половине беременности (так называемые «ложные схватки», которые не приводят к структурным изменениям шейки матки (сокращения Брэкстона-Хикса) [158]. Примерно в 30% угроза преждевременных родов проходит самопроизвольно, а 50% пациенток, госпитализированных по поводу преждевременных родов, рожают в срок.

Нами были подробно изучены данные семейного и личного анамнеза пациенток, особенности течения беременности с акцентом на динамику изменения состояния длины шейки матки в каждом триместре, состояния влагалищной микробиоты на момент исследования и накануне родоразрешения, течение и исходы родов, особенности раннего неонатального периода и заболеваемости среди новорожденных.

✓ **Критерии включения для всех участников исследования:**

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

✓ **Критерии формирования группы высокого риска преждевременных родов:**

➤ Анамнестические данные:

- спонтанные преждевременные роды;
- потери беременности во втором триместре;
- бессимптомное укорочение шейки матки в предыдущую беременность, потребовавшее коррекции.

➤ Изменения шейки матки во время данной беременности (укорочение и сглаживание):

- инструментальные признаки: при УЗ-цервикометрии длина шейки матки < 25мм и/или расширение внутреннего зева более 5мм;

и/или

- клинические признаки: централизация, размягчение, расширение.

✓ **Критерии включения пациентов в группу высокого риска преждевременных родов с целью культуральной и молекулярно-биологической оценки амниотической жидкости:**

1. Срок беременности 29⁰ - 36⁰ недель беременности,
2. Наличие критериев высокого риска преждевременных родов (см. выше),
3. Добровольное информированное согласие пациентки на проведение процедуры трансабдоминального амниоцентеза,
4. Пациентки, подписавшие информированное согласие на участие в данном исследовании.

✓ **Критерии невключения для всех участников исследования:**

1. Многоплодная беременность,
2. Предлежание и/или вращение плаценты,
3. Хромосомные аномалии у плода,
4. Синдром задержки роста плода,
5. Преэклампсия,
6. Тяжелая экстрагенитальная патология.

✓ **Дополнительные критерии невключения пациентов в группу с целью оценки кишечной микробиоты:**

1. Длительный безводный промежуток (12 часов и более),
2. Антибактериальная терапия накануне (7 дней и менее) родоразрешения,
3. Диагностированные хронические воспалительные заболевания кишечника.

✓ **Критерии исключения пациентов из группы исследования:**

1. Преждевременное излитие околоплодных вод (до забора ЦВЖ),
2. Острые воспалительные заболевания/хронические в стадии обострения,
3. Отказ пациентки от участия в исследовании.

2.2. Методы исследования

Ведущими принципами при проведении исследования были:

1. Тщательное изучение данных анамнеза и течения беременности, в частности архитектоники шейки матки и микробиоты генитального тракта.

2. Анализ исходов беременности, родов и пуэрперия, раннего неонатального периода во всех исследуемых группах с детализацией факторов риска и объективизацией критериев формирования групп высокого риска ПР.

3. Комплексная оценка различных факторов риска в изучаемых группах согласно данным литературы с учетом воздействия одновременно нескольких показателей.

4. Сопоставление клиничко-анамнестической характеристики пациенток, течения беременности и родов, перинатальных исходов с результатами цитокинового и метаболомного профиля амниотической жидкости, микробиоты кишечника.

5. Максимально приближенные друг к другу сроки выполнения исследований: биохимических, иммунологических, гемостазиологических, специальных методов, тестов функциональной диагностики для оценки состояния плода.

6. Использование различных методов статистической обработки данных для анализа результатов.

В работе применены следующие методы исследования пациенток: клинические (детальный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотры), клиничко-лабораторные (клинический анализ крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, биохимический анализ крови с определением уровня С-реактивного белка, гемостазиограмма, общий анализ мочи, микроскопическое исследование мазка окрашенного по Граму, молекулярно-генетическое исследование отделяемого влагалища количественным методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени), инструментальные (ультразвуковое исследование (УЗИ) плода - фетометрия, включая доплерометрию и цервикометрию),

патоморфологическое исследование тканей плаценты, специальные (метаболомный и иммуноферментный анализы); определение количества лейкоцитов, ламиллярных телец, уровня глюкозы, С-реактивного белка в АЖ; комплексный микробиологический анализ образцов АЖ, влагалищной и кишечной микробиот методом MALDI-TOF-MS анализа).

2.2.1. Общеклинические методы исследования

Данные семейного и личного анамнеза были изучены у всех пациенток с пристальной оценкой наиболее вероятных причин и факторов развития преждевременных родов. Анализировался соматический анамнез и акушерско-гинекологическая история, данные клинических и лабораторных исследований. Отдельное внимание уделялось течению и исходам предыдущих беременностей, наличию аборт, выкидышей, гинекологической патологии, инструментальных хирургических вмешательств в полости матки.

Объективное обследование включало общий осмотр, измерение массы тела и роста с последующим определением ИМТ (индекса массы тела) и типа телосложения. Согласно классическим канонам пропедевтики, оценивали состояние сердечно-сосудистой, дыхательной, нервной, пищеварительной и мочевыделительной систем.

При наружном акушерском исследовании определяли положение, предлежание, позицию плода; оценивали характер его двигательной активности; определяли частоту сердечных сокращений плода, а также тонус и возбудимость матки при пальпации, соответствие размеров матки сроку гестации.

Гинекологический осмотр включал осмотр шейки матки в зеркалах и бимануальное влагалищное исследование. С целью снижения субъективной ошибки осмотр проводился врачом-исследователем и руководителем отделения. При визуализации шейки матки оценивались поверхность экзоцервикса, состояние наружного зева и характер выделений из цервикального канала. При исследовании *per vaginam* описывали позицию,

консистенцию, длину и проходимость шейки матки, а также положение предлежащей части.

Всем пациенткам проводились стандартные методы дообследования: определение группы крови и резус-фактора, клинические и биохимические анализы крови, гемостазиограмма, общий анализ мочи, микроскопическое исследование влагалищного секрета, бактериологический посев вагино-ректального мазка на стрептококк группы В.

2.2.2. Биохимические методы исследования

Определение содержания общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина, калия, натрия, хлора, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), С-реактивного белка (С-РБ) в сыворотке крови осуществлялось на биохимическом анализаторе «Ультра», производства фирмы «КОНЕ» (Финляндия) с использованием стандартизированных компьютерных протоколов и набора реактивов.

2.2.3. Функциональные методы исследования

✓ Ультразвуковое исследование

Все беременные проходили ультразвуковое исследование на ультразвуковой системе Voluson E8 Expert (GE Healthcare, Австрия) с использованием 4D трансабдоминального конвексного мультичастотного датчика (2 – 8 МГц). Ультразвуковое исследование в III триместре проводилось с измерением окружности головки и живота, длины бедра плода, согласно рекомендациям *ISUOG*¹⁵. Предполагаемая масса плода (ПМП) определялась с использованием формулы *Hadlock et al.* Абсолютные значения ПМП (в граммах) переводились в процентильные значения в соответствии со сроком беременности на основании данных проекта *INTERGROWTH-21*¹⁶.

¹⁵ ISUOG Practice Guidelines: ultrasound assessment of fetal biometry and growth/Salomon, L.J., Alfirevic, Z., Da Silva Costa, F. //Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2019.

¹⁶ International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project/Papageorgiou, A.T., Ohuma, E.O., Altman, D.G. //The Lancet. – 2014.

Ультразвуковое исследование плаценты включало в себя определение ее локализации, измерение толщины, установление ее структурной зрелости по критериям *P.A. Grannum* (1983) [159] и наличие аномальной ультразвуковой морфологии (кальцификаты, кисты). Также производился подсчет индекса амниотической жидкости (ИАЖ) с целью оценки количества околоплодных вод для верификации олиго- или полигидрамниона по *J.P. Phelan*¹⁷. ИАЖ определялся как сумма вертикальных размеров наибольших карманов АЖ в каждом из 4 условно выделенных квадрантов матки.

Измерение длины шейки матки проводилось методом трансвагинальной ультразвуковой цервикометрии в положении женщины лежа с опорожненным мочевым пузырем. Давление датчика на шейку матки было максимально минимизировано. Длину сомкнутой части цервикального канала измеряли по прямой линии, проведенной от внутреннего зева к наружному. Калиперы применяли для измерения линейного расстояния между треугольной областью, повышенной эхогенности наружного зева и V-образной выемкой в области внутреннего зева. Продолжительность исследования занимала не менее 5 минут с не менее чем трехкратным количеством измерений длины шейки матки в состоянии покоя (после 5-ти минутного отдыха). В качестве окончательного результата выбирали наименьшее значение.

✓ **Ультразвуковое доплерометрическое исследование кровотоков**

УЗ-доплерометрия параметров кровотока в сосудах системы мать-плацента - плод проводилась на ультразвуковой системе Voluson E8 Expert (GE Healthcare, Австрия). Допплеровское исследование кровотока проводилось с определением пульсационного индекса кровотока в маточных артериях (ПИ МА), артериях пуповины (ПИ АП) и средней мозговой артерии (ПИ СМА).

Исследование кровотока в маточных артериях проводилось трансабдоминально с продольным расположением датчика в нижнем латеральном квадранте живота беременной с наклоном в медиальном направлении. Измерения повторялись с контралатеральной стороны.

¹⁷ Amniotic fluid index measurements during pregnancy/Phelan J.P., Ahn M.O., Smith C.V. // J Reprod Med. – 1987.

Рассчитывались средние значения ПИ МА как среднее арифметическое показателей правой и левой маточной артерий.

Исследование сосудов плода проводилось в периоды его покоя: в отсутствии двигательной активности и дыхательных движений. Кровоток в артериях пуповины определялся в ее свободной петле. Для определения кровотока в СМА выводилось поперечное сечение головки плода на уровне таламусов и крыльев крыловидной кости, выполнялось увеличение изображения. В режиме цветовой доплерографии визуализировались сосуды Виллизиевого круга и СМА, в проксимальной части которой устанавливался контрольный объем. Цереброплацентарное отношение (ЦПО) рассчитывалось как отношение ПИ СМА к ПИ АП. Для определения соответствия процентильным значениям абсолютных показателей ПИ АП, ПИ СМА и ЦПО использовались данные, опубликованные *Ciobanu et al*¹⁸.

✓ Антенатальная кардиотокография

Антенатальная кардиотокография методом неинвазивного ультразвукового зондирования проводилась начиная с 32 недели гестации для функциональной оценки состояния плода. Анализ сердечного ритма плода исследован с помощью аппаратов «УНИКОС-01» и «Sonicaid Team» (Великобритания), дополненных автоматическим математическим обеспечением анализа кардиотокограмм в реальном режиме времени. При анализе данных определялся характер вариабельности базального ритма сердечных сокращений, наличие акцелераций и децелераций, их количество и амплитуда, вычислялся интегрированный показатель состояния плода (ПСП).

2.2.4. Анализ течения неонатального периода у новорожденных

Анализ состояния новорожденных проводился согласно общепринятым клиническим рекомендациям и внутреннему протоколу Центра. После рождения состояние детей оценивалось на основании шкалы Апгар на 1-й и 5-

¹⁸ Fetal Medicine Foundation reference ranges for umbilical artery and middle cerebral artery pulsatility index and cerebroplacental ratio/Ciobanu, A., Wright, A., Syngelaki, A., Wright, D. //Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2019.

й минутах жизни. Стандартные антропометрические показатели измерялись после рождения акушеркой, за исключением случаев тяжелого состояния новорожденного, требовавшего срочной транспортировки в отделение реанимации и интенсивной терапии. Оценка физического развития младенцев проводилась на основании перцентильных диаграмм (или графических перцентильных кривых), а также по шкале *Z-score* с расчетом числа стандартных отклонений, предложенной ВОЗ (Всемирной организацией здравоохранения).

После рождения анализировалось течение периода адаптации, раннего неонатального периода, развитие дыхательных и других специфических нарушений. Исследовалась неонатальная заболеваемость характерная для недоношенных новорожденных. Оценивались параметры периферической крови, данные функциональных методов исследования. При переводе на второй этап выхаживания и выписке отмечалась сформированная к данному периоду коморбидность.

2.2.5. Специальные методы обследования

✓ Трансабдоминальный (ТА) амниоцентез под УЗ-ассистенцией

Основной целью данного исследования являлся забор амниотической жидкости для верификации МИАП, наличия признаков ВАВ, детекции метаболомных сигнатур, специфичных для спонтанных преждевременных родов. Процедуру выполнял врач-эксперт в области ультразвуковой диагностики с наличием сертификата для проведения инвазивных манипуляций. Работа была одобрена комиссией по этике биомедицинских исследований ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (протокол № 9 от 16.11.2017). Перед исследованием лечащий врач, руководитель отделения и аспирант-исследователь детально описывали пациентке ход процедуры, преимущества и возможные дискомфорт и осложнения. Манипуляция проводилась в относительно безопасные для плода сроки – не ранее 28 недели гестации, после получения письменного

добровольного информированного согласия. Протокол выполнения процедуры соответствовал международным рекомендациям *ISUOG*¹⁹. Амниоцентез проводился в условиях малой операционной отделения ультразвуковой и функциональной диагностики пункционной иглой 18G с последующим забором 20,0 мл АЖ. После процедуры динамически оценивалось состояние матери и плода (артериальное давление и пульс беременной, ЧСС плода).

✓ **Комплексное исследование микробиома:**

❖ ***Микробиологическое исследование амниотической жидкости***

выполнялось в два этапа. Первый этап: прямой посев амниотической жидкости методом культуромики²⁰ с использованием широкого спектра селективных и неселективных питательных сред. На втором этапе, учитывая высокую вероятность низкой степени обсемененности амниотической жидкости микроорганизмами, дополнительно для их индикации использовали жидкую питательную среду с целью предварительного накопления микробной биомассы. Амниотическую жидкость помещали в пробирку со средой накопления, используемой для гемокультур (Oxoid, Великобритания). После 48 часов культивирования в анаэробном боксе (Whitley DG 250 Anaerobic Workstation, Великобритания) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N₂-80%; CO₂-10%; H₂-10%) состав микробиоты исследовали методом культуромики с использованием следующего набора питательных сред. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали колумбийский агар (Oxoid, Великобритания), маннит-солевой агар (HiMedia, Индия), среду для выявления и дифференциации *Streptococcus agalactiae* (CHROMagar, Франция), энтерококковый агар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), агар Эндо-ГРМ (Оболенск), декстрозный агар Сабуро

¹⁹ ISUOG Practice Guidelines: invasive procedures for prenatal diagnosis/ Ghi, T., Sotiriadis, A., Calda, P., Da Silva //Ultrasound in obstetrics & gynecology. – 2019.

²⁰ Методология, состоящая из разных условий для выделения микробов из пробы и их молекулярно-генетической идентификации.

(Oxoid, Великобритания). Лактобациллы культивировали на среде Лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы - на агаре для бифидобактерий (Himedia, Индия), прередуцированном агаре Шедлера (Oxoid, Великобритания) с необходимыми добавками, основном агаре для анаэробов (Oxoid, Великобритания).

- ❖ *Микробиологическое исследование влагалищного отделяемого* было комплексным, и включало микроскопию мазка вагинального секрета, окрашенного по Граму, и культуральное исследование в соответствии с медицинской технологией «Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов» [160]. Шейку матки обнажали в зеркалах и производили забор материала стерильным дакроновым тампоном из заднего свода влагалища в пробирку с транспортной средой Эймса (Medical Wire, Великобритания). Вагинальное отделяемое засеивали на стандартные питательные среды. Для выделения факультативно-анаэробных микроорганизмов использовали: колумбийский агар, маннит-солевой агар (Conda, Испания), среду Эндо и агар Сабуро (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия). Лактобациллы культивировали на среде Лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), строгие анаэробы – на прередуцированном агаре (Conda, Испания) с необходимыми добавками. Инкубировали микроорганизмы в условиях CO₂ инкубатора (Jouan, Франция). Строгие анаэробы и лактобациллы культивировали в анаэробном боксе (Whitley DG 250 Anaerobic Workstation, Великобритания) в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N₂-80%; CO₂-10%; H₂-10%). Видовая идентификация микроорганизмов проводилась методом MALDI-TOF-MS с использованием масс-спектрометра AutoflexIII с программным обеспечением MaldiBioTyper версии 3.0 (Bruker Daltoniks, Германия).
- ❖ *Молекулярно-генетическое исследование микробиоценоза влагалища* проводили методом количественной ПЦР, используя тест-систему «Фемофлор-16» (ООО «НПО ДНК-Технология») в детектирующем амплификаторе ДТ-96, согласно инструкции производителя.

❖ **Анализ кишечной микробиоты** проведен методом культуромики, с использованием расширенного набора селективных и неселективных питательных сред и инкубированием в аэробных, микроаэрофильных и анаэробных условиях. Образцы кала, собранные в стерильный пластиковый контейнер, в течение 2 часов доставляли в лабораторию, готовили 10-кратные разведения в физиологическом растворе и проводили посев подготовленного инокулюма (по 100 мкл) на питательные среды. Для выделения факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов использовали колумбийский кровяной агар (Oxoid, Великобритания), хромогенную прозрачную среду Brilliance (Oxoid, Великобритания), маннит-солевой агар (HiMedia, Индия), энтерококковый агар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия), агар Эндо-ГРМ (Оболенск), Сальмонелла-Шигелла-агар (Oxoid, Великобритания), декстрозный агар Сабуро (Oxoid, Великобритания). Лактобациллы выращивали на среде Лактобакагар (ФГУН «ГИЦПМ и Б», Оболенск, Россия). Строгие анаэробы культивировали на агаре для бифидобактерий (HiMedia, Индия), прeredуцированном агаре Шедлера (Oxoid, Великобритания) с необходимыми добавками, основном агаре для анаэробов (Oxoid, Великобритания), перфрингенс агаре (Oxoid, Великобритания), железо-сульфитном агаре (Oxoid, Великобритания). Видовая идентификация микроорганизмов проводилась методом MALDI-TOF-MS анализа с использованием масс-спектрометра AutoflexIII с программным обеспечением MaldiBioTyper версии 3.0 (Bruker Daltonics, Германия).

✓ **Исследование амниотической жидкости на гематологических анализаторах**

Комплексное исследование амниотической жидкости проводилось с помощью гематологического XS-800i (SYSMEX, Япония) и биохимического BA-400 (BioSystems, Испания) автоматических анализаторов. Для исключения конфаундеров и получения достоверных результатов преаналитическая

пробоподготовка не проводилась, включая этап центрифугирования. С помощью анализатора XS-800i производилось исследование следующих показателей: подсчет количества лейкоцитов (WBC – абсолютные значения), моноцитов (MONO - процентное содержание), лимфоцитов (LYMP - процентное содержание), базофилов (BASO - процентное содержание), эозинофилов (EO - процентное содержание). Анализатор ВА-400 производил подсчет уровней глюкозы (GLUCO), С-реактивного (CRP) и общего белка (TOTPROT). Результаты анализа были готовы сразу после постановки пробы и доступны лечащему врачу для оптимизации тактики ведения пациентки.

✓ Иммуноферментный анализ

Одним из валидированных и наиболее применяемых маркеров ВАВ является мультифункциональный цитокин ИЛ-6. Количественное определение уровня ИЛ-6 в плазме крови и АЖ проводили методом иммуноферментного анализа в соответствии с инструкцией производителя с помощью коммерческого набора eBioscience (Bender MedSystems), Thermo Fisher Scientific (Cat. No. BMS213HS), состоящего из 96 лунок. Диапазон измерения - 0,03-5 пг/мл, чувствительность - 0,03 пг/мл. Образцы венозной крови собирались в вакутейнеры с ЭДТА; АЖ – в градуированную коническую пробирку без наполнителя. АЖ обрабатывали при комнатной температуре в течение 10 минут при 1300g оборотах. Биоматериал был заморожен и хранился при -80°C для последующего анализа в лаборатории. На заключительном этапе считывание абсорбции производилось при длине волны 450 нм.

✓ Хромато-масс-спектрометрический анализ метаболома амниотической и цервиковагинальной жидкостей

Для метаболомного анализа проводился забор АЖ и ЦВЖ. Забор АЖ проводился с помощью ТА-амниоцентеза, после получения биоматериал немедленно передавался в лабораторию для обработки. Центрифугирование

АЖ проводилось со скоростью 1300g в течение 10 минут при комнатной температуре, далее проводился отбор, не задевая осадка, двух аликвот по 1500 мкл, замораживание и хранение при температуре -80С. Забор цервикагинальной жидкости проводился после орошения влагалища и шейки матки 5 мг раствором натрия хлорида 0,9%. Полученная жидкость центрифугировалась при условиях 1500g в течении 10 мин при комнатной температуре.

Анализ образцов осуществляли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Agilent 1260 II с масс-спектрометрическим детектированием на масс-спектрометре Agilent 6460 в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). Параметры хроматографического разделения, транзитных переходов между родительскими ионами и дочерними фрагментами для мониторируемых органических кислот, соответствующие им хроматографические времена удержания, концентрации внутренних стандартов, а также сведения о чувствительности и воспроизводимости анализа приведены в руководстве JASEM для набора LC-MS/MS ANALYSIS OF ORGANIC ACIDS производства JASEM, Турция.

Определение концентрации метаболитов проводили с использованием пакета программного обеспечения QuantAnalysis (Agilent, США). Для этого проводилось построение калибровочной кривой для каждой органической кислоты. Достоверность калибровочной кривой определялась по коэффициенту детерминации, минимальное значение которого было выбрано равным 0,95 ($r \geq 0,95$). Воспроизводимость параметров хроматографического разделения и масс-спектрометрического детектирования определялась с использованием отрицательного контроля, контролей качества. Каждый образец закалывали три раза.

2.2.6. Статистическая обработка полученных результатов

Все анализируемые результаты исследуемых пациентов вносились в

индивидуально разработанную регистрационную карту и в электронную базу данных на платформе MS Excel Microsoft. Статистическая обработка данных выполнялась на индивидуальном компьютере с помощью электронных таблиц «Microsoft Excel» и пакета статистических программ IBM SPSS Statistics v22 (США) и GraphPad Prism 8.3 (США). За критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали $p < 0,05$ (95% уровень достоверности).

Для оценки характера распределения использовали обобщенный тест Д'Агостино-Пирсона, а также критерии Андерсона — Дарлинга, Шапиро — Уилка и Колмогорова-Смирнова, по результатам которых параметрические методы применялись при нормальном распределении данных, непараметрические при ненормальном распределении. Для каждого количественного параметра были определены: среднее значение (M), среднеквадратическое отклонение (δ), 95% доверительный интервал, для качественных данных - частоты (%).

Для качественных показателей определялись доли и риски (процентное соотношение, %). Для анализа качественных данных применяли тест χ^2 с расчётом поправки на непрерывность для таблиц сопряженности 2x2 и точный критерий Фишера. Отношение шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95% (95% ДИ) использовалось для сравнения бинарных данных.

Для количественных показателей определялись среднее значение и стандартное отклонение. Для анализа количественных данных применяли методы параметрической статистики (t-критерий Стьюдента) при нормальном виде распределения данных для оценки межгрупповых различий. Для множественного сравнения и оценки различий в нескольких группах определялся критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и ANOVA, при непараметрическом распределении данных – тест Краскела-Уоллиса. При отсутствии нормального распределения данных применялись методы непараметрической статистики – U-критерий Манна-Уитни. При величине $p\text{-value} \leq 0,05$ отличие принимали за статистически значимое, при $p\text{-value} \leq 0,01$ – за очень значимое, при $p\text{-value} \leq 0,001$ – за максимально значимое.

Корреляционный анализ проводился с вычислением коэффициента корреляции Пирсона для нормального распределения и Спирмена для непараметрических показателей. При коэффициенте равном 0,1 – 0,29 – корреляционная связь считалась слабой, при 0,3 – 0,49 – средней, от 0,5 и выше сильной.

Оценка диагностической значимости моделей, построенных на исследуемых показателях, оценивалась по результатам ROC-анализа.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Структура преждевременных родов в НМИЦ АГП

В период с ноября 2017 по декабрь 2019 годов в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» произошло 854 преждевременных родов. Средний возраст беременных составил $34,4 \pm 5,42$ года, средний срок гестации на момент родоразрешения $34,1 \pm 0,18$ недель. Возрастная структура родильниц представлена на рисунке 7 (согласно распределению Гаусса-Лапласа).

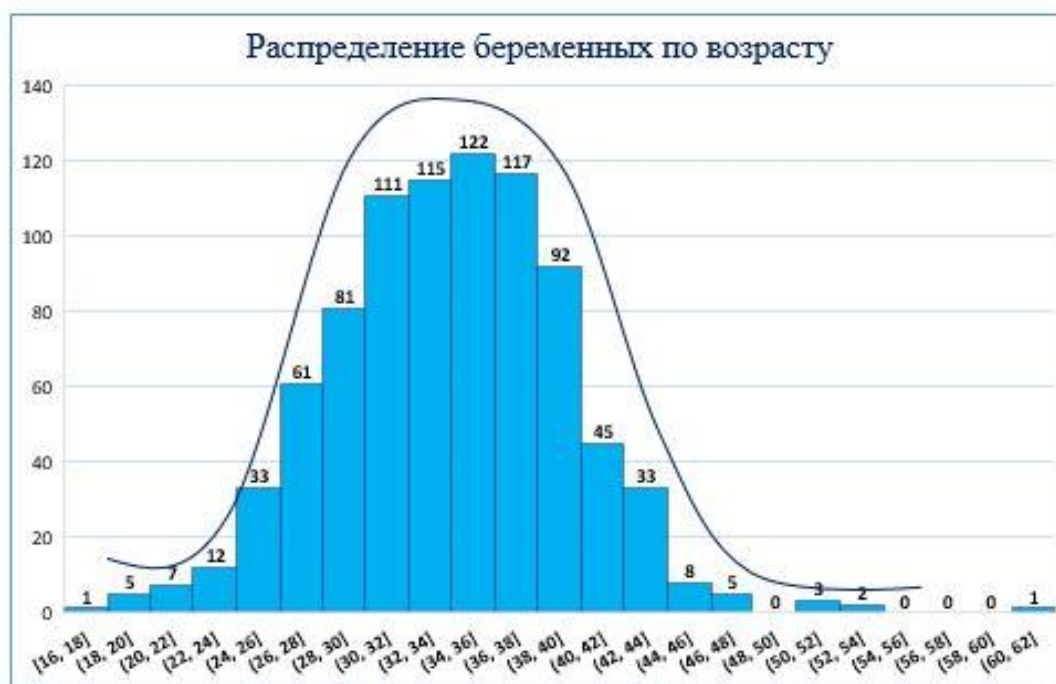


Рисунок 7. Распределение беременных по возрасту.

При анализе сроков и методов родоразрешения доминировало кесарево сечение в 532 (62,3%) случаях, роды через естественные родовые пути были в 322 (37,7%) случаях. Средний возраст беременных и срок родоразрешения пациенток, родивших *per vias naturales* составил $33,6 \pm 5,19$ лет и $34,8 \pm 2,62$ недель, соответственно; путем абдоминального родоразрешения $34,9 \pm 5,49$ лет и $33,8 \pm 2,76$ недель, соответственно. При анализе вышеуказанных показателей отмечалась статистически значимая разница, при оперативном родоразрешении возраст был достоверно больше ($p=0,0003$), а срок беременности меньше ($p < 0,0001$). Распределение пациенток в зависимости от метода родоразрешения и возраста представлено на рисунке 8.

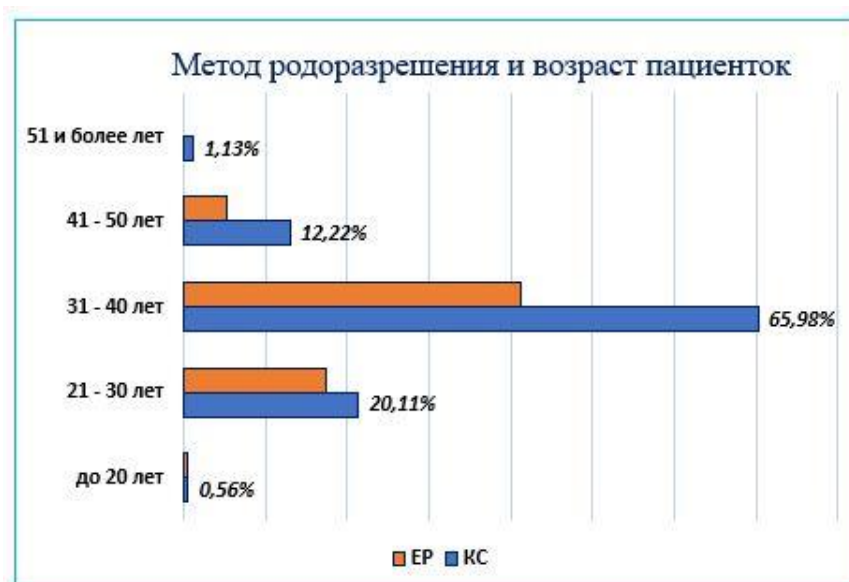


Рисунок 8. Метод родоразрешения и возраст пациенток.

При ранжировании групп по срокам беременности отмечается доминирование оперативного метода более чем в 2 раза в сроках гестации 27-34 недели. Выбор метода родоразрешения в зависимости от срока беременности представлен на рисунке 9.

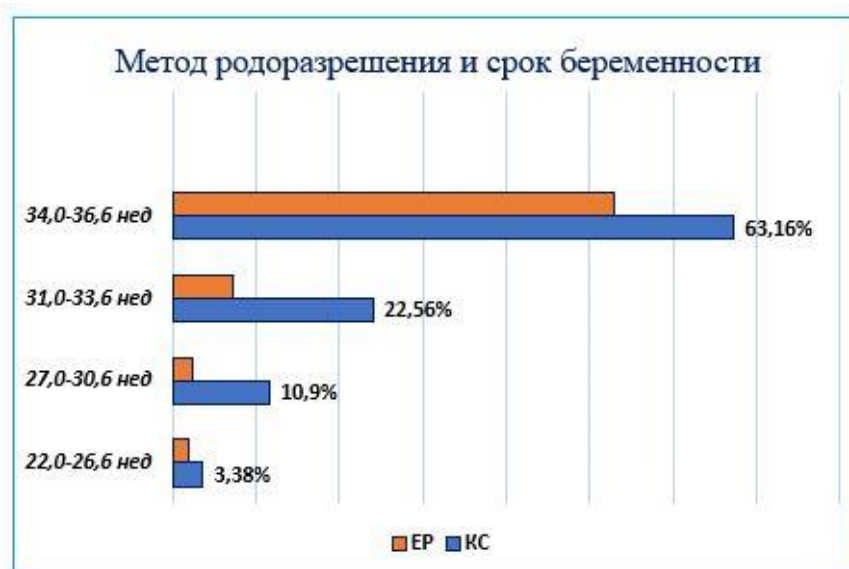


Рисунок 9. Метод родоразрешения и срок беременности.

Для анализа структуры причин преждевременных родов первоначально беременные были разделены на 2 большие группы: 1-я - индуцированные преждевременные роды, 2-я спонтанные преждевременные роды с их внутригрупповым разделением согласно двум клиническим фенотипам на

пациенток с интактными плодными оболочками (интПО) и с ПРПО. Учитывая исходно разные патогенетические механизмы, влияющие на инициацию родового процесса, беременные с многоплодием были исключены из данного анализа. Структура преждевременных родов представлена на рисунке 10.

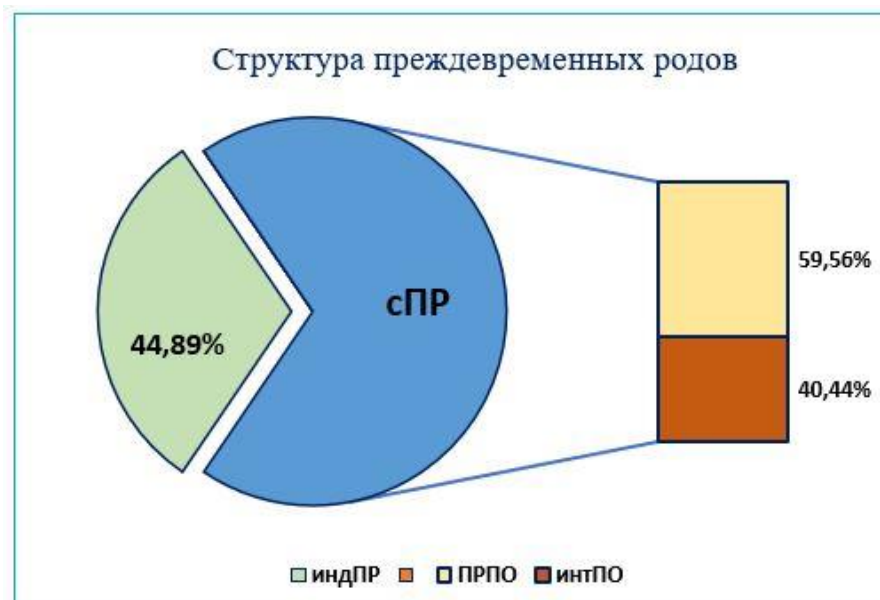


Рисунок 10. Структура преждевременных родов в НМИЦ АГП (индПР – индуцированные ПР, сПР – спонтанные ПР).

Анализ данных, представленных на рисунке 10, отражает, что спонтанные преждевременные роды статистически значимо доминируют над индуцированными, а ПРПО - над сПР с интактными плодными оболочками (интПО) ($p=0,003$).

Для оценки причин индуцированных родов проведено деление пациенток на группы в соответствии с показаниями к родоразрешению. Структура индуцированных преждевременных родов, включая метод родоразрешения, срок беременности и возраст матери представлена ниже, на рисунке 11.



Рисунок 11. Структура индуцированных преждевременных родов в НМИЦ АГП.

Предлежание (включая вращение) плаценты - n=76; 23,9%. ПОНРП (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты) - n=24; 7,55%. ВПР (врожденные пороки развития) у плода - n=7; 2,2%. ВХБ (внутрипеченочный холестаз) беременных - n=7; 2,2%. ПЭ (преэклампсия, включая тяжелую и на фоне хронической артериальной гипертензии) - n=44; 13,84%. Дистресс плода - n=65; 20,44%. ГБП (гемолитическая болезнь плода) - n=21; 6,6%. ЭГП (экстрагенитальная патология) матери - n=27; 8,49%. Несостоятельность рубца на матке - n=24; 7,55%. Другое - n=23; 7,23%.

В структуре индуцированных преждевременных родов ведущее место занимают пациентки с предлежанием/вращением плаценты и дистрессом плода (нарушением состояния, согласно данным тестов функциональной диагностики), выявленным антенатально. Учитывая характер данных патологий, в 100% случаев родоразрешение проводилось путем операции кесарева сечения. Наименьший вклад в индПР внесли внутрипеченочный холестаз беременных и врожденные пороки развития (ВПР) у плода. Пороки представлены преимущественно нарушениями ритма сердца и неиммунной водянкой. В группе «другое» представлены относительно редкие причины преждевременного родоразрешения: антенатальная гибель плода, ангидрамнион неясной этиологии (не ассоциированный с ПРПО), перекрут кисты яичника и др. В отношении сроков родоразрешения статистически значимые различия были отмечены между группой «другое» и всеми остальными группами ($p < 0,0001$), что вероятно обусловлено малой выборкой данной группы; а также между группами «ПЭ» и «несостоятельность рубца на

матке» ($p=0,0171$). При анализе возрастной структуры достоверных отличий выявлено не было ($p=0,7975$).

ПР занимают ведущее место в структуре акушерской патологии, полученные данные, подтверждают актуальность выбранной работы и необходимость дальнейших усилий по поиску эффективных предикторов, направленных на оптимизацию акушерского менеджмента.

3.2. Клиническая характеристика пациенток высокого риска спонтанных преждевременных родов

3.2.1. Клинико-anamnestическая характеристика

В соответствии с целью и задачами нашего исследования, на первоначальном этапе проведен сравнительный анализ клинико-anamnestических данных 150 беременных высокого риска сПР (I группа – высокий риск ПР, родившие преждевременно ($n=80$); II - высокий риск ПР, но родившие своевременно ($n=70$) и 90 соматически здоровых беременных безотягощенного акушерско-гинекологического анамнеза, родивших в срок. I и II группы, в свою очередь, были подразделены на подгруппы в зависимости от сроков родоразрешения: Ia подгруппа – 20 беременных с экстремально и очень ранними ПР ($22^0 - 29^6$ недель), Ib подгруппа – 30 пациенток с ранними ПР ($30^0 - 33^6$ недель) и Ic подгруппу составили пациентки с поздними ПР ($34^0 - 36^6$ недель) – 30 беременных. Пациентки высокого риска ПР, но родоразрешенные в доношенном сроке (II группа) были разделены на 2 подгруппы: IIa – ранние своевременные роды ($37^0 - 37^6$ недель) – 20 беременных и IIb – своевременные роды ($> 38^0$ недель) – 50 беременных.

Средний возраст обследованных пациенток, составил $32,01 \pm 4,69$ лет, с разбросом вариант от 19 до 48 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 ($31,06 \pm 4,04$; $p=0,0002$), между группой II и контролем статистически значимой

разницы отмечено не было ($p=0,9991$).

При более детальном анализе возрастной структуры, становится понятным, что наибольший вклад в различия вносят пациентки из Ia подгруппы, средний возраст которых составил $36,40 \pm 2,85$ лет, так как статистически значимые различия были найдены между данной подгруппой и практически всеми остальными, данные представлены в таблице 4.

Таблица 4

Средний возраст обследованных женщин

Возраст	Ia подгруппа n=20	Ib подгруппа n=30	Ic подгруппа n=30	IIa подгруппа n=20	IIb подгруппа n=50	III группа n=90	p-value
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР $\geq 38^0$	НР СР $\geq 38^0$	
Средний возраст, лет	36,40 ± 2,85	33,30 ± 5,75	32,40 ± 5,70	31,40 ± 3,60	30,96 ± 4,26	31,06 ± 4,04	<0,0001
Примечания:	Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA. Межгрупповой анализ ²¹ : Ia - Ic: $p=0,0256$; Ia - IIa: $p=0,0062$; Ia - IIb: $p < 0,0001$; Ia - III: $p < 0,0001$.						

Так же обращает внимание постепенное уменьшение возрастного состава пациенток от Ia подгруппы к IIb.

Антропометрические данные участниц исследования представлены на рисунке 12. Проведенный анализ не показал достоверных различий между подгруппами, пациентки имели сопоставимые показатели роста ($p=0,3956$), массы тела ($p=0,2572$) и ИМТ (рассчитанного по формуле Кетле; $p=0,8041$).

²¹ В данной графе будут представлены сравнения, имеющие статистическую значимость: $p < 0,05$ и $p < 0,01$.



Рисунок 12. Антропометрические показатели обследованных женщин

При сравнительном анализе экстрагенитальной патологии в анамнезе не выявлено статистически значимых различий между подгруппами (рисунок 13). Так, заболевания сердечно-сосудистой (гемодинамически незначимые пролапсы клапанов сердца, нарушения ритма сердца, малые аномалии развития и т.п.; $p=0,8249$), мочевыделительной системы (хронические воспалительные заболевания чашечно-лоханочной и выделительной систем, мочекаменная болезнь, поражения клубочкового аппарата и т.п. $p=0,6031$), заболевания органов ЖКТ ($p=0,6031$), а также системные поражения соединительной ткани (системная красная волчанка, склеродермия, ревматоидный артрит и т.п.; $p=0,3274$) были в равной степени распространены между группами. Встречаемость патологии щитовидной железы ($p=0,1960$), варикозной болезни вен нижних конечностей ($p=0,5698$) и ожирения ($p=0,0766$) была также сопоставима между подгруппами.

Распространенность экстрагенитальной коморбидности
у обследованных женщин



Рисунок 13. Распространенность экстрагенитальной коморбидности у обследованных женщин.

Однако, при анализе частоты встречаемости ожирения, но между группами (I – III, данные отражены в таблице 5) выявлены статистически значимые различия. Так 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).

Таблица 5

Распространенность ожирения у обследованных женщин

Нозология	I	II	III	p-value
	группа, n=80	группа, n=70	группа, n=90	
	ВР ПР $22^0 - 36^6$	ВР СР $\geq 37^0$	НР СР $\geq 38^0$	
Ожирение	15 (18,75%)	7 (10,00%)	5 (5,56%)	I - III 0,0089
Примечания:	Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2 -тест.			

Известно, что менструальная функция является «зеркалом» репродуктивного и, отчасти, общесоматического статуса женщины. Сравнительный анализ особенностей менструальной функции участниц

исследования, представлен в таблице 6.

Таблица 6

Оценка менструальной функции обследованных женщин

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Возраст менархе, лет*	13,2 ± 1,00	13,1 ± 1,20	13,3 ± 1,18	13,3 ± 0,96	13,4 ± 2,42	13,5 ± 1,62	0,8080
Длительность менструации, дней*	5,0 ± 1,03	5,1 ± 1,17	5,0 ± 1,03	5,2 ± 0,91	5,1 ± 0,97	5,5 ± 2,14	0,4180
Длительность цикла, дней*	31,3 ± 13,89	34,4 ± 14,97	31,5 ± 12,78	29,2 ± 6,68	31,1 ± 7,59	29,7 ± 4,91	0,2769
Регулярность цикла**	18 (90,00%)	26 (86,67%)	26 (86,67%)	19 (95,00%)	46 (92,00%)	79 (87,78%)	0,8886
Характер выделений при menses**:							
- скудные	-	1 (3,33%)	-	-	1 (2,00%)	4 (4,44%)	0,9020
- умеренные	17 (85,00%)	21 (70,00%)	19 (63,33%)	15 (75,00%)	35 (70,00%)	52 (57,78%)	0,1968
- обильные	3 (85,00%)	8 (26,67%)	11 (36,67%)	5 (25,00%)	14 (28,00%)	34 (37,78%)	0,5449
- болезненные	2 (10,00%)	6 (20,00%)	7 (23,33%)	6 (30,00%)	9 (18,00%)	21 (23,33%)	0,7264
Примечания:	*Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA. ** Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ ² -тест.						

Как видно из представленных в таблице 6 данных, статистически значимые различия по анализируемым параметрам отсутствовали. Менструальная функция отражает нормативные средне-популяционные значения, характерные для здоровых женщин, у подавляющего большинства среди всех подгрупп – регулярные умеренные безболезненные *menses*.

При изучении возраста начала половой жизни не было найдено статистически значимых различий между группами. В I группе он составил

18,9 ± 2,94, во II – 18,07 ± 2,14, в III – 18,9 ± 3,54 (p=0,1184). При анализе внутри подгрупп достоверные различия были выявлены между подгруппами Ia (20,7 ± 3,86 лет) и Ib (18,9 ± 3,54 лет, p=0,0102), однако учитывая, что возрастной состав Ib подгруппы моложе Ia (36,4 ± 2,85 и 30,9 ± 4,26, соответственно, p < 0,0001), можно сделать вывод, что возраст матери вносит более весомый вклад, чем начало половой жизни.

При изучении специфики гинекологического анамнеза обследованных беременных, удалось выявить ряд факторов, ассоциированных с развитием сПР. Детальный спектр гинекологической патологии представлен на рисунке 14.



Рисунок 14. Гинекологический анамнез обследованных женщин.

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). ВПР матки (двурогая, седловидная, полная или неполная формы внутриматочной перегородки и т.п.) в Ib подгруппе встречались статистически значимо чаще, чем в подгруппе IIb (p=0,0257; ОШ 9,80 95% ДИ 1,174 - 117,3) и группе III (p=0,0037; ОШ 17,80 95% ДИ 2,174 - 211,4). Миома матки была

ассоциирована с развитием ранних своевременных родов, получены различия между пациентками подгруппы IIa с подгруппой Ia ($p=0,0381$; ОШ 0,11 95% ДИ 0,009 - 0,881) и группой III ($p=0,0310$; ОШ 0,25 95% ДИ 0,085 - 0,944). Не найдено статистически значимых различий в частоте хронического сальпингоофорита ($p=0,3130$), данный фактор в целом редко встречался среди обследованных, вероятно, это можно объяснить тем, что в современной структуре преждевременных родов сальпингоофорит не имеет большого значения. Инфекции, передаваемые половым путем (ИППП, такие как *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Treponema pallidum* и др.) статистически значимо чаще встречались в подгруппе IIb по сравнению с группой контроля ($p=0,0018$; ОШ 4,529 95% ДИ 1,825 - 11,53). Заболевания шейки матки (эктропион, эрозия, CIN I-II) доминировали в подгруппе IIb в сравнении с подгруппой Ia ($p=0,0161$; ОШ 4,50 95% ДИ 0,0161) и группой III ($p=0,0006$; ОШ 3,69 95% ДИ 1,506 - 12,66), то есть данный фактор ассоциирован с группой высокого риска, однако, не приводил к развитию ПР.

Мощным критерием и важным фактором, вносящим значительный вклад в развитие преждевременных родов, является репродуктивный анамнез, тот «багаж» с которым женщина подошла к данной беременности. Акушерский анамнез обследованных представлен в таблице 7.

Таблица 7

Репродуктивный анамнез обследованных женщин

Показатели	Ia подгруппа n=20	IIb подгруппа n=30	Ic подгруппа n=30	IIa подгруппа n=20	IIb подгруппа n=50	III группа n=90	p-value
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
1	2	3	4	5	6	7	8
Среднее кол-во беременностей*	3 [1;3,75]	2 [2;4,25]	2 [2;3]	2 [1;3]	2 [1;4]	2 [1;2]	0,0018
Перво-беременные, первородящие**	6 (30,00%)	6 (20,00%)	5 (16,67%)	6 (30,00%)	16 (32,00%)	40 (44,44%)	0,0088

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5	6	7	8
Повторно-беременные, первородящие**	2 (10,00%)	6 (20,00%)	8 (26,67%)	3 (15,00%)	11 (22,00%)	24 (26,67%)	0,5864
Повторно-беременные, повторно-родящие**	12 (60,00%)	18 (60,00%)	17 (56,67%)	11 (55,00%)	23 (46,00%)	26 (28,89%)	0,0045
Беременности в рез-те ЭКО**	2 (10,00%)	7 (23,33%)	5 (16,67%)	-	9 (18,00%)	5 (5,56%)	0,0275
Внематочная беременность**	3 (15,00%)	2 (6,67%)	1 (3,33%)	1 (5,00%)	4 (8,00%)	1 (1,11%)	0,1668
Привычный выкидыш**	7 (35,00%)	7 (23,33%)	5 (16,67%)	1 (5,00%)	8 (16,00%)	8 (8,89%)	0,0319
Преждевременные роды**	6 (30,00%)	10 (33,33%)	12 (40,00%)	3 (15,00%)	7 (14,00%)	-	<0,0001
Среднее кол-во преждевременных родов*	0 [0;1]	0 [0;1]	0 [0;1]	0 [0;0]	0 [0;0]	0 [0;0]	<0,0001
Примечания:	<p>*Данные представлены медианой и перцентилями Ме [25%;75%]; ANOVA.</p> <p>** Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>Межгрупповой анализ:</p> <ul style="list-style-type: none"> - среднее кол-во беременностей: Ia - III – p=0,0078, Ib - III – p=0,0275; - первобеременные первородящие: Ic - III - p=0,0084; - повторнобеременные повторнородящие: Ia - III - p=0,0173, Ib - III - p=0,0040, Ic - III - p=0,0069, IIa - III - p=0,0359; - привычное невынашивание в анамнезе: Ia - III - p=0,0060; - преждевременные роды Ia, Ib, Ic - III – p <0,0001, Ic - IIb – p=0,0082; - среднее количество ПР: Ia - III – p=0,0359, Ib - III – p <0,0001, Ic - III – p <0,0001, Ib - IIb – p=0,0359. 						

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. Применение ВРТ достоверно чаще регистрировалось у пациенток Ib подгруппы по

сравнению с группой контроля ($p=0,0101$; ОШ 5,174 95% ДИ 1,552 – 15,96), однако в данной подгруппе возрастная структура и гинекологическая отягощенность встречались статистически значимо выше, вероятно, применение репродуктивных технологий выступает скорее, как вспомогательный фактор, на фоне общей коморбидности. Аборты и выкидыши чаще встречались у пациенток высокого риска, но статистически значимой разницы с группой контроля не было ($p=0,4632$ и $p=0,2187$, соответственно); в то время как, неразвивающиеся беременности ($p=0,0172$) и привычный выкидыш ($p=0,0060$; ОШ 5,519 95% ДИ 1,764 – 16,39) в анамнезе достоверно чаще встречались в подгруппе Ia, являясь фактором риска экстремально и очень ранних преждевременных родов. Преждевременные роды в анамнезе, доказанный фактор риска, который статистически значимо чаще встречался во всех подгруппах с преждевременными родами (Ia, Ib, Ic; $p < 0,0001$) в сравнении с контрольной группой.

Полученные анамнестические данные позволяют сделать выводы и описать ряд факторов, характерных для формирования «портрета» пациентки ВР ПР. Во-первых, это пациентки старшей возрастной группы (более 36 лет), причем с увеличением возраста уменьшается гестационный срок на момент родов, из соматических особенностей обращает на себя внимание наличие ожирения. Профиль гинекологических заболеваний ассоциирован с вовлечением в патологические процессы эндометрия, что может служить фоном для развития в последующем субклинического ВАВ (неоднократные *abrasio cavi uteri*, ИППП). Акушерская история сопровождается повторными репродуктивными потерями в разные сроки гестации (неразвивающаяся беременность, привычный выкидыш, преждевременные роды). Обобщенные данные представлены в приложении №2.

3.2.2. Особенности течения и ведения беременности

Течение беременности, начиная с ранних сроков закладывает основы формирования будущего ребенка, в то же время, ряд кардинальных событий,

возникающих во второй половине гестации, особенно в III триместре, может изменить физиологический естественный ход событий. Все это требует тщательного анализа развития особенностей течения и осложнений на протяжении всей беременности. В таблице 8 описаны особенности течения беременности в первом триместре у обследованных пациенток.

Таблица 8

Течение беременности у обследованных женщин в I триместре

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Предлежание хориона	-	4 (13,33%)	7 (23,33%)	5 (25,00%)	10 (20,00%)	10 (11,11%)	0,1154
Ретрохориальная/ амниотическая гематома	2 (10,00%)	9 (30,00%)	7 (23,33%)	2 (10,00%)	6 (12,00%)	8 (8,89%)	0,0497
Эпизоды кровянистых выделений	3 (15,00%)	10 (33,33%)	9 (30,00%)	5 (25,00%)	8 (16,00%)	7 (7,78%)	0,0092
Ранний токсикоз	7 (35,00%)	5 (16,67%)	8 (26,67%)	8 (40,00%)	23 (46,00%)	30 (33,33%)	0,1402
Угроза прерывания	5 (25,00%)	15 (50,00%)	13 (43,33%)	11 (55,00%)	16 (32,00%)	21 (23,33%)	0,0160
Респираторная инфекция	-	4 (13,33%)	3 (10,00%)	2 (10,00%)	16 (32,00%)	15 (16,67%)	0,0393
Анемия	-	2 (6,67%)	-	-	2 (4,00%)	5 (5,56%)	0,5132
Хроническая артериальная гипертензия	1 (5,00%)	2 (6,67%)	-	-	2 (4,00%)	-	0,8691
Нарушения микрофлоры влагалища	5 (25,00%)	4 (13,33%)	3 (10,00%)	1 (5,00%)	3 (6,00%)	3 (3,33%)	0,0289
Примечания:	Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2 -тест. Межгрупповой анализ: - ретрохориальная гематома: Ib - III – p=0,0121; - эпизоды кровянистых выделений: Ib - III - p=0,0014, Ic - III - p=0,0041; - угроза прерывания: Ib - III - p=0,0104, IIa - III - p=0,0121; - нарушения микрофлоры влагалища: Ia - III - p=0,0048.						

Патология, ассоциированная с инфекционными и иммунологическими процессами, а именно 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). Интересным оказался факт, что наличие эпизода угрозы выкидыша в I триместре не было доминирующим в подгруппах с преждевременными родами, достоверные различия были получены в подгруппах Ib и IIa в сравнении с контролем ($p=0,0104$ и $p=0,0121$, соответственно). Наличие респираторной инфекции статистически значимо чаще отмечалось у пациенток подгруппы IIb (32%) по отношению к группе III (16,67%, $p=0,0393$), что скорее всего является статистическим совпадением. Начиная с I триместра фиксируются нарушения микрофлоры влагалища (дисбиотические процессы, грибковые поражения, колонизация облигатными и факультативными патогенами), ассоциированные с ПР, причем с увеличением срока на момент родоразрешения 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).

Течение второго триместра беременности, равно как и первого, у пациенток, родивших преждевременно, продолжает сопровождаться эпизодами угрозы невынашивания (таблица 9). Однако, в отличие от I триместра, достоверные различия получены для всех подгрупп с ПР (Ia, Ib, Ic). Эпизоды кровянистых выделений, анемии, респираторных инфекций и бессимптомной бактериурии статистически значимо не различались. ГСД статистически значимо чаще встречался в подгруппах Ic ($p=0,0022$; ОШ 6,00 95% ДИ 1,871 – 19,64) и IIa ($p=0,0271$; ОШ 4,667 95% ДИ 1,339 – 15,52) по сравнению с группой III. Дисбиотические процессы НГТ статистически значимо чаще отмечались в подгруппах Ia и Ib ($p=0,0486$ и $p=0,0005$, соответственно) в сравнении с группой контроля, в то время как для

подгруппы Ic - поздних преждевременных родов статистически значимых различий не выявлено ($p=0,3855$). Кандидозный вульвовагинит статистически значимо чаще выявлялся среди пациенток Ia подгруппы по сравнению с группой контроля ($p=0,0021$), не исключено, что данный факт может быть связан с меньшей настороженностью врачей, ведущих беременность у пациенток без отягощенного акушерского анамнеза и недостаточным микробиологическим мониторингом состояния нижнего генитального тракта.

Таблица 9

Течение беременности у обследованных женщин во II триместре

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Угроза прерывания	15 (75,00%)	18 (60,00%)	15 (50,00%)	13 (65,00%)	24 (48,00%)	19 (21,11%)	<0,0001
Эпизоды кровянистых выделений	2 (10,00%)	1 (3,33%)	2 (6,67%)	-	1 (2,00%)	1 (1,11%)	0,2330
Системная антибактериальная терапия	15 (75,00%)	19 (63,33%)	9 (30,00%)	9 (45,00%)	23 (46,00%)	13 (14,44%)	<0,0001
Респираторная инфекция	1 (5,00%)	3 (10,00%)	4 (13,33%)	2 (10,00%)	8 (16,00%)	15 (16,67%)	0,7388
Анемия	5 (25,00%)	7 (23,33%)	5 (16,67%)	5 (25,00%)	11 (22,00%)	17 (18,89%)	0,9543
Гестационная артериальная гипертензия	-	1 (3,33%)	1 (3,33%)	-	3 (6,00%)	2 (2,22%)	0,6891
Гестационный сахарный диабет	4 (20,00%)	5 (16,67%)	9 (30,00%)	5 (25,00%)	7 (14,00%)	6 (6,67%)	0,0314
Бессимптомная бактериурия	1 (5,00%)	-	-	1 (5,00%)	1 (2,00%)	5 (5,56%)	0,8027
Дисбиоз влагалища	7 (35,00%)	14 (46,67%)	6 (20,00%)	2 (10,00%)	8 (16,00%)	12 (13,33%)	0,0014
Кандидозный вульвовагинит	5 (25,00%)	6 (10,00%)	2 (6,67%)	3 (15,00%)	7 (14,00%)	2 (2,22%)	0,0082

Продолжение таблицы 9

Примечания:	<p>Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>Межгрупповой анализ:</p> <p>- угроза прерывания: Ia - III – $p < 0,0001$, Ib - III – $p = 0,0002$; Ic - III – $p = 0,0044$, IIa - III – $p = 0,0002$;</p> <p>- системная антибактериальная терапия: Ia - III – $p < 0,0001$, Ib - III – $p < 0,0001$, Ic - III – $p = 0,0989$, IIa - III – $p = 0,0044$, IIb - III – $p < 0,0001$; Ia - Ic – $p = 0,0034$, Ia - IIb – $p = 0,0353$;</p> <p>- гестационный сахарный диабет: Ic - III - $p = 0,0022$, IIa - III – $p = 0,0271$;</p> <p>- дисбиоз влагалища: Ia - III - $p = 0,0486$, Ib - III - $p = 0,0005$, Ib - IIa - $p = 0,0119$, Ib - IIb - $p = 0,0044$;</p> <p>- кандидозный вульвовагинит: Ia - III - $p = 0,0021$.</p>
--------------------	--

Вопрос, относительно назначения антибактериальной терапии в качестве дополнительного фактора воздействия (а иногда и терапии отчаяния) при угрожающих преждевременных родах остается открытым. В нашем исследовании оценивался прием системной антибактериальной терапии во II и III триместрах. Необходимо уточнить, что в 80-90% случаев обоснованием для назначения терапии был лечебный курс на фоне хирургической коррекции ИЦН и при ПРПО, в меньшей степени - коррекция обильного роста патогенов нижнего генитального тракта. Другими крайне редкими показаниями являлись терапия острых инфекций различной локализации или лечение обострений хронических очагов инфекции. Заслуживает внимания тот факт, что всем пациенткам групп высокого риска статистически значимо чаще в сравнении с группой контроля назначалась антибактериальная терапия, причем наибольшее число случаев отмечено в подгруппах Ia (75%) и Ib (63,33%). При детальном межгрупповом анализе найдены статистически значимые различия у пациенток высокого риска, как между подгруппами, родоразрешенными преждевременно Ia и Ic ($p = 0,0034$; ОШ 7,000 95% ДИ 1,879 – 24,08), так и между подгруппами Ia и IIb – пациентками высокого риска, родившими в срок ($p = 0,0353$; ОШ 3,522 95% ДИ 1,189 – 9,851). Для объективизации полученных данных, нами проведен анализ частоты назначения системной антибактериальной терапии у пациенток групп высокого риска ПР с интактными плодными оболочками, когда назначение антибиотиков не является неотъемлемой частью акушерского менеджмента. Отмечено, что

частота проведения антибактериальной терапии была обратно пропорциональна сроку беременности на момент родоразрешения, а различия оказались статистически значимыми (рисунок 15). Так, в Ia подгруппе прием системных антибиотиков имел место у 88,89% (8/9), в Ib подгруппе - у 55,56% (5/9) и в Ic подгруппе - у 23,08% (3/8)²².

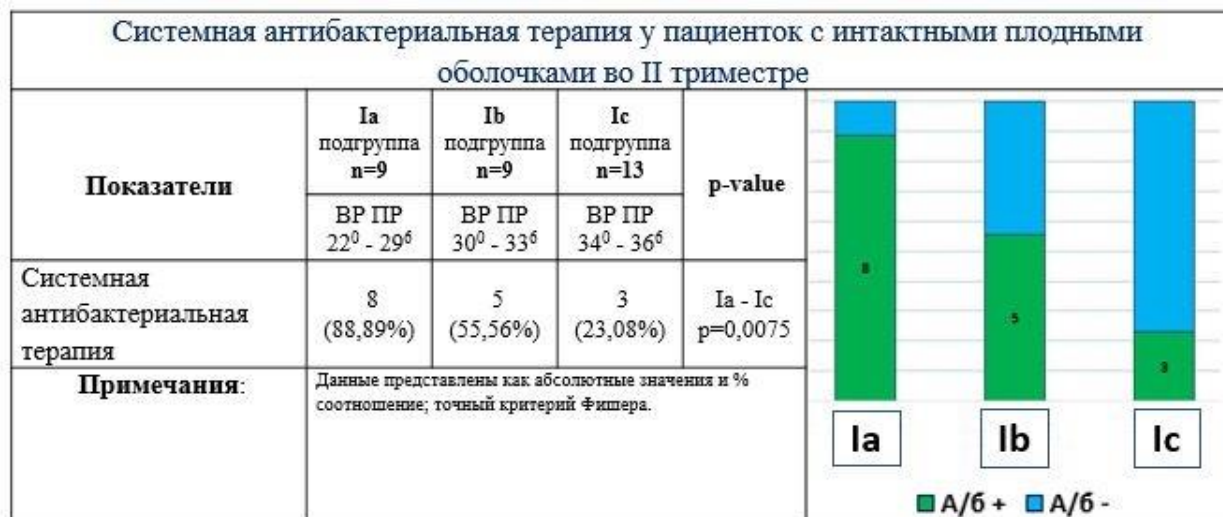


Рисунок 15. Системная антибактериальная терапия у пациенток с интактными плодными оболочками во II триместре (а/б – антибактериальная терапия).

Завершающий третий триместр беременности заслуживает продолжения детального анализа. Необходимо отметить, что 10 пациенток из подгруппы Ia были родоразрешены во II триместре, соответственно в данном разделе подгруппа представлена только 10 пациентами. III триместр характеризуется дебютом и/или развитием самого разного спектра акушерской патологии, в то же время напомним, что в исследовании были включены пациентки только со спонтанными преждевременными родами, случаи индуцированных родов, вызванных, например, нарастанием тяжести преэклампсии или декомпенсацией состояния плода, в частности, на фоне течения ЗРП, были заблаговременно исключены. Анализ течения III триместра представлен в таблице 10.

²² NB! Данные представлены с учетом исключения из каждой подгруппы пациенток с ПРПО.

Таблица 10

Течение беременности у обследованных женщин в III триместре

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=10	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 28 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Угрожающие преждевременные роды*	8 (80,00%)	22 (73,33%)	22 (73,33%)	16 (80,00%)	32 (64,00%)	11 (12,22%)	<0,0001
Анемия*	3 (30,00%)	5 (16,67%)	6 (20,00%)	8 (40,00%)	19 (38,00%)	22 (24,44%)	0,1916
Дисбиоз микрофлоры влагалища*	3 (30,00%)	10 (33,33%)	9 (30,00%)	7 (35,00%)	11 (22,00%)	9 (10,00%)	0,0191
Кандидозный вульвовагинит*	-	4 (13,33%)	-	2 (10,00%)	8 (16,00%)	8 (8,89%)	0,6304
Отеки*	-	2 (6,67%)	1 (3,33%)	1 (5,00%)	9 (18,00%)	12 (13,33%)	0,2119
Системная антибактериальная терапия*	10 (100,00%)	21 (70,00%)	12 (40,00%)	9 (45,00%)	24 (48,00%)	4 (4,44%)	<0,0001
Среднее количество курсов системной антибактериальной терапии за всю беременность**	2 [1;2]#	1 [0;2]	0 [0;1]	0 [0;1]	0 [0;1]	0 [0;0]	<0,0001
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест. **Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; ANOVA. #Расчет данных проводился согласно первоначальному количеству участников группы – n=20.</p> <p>Межгрупповой анализ: - угрожающие преждевременные роды: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic – III – p <0,0001, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001; - дисбиоз микрофлоры влагалища: Ib - III – p=0,0069, Ic - III – p=0,0054, IIa - III – p=0,0094; - системная антибактериальная терапия: Ib - III – p <0,0001, Ic - III – p <0,0001, Ib - Ic – p=0,0370; - среднее количество курсов системной антибактериальной терапии за всю беременность: Ia - Ic - p <0,0001, Ia - IIa - p <0,0001, Ia - IIb - p <0,0001, Ia - III - p <0,0001, Ib - Ic – p=0,0006, Ib - IIa – p=0,0009, Ib - IIb – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001, Ic - III – p=0,0079, IIb - III – p=0,0027.</p>						

Угрожающие преждевременные роды статистически значимо чаще встречались среди всех подгрупп высокого риска по сравнению с группой контроля ($p < 0,0001$) и с наибольшей частотой в подгруппах Ia (80%) и Pa (80%). Дисбиотические процессы микробиоты нижнего генитального тракта были более распространены среди беременных высокого риска, родивших преждевременно и в сроки, соответствующие ранним своевременным родам, статистически значимые различия найдены между подгруппами Ib, Ic и Pa в сравнении с группой контроля ($p=0,0069$, $p=0,0054$ и $p=0,0094$, соответственно). Кандидозный вульвовагинит имел практически равную частоту в подгруппах. Бессимптомная бактериурия и гипертензивные расстройства были представлены крайне низкой частотой, вследствие чего их анализ не проводился.

В отношении антибактериальной терапии в III триместре продолжает сохраняться высокий процент назначения препаратов, достигая 100% в подгруппе экстремально и очень ранних преждевременных родов (22^0 - 29^6). Статистически значимые различия нами были получены между всеми подгруппами с сПП (Ia - Ic) и контролем, а также при межгрупповом анализе между Ib и Ic подгруппами ($p=0,0370$; ОШ 3,500 95% ДИ 1,143 – 9,730). Среднее количество курсов системной антибактериальной терапии в течении всей беременности было значимо выше у всех пациенток высокого риска, при межгрупповом анализе статистически значимые различия отмечались в подгруппах Ia и Ic ($p < 0,0001$). Для оценки наличия зависимости между сроком беременности и количеством проведенных курсов антибактериальной терапии среди подгрупп с преждевременными родами (Ia, Ib и Ic) проведен корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Пирсона (r -Пирсона), данные представлены в таблице 11.

Таблица 11

**Корреляционный анализ зависимости количества курсов
антибактериальной терапии и срока родоразрешения**

Таблица 11

Ia подгруппа, n=20 ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶		Ib подгруппа, n=30 ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶		Ic подгруппа, n=30 ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	
r*	p	r*	p	r*	p
- 0,002	0,993	- 0,510	0,004	- 0,191	0,311

Примечания: *Анализ проводился с использованием линейного коэффициента корреляции r-Пирсона.

Представленный в таблице 13 анализ демонстрирует отрицательную взаимосвязь между количеством курсов антибактериальной терапии и сроками родоразрешения. Таким образом, анализ применения антибактериальной терапии выявил статистически значимую большую частоту назначения антибиотиков в группах высокого риска, родивших преждевременно, однако количество проведенных курсов антибактериальной терапии не только не влияли на продолжительность беременности, но отрицательно коррелировали. График, отражающий срок родоразрешения и общее количество курсов антибактериальной терапии представлен на рисунке 16.

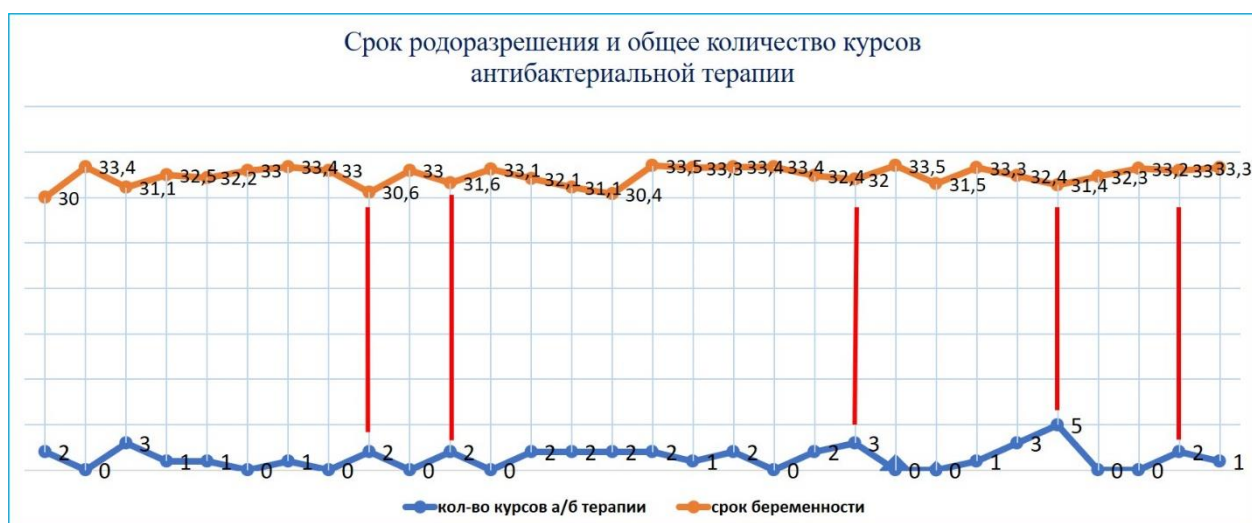


Рисунок 16. Срок родоразрешения и общее количество курсов антибактериальной терапии.

Вертикальные линии наглядно демонстрируют, что увеличение курсов антибактериальной терапии не сопровождается увеличением срока беременности на момент родоразрешения.

Основополагающим элементом профилактики преждевременных родов является оценка длины шейки матки и своевременная коррекция ИЦН. К сожалению, эффективного метода терапии неминуемых преждевременных родов нет, в тоже время, профилактика РДС плода и острый токолиз остаются единственными инструментами в руках акушеров-гинекологов, способными улучшить перинатальные исходы. В нашем исследовании мы решили изучить вышеуказанные факторы (длину шейки матки, оценку эффективности профилактики РДС плода и токолитической терапии) отдельным блоком, а не в рамках конкретного триместра беременности.

Динамика изменений длины шейки матки (согласно УЗ-цервикометрии) в течении беременности у обследованных женщин представлена в таблице 12. Сроками для оценки длины шейки матки были выбраны скрининговые даты: 11-14 недель, 18-21 неделя и 29-32 недели. Начиная с I триместра беременности отмечается достоверное статистически значимое уменьшение длины шейки матки среди пациенток высокого риска ($p < 0,0001$) по сравнению с группой контроля, однако при внутригрупповом анализе различий получено не было. Во II триместре сохраняются статистически значимо меньшие показания цервикометрии в подгруппах высокого риска в сравнении с контролем ($p < 0,0001$). Тем не менее, можно отметить, большие средние значения длины шейки матки в подгруппе поздних преждевременных родов – Ic ($33,9 \pm 5,72$) в сравнении с ранними и собственно своевременными родами IIa и IIb ($31,4 \pm 6,53$ и $32,7 \pm 6,01$, соответственно). Несмотря на отсутствие статистически значимых различий, данный факт подвергает сомнению бесспорную роль длины шейки матки во II триместре в вероятности развития именно поздних преждевременных родов.

Таблица 12

**Динамика изменений длины шейки матки (УЗ-цервикометрия) в
течении беременности у обследованных женщин**

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 28 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Длина шейки матки, мм - I триместр	37,7 ± 4,03	36,6 ± 5,61	38,4 ± 3,94	38,1 ± 5,21	38,2 ± 3,71	42,9 ± 4,45	<0,0001
Длина шейки матки, мм - II триместр	29,7 ± 9,97	30,9 ± 7,49	33,9 ± 5,72	31,4 ± 6,53	32,7 ± 6,01	40,0 ± 4,45	<0,0001
Длина шейки матки, мм - III триместр	14,8 ± 7,83#	25,6 ± 8,77	23,8 ± 9,38	22,4 ± 8,36	26,9 ± 6,01	38,3 ± 5,23	<0,0001
Примечания:	<p>Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA.</p> <p>#Расчет данных проводился с учетом выбывших из исследования пациенток, родоразрешенных во II триместре – n=10.</p> <p>Межгрупповой анализ:</p> <p>- длина шейки матки I триместр: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic - III – p <0,0001, IIa - III – p=0,0002, IIb - III – p <0,0001;</p> <p>- длина шейки матки II триместр: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic - III – p <0,0001, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001;</p> <p>- длина шейки матки III триместр: Ia - Ib – p=0,0017, Ia - Ic – p=0,0160, Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic - III – p <0,0001, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001.</p>						

В III триместре отмечается гетерогенность распределения данных цервикометрии, без наличия четкого вектора по нисходящей при переходе из подгруппы в подгруппу по мере увеличения срока беременности на момент родоразрешения. 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 17. При значениях длины шейки матки 15 мм и менее с чувствительностью 91,7% и специфичностью 32,9% наиболее вероятны преждевременные роды.

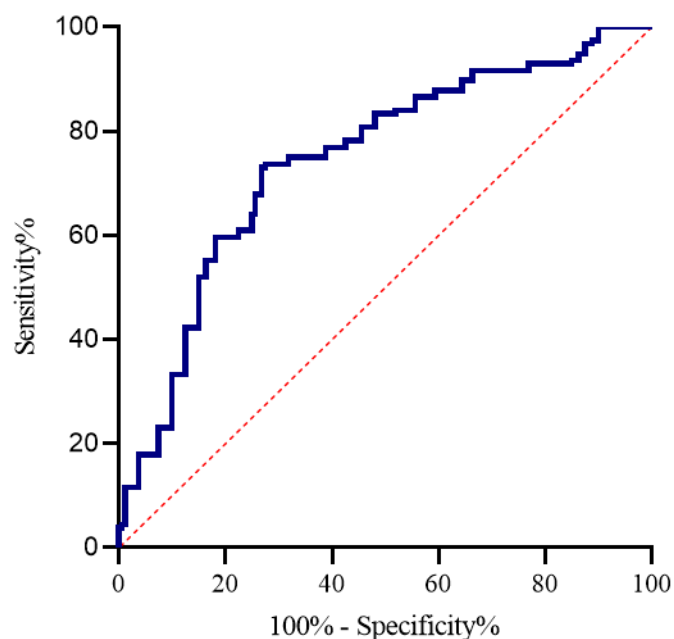


Рисунок 17. ROC-анализ, оценка диагностической значимости длины шейки матки в III триместре беременности.

Интересным является влияние длины шейки матки на развитие ПР в зависимости от клинического фенотипа. Известно, что ПРПО, в большей степени ассоциирован с нарушением нормальной микрофлоры нижнего генитального тракта и может приводить к досрочному родоразрешению и при соответствующих сроку значениях длины шейки матки. Средние значения цервикометрии, с учетом деления пациенток высокого риска, родоразрешенных преждевременно с излитием околоплодных вод и с интактными плодными оболочками, представлены в таблице 13. Так как ПРПО в подгруппах IIa и IIb и группе III не приводил к досрочному разрешению, в анализ беременные из этих подгрупп включены не были.

Таблица 13

Длина шейки матки (УЗ-цервикометрия) в III триместре беременности у обследованных женщин с ПРПО и интПО

Таблица 13

Показатели	Ia подгруппа, n=10# ВР ПР 28 ⁰ - 29 ⁶		Ib подгруппа, n=30 ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶		Ic подгруппа, n=30 ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶		p-value
	ПРПО n=5	интПО n=5	ПРПО n=21	интПО n=9	ПРПО n=17	интПО n=13	
Длина шейки матки, мм	18,8 ± 7,46	10,8 ± 6,49	26,4 ± 7,70	23,7 ± 11,16	26,1 ± 7,94	20,9 ± 10,57	0,0092
	p=0,7016		p=0,9682		p=0,5933		
Примечания:	#Расчет данных проводился с учетом выбывших из исследования пациенток, родоразрешенных во II триместре – n=10. Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA. Межгрупповой анализ: Ia-интПО - Ib-ПРПО – p=0,0083, Ia-интПО - Ic-ПРПО – p=0,0134.						

Представленный анализ демонстрирует меньшую длину шейки матки у пациенток с интПО в сравнении с беременными с ПРПО, однако при внутригрупповом анализе статистически значимой разницы не получено, в том числе при перепроверке данных с использованием другого статистического критерия (*t-критерий Стьюдента*: Ia-ПРПО - Ia-интПО – p=0,1082, Ib-ПРПО - Ib-интПО – p=0,4390, Ic-ПРПО - Ic-интПО – p=0,1338).

Коррекция ИЦН – хирургическая (наложение швов на шейку матки) и/или механическая (установка разгрузочного акушерского пессария во влагалище) - необходимый этап долгосрочной профилактики невынашивания беременности и преждевременных родов. Методы и сроки проведенной коррекции представлены в таблице 14.

Таблица 14

Методы и сроки коррекции ИЦН у обследованных женщин

Показатели	Ia подгруппа n=20	Ib подгруппа n=30	Ic подгруппа n=30	IIa подгруппа n=20	IIb подгруппа n=50	III группа n=90	p-value
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
1	2	3	4	5	6	7	8

Продолжение таблицы 14

1	2	3	4	5	6	7	8
Наложение швов на шейку матки*	9 (45,00%)	16 (53,33%)	8 (26,67%)	10 (50,00%)	24 (48,00%)	5 (5,56%)	<0,0001
Средний срок беременности при наложении швов на шейку матки**	19,3 ± 2,98	18,5 ± 3,19	18,9 ± 3,38	19,4 ± 4,38	20,5 ± 3,40	21,3 ± 4,18	0,4452
Установка акушерского pessaria*	8 (40,00%)	11 (36,67%)	10 (33,33%)	11 (55,00%)	19 (38,00%)	9 (10,00%)	<0,0001
Средний срок беременности на момент установки акушерского pessaria**	22,6 ± 3,27	24,6 ± 5,81	28,1 ± 4,25	25,9 ± 6,19	27,5 ± 5,33	27,4 ± 2,11	0,1336
Швы + pessарий*	1 (5,00%)	-	1 (3,33%)	6 (30,00%)	4 (8,00%)	-	0,0110
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест. **Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA.</p> <p>Межгрупповой анализ: - наложение швов на шейку матки: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic - III – p=0,0034, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001; - установка акушерского pessария: Ia - III – p=0,0027, Ib - III – p=0,0016; Ic - III – p=0,0069, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p=0,0001; - средний срок беременности на момент установки акушерского pessария: Ia - III – p=0,0021 (! t-test); - швы + pessарий: Ic - IIa – p=0,0124.</p>						

Полученные данные показывают высокую частоту применения всех методов хирургической коррекции ИЦН среди всех подгрупп пациенток высокого риска и группой контроля. Однако при сравнении пациенток высокого риска статистически значимые различия получены только для пациентов, которым применялся комбинированный метод (швы + pessарий) между подгруппами Ic (3,33%) и IIa (30%, p=0,0124, ОШ 0,080 95% ДИ 0,007 – 0,628), из чего логично следует вывод, что применение pessария на фоне хирургической коррекции ИЦН способствовало пролонгированию срока беременности до доношенного. Тем не менее, в целом отмечается необоснованно низкая частота использования данного комбинированного метода.

Профилактика РДС плода - необходимый компонент менеджмента ПР, улучшающий перинатальные исходы. Однако у 50% женщин беременность пролонгируется на 7-14 дней после проведенного курса профилактики [87] и вопрос рационализации и уточнения показаний для назначения ГКС требует значительной доработки. В рамках данной дилеммы нами проанализированы особенности профилактики РДС во время беременности, представленные в таблице 15.

Таблица 15

Особенности профилактики РДС плода у обследованных женщин

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
РДС плода*	18 (90,00%)	28 (93,33%)	21 (70,00%)	15 (75,00%)	16 (32,00%)	3 (3,33%)	<0,0001
Срок проведения профилактики РДС, недель**	26,4 ± 2,07	30,2 ± 3,28	31,8 ± 2,50	29,9 ± 2,99	31,7 ± 2,09	28,7 ± 2,37	<0,0001
Повторный курс профилактики РДС*	1 (5,00%)	6 (20,00%)	1 (3,33%)	2 (10,00%)	1 (2,00%)	-	0,0364
Разница между сроком проведения профилактики РДС плода и сроком родоразрешения, нед¥	1,4 ± 1,79	2,2 ± 2,91	2,8 ± 2,50	7,5 ± 2,91	×	×	<0,0001
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест. **Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA. ¥ Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; Kruskal-Wallis test. // × - группа не участвовала в анализе.</p> <p>Межгрупповой анализ: - РДС плода: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; Ic - III – p <0,0001, IIa - III – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001, Ia - IIb – p <0,0001, Ib - IIb – p <0,0001, Ic - IIb – p=0,0012, Ia - IIb – p=0,0002; - срок проведения профилактики РДС: Ia - Ib - p=0,0027, Ia - Ic – p <0,0001, Ia - IIa – p=0,0047, Ia - IIb – p <0,0001; - повторный курс профилактики РДС: Ib - IIb – p=0,0100; - разница между сроком проведения профилактики РДС плода и сроком родоразрешения: Ia - IIa - p <0,0001, Ib - IIa - p <0,0001, Ic - IIa - p <0,0001.</p>						

Подавляющее количество курсов было проведено в подгруппах высокого риска, а именно: Ia (90%, 18/20), Ib (93%, 28/30), Ic (70%, 21/30) и IIa (75%, 15/20). Сроки проведения профилактики статистически значимо раньше были в подгруппе Ia ($p < 0,0001$) в сравнении со всеми остальными подгруппами, что неудивительно, учитывая, что пациентки данной группы были родоразрешены ранее остальных. Повторный курс достоверно чаще отмечен в подгруппе Ib (20%, 6/30). Необходимо пояснить, что более 2 курсов не проводилось, следовательно, повторный курс в данной когорте следует рассматривать как спасительный (с англ. *rescue*), вероятно обусловленный сохраняющейся клинической картиной угрожающих преждевременных родов. Всего среди всех пациенток, участвовавших в исследовании, проведен 101 курс антенатальной профилактики (42,08%, 101/240), из них 31 курс у пациенток со своевременными родами (30,69%, 31/101), то есть треть курсов была выполнена нецелесообразно. В продолжении данного анализа, разница между сроком проведения профилактики РДС плода и сроком родоразрешения в подгруппе IIa (роды в 37⁰ - 37⁶ недель) составила $7,5 \pm 2,91$ недель, то есть 75% представительниц этой подгруппы получили курс необоснованно. Однако, справедливости ради стоит отметить, что в данном случае новорожденные родились доношенными, поэтому нет смысла оценивать сохранение эффекта от ГКС. Однако если более детально проанализировать подгруппу Ib стандартное отклонение 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. Доля случаев с интервалом между профилактикой РДС плода и родоразрешением более 5 недель в подгруппе Ib составила 21% (6/28). Полученные данные доказывают, что наличие у пациентки «угрожающих преждевременных родов» без объективных признаков, указывающих на их неминуемость, не должно рассматриваться как основное показание для проведения антенатальной профилактики РДС плода, в особенности 1 курса.

Следующим обязательным компонентом в менеджменте ПР является токолитическая терапия. Регресс маточной активности позволяет пролонгировать беременность в критической ситуации для перевода в перинатальный центр, а в штатной - для дообследования и выяснения причины, вызвавшей угрожающие ПР. Анализ особенностей токолитической терапии представлен в таблице 16.

Таблица 16

Особенности токолитической терапии у обследованных женщин

Сравнение различных токолитиков между подгруппами							
Препарат	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
1	2	3	4	5	6	7	8
Нифедипин*	9 (45,00%)	11 (36,67%)	14 (46,67%)	13 (65,00%)	19 (38,00%)	6 (6,67%)	<0,0001
Срок родов, ассоциированный с приемом Нифедипина**	27,9 ± 1,24	32,4 ± 1,19	34,7 ± 0,84	37,4 ± 0,19	×	×	×
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших Нифедипин*	5 (55,56%)	4 (36,36%)	9 (64,29%)	×	×	×	0,3751
Гексопреналин сульфат (ГС)*	6 (30,00%)	3 (10,00%)	6 (20,00%)	-	2 (4,00%)	3 (3,33%)	0,0005
Срок родов, ассоциированный с приемом ГС**	27,7 ± 2,03	30,9 ± 1,29	34,3 ± 0,12	-	×	×	×
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших ГС*	3 (50,00%)	2 (66,67%)	5 (83,33%)	×	×	×	0,4724
Атозибан*	7 (35,00%)	6 (20,00%)	2 (6,67%)	4 (20,00%)	4 (8,00%)	-	0,0314

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7	8
Срок родов, ассоциированный с приемом Атозибана**	27,8 ± 1,95	32,4 ± 1,32	35,5 ± 1,63	37,5 ± 0,09	×	×	×
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших Атозибан*	4 (57,14%)	5 (83,33%)	1 (50,00%)	×	×	×	0,5258
Индометацин*	5 (25,00%)	6 (20,00%)	4 (13,33%)	9 (45,00%)	16 (32,00%)	9 (10,00%)	0,0021
Срок родов, ассоциированный с приемом Индометацина**	27,7 ± 0,60	32,3 ± 0,93	34,9 ± 0,87	37,4 ± 0,20	×	×	×
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших Индометацина*	4 (80,00%)	2 (33,33%)	1 (25,00%)	×	×	×	0,1813
Сравнение различных токолитиков внутри подгрупп с ПР							
	Нифедипин	ГС	Атозибан	Индометацин	p-value		
1	2	3	4	5	6		
Иа подгруппа, n=20 (ВР ПР 22⁰ - 29⁶)							
Частота выбора препарата*	9 (45,00%)	6 (30,00%)	7 (35,00%)	5 (25,00%)	0,5814		
Срок родов, ассоциированный с приемом препарата**	27,9 ± 1,24	27,7 ± 2,03	27,8 ± 1,95	27,7 ± 0,60	0,9968		
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших препарат*	5 (55,56%)	3 (50,00%)	4 (57,14%)	4 (80,00%)	0,7607		
Иб подгруппа, n=30 (ВР ПР 30⁰ - 33⁶)							
Частота выбора препарата*	11 (36,67%)	3 (10,00%)	6 (20,00%)	4 (13,33%)	0,2438		

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6
Срок родов, ассоциированный с приемом препарата**	32,4 ± 1,19	30,9 ± 1,29	32,4 ± 1,32	32,3 ± 0,93	0,2826
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших препарат*	4 (36,36%)	2 (66,67%)	5 (83,33%)	2 (33,33%)	0,2136
Ic подгруппа, n=30 (BP ПР 34 ⁰ - 36 ⁶)					
Частота выбора препарата*	14 (46,67%)	6 (20,00%)	2 (6,67%)	4 (13,33%)	0,0010
Срок родов, ассоциированный с приемом препарата**	34,7 ± 0,84	34,3 ± 0,12	35,5 ± 1,63	34,9 ± 0,87	0,3106
ПР, вызванные началом родовой деятельности у пациенток, принимавших препарат*	9 (64,29%)	5 (83,33%)	1 (50,00%)	1 (25,00%)	0,3050
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест. **Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение; ANOVA. × - группа не участвовала в анализе/анализ не проводился.</p> <p>Межгрупповой анализ: - Нифедипин: Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p=0,0002; Ic - III – p <0,0001, Ia - III – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001; - Гексопреналин сульфат: Ia - III – p=0,0011, Ic - III – p=0,0075, Ia - Ib – p=0,0055, Ic - Ib – p=0,0473; - Атозибан: Ia - Ib – p=0,0095, - Индометацин: Ia - III – p=0,0021, Ib - III – p=0,0022, Ic - Ia – p=0,0205; - частота выбора препарата в подгруппе Ic: нифедипин - атозибан – p=0,0009; нифедипин - индометацин – p=0,0101.</p>				

В нашем исследовании Нифедипин был наиболее часто назначаемым токолитиком среди всех подгрупп, однако статистически значимая разница при внутригрупповом анализе получена для подгруппы Ic, в которой отмечается его более частый выбор по сравнению с Атозибаном (p=0,0009) и Индометацином (p=0,0101), данный факт более вероятно связан с отсутствием

показаний к применению вышеуказанных препаратов после 32-34 недель. Для данного препарата также характерна возрастающая частота приема с увеличением срока беременности, что также связано с более широким терапевтическим окном применения. Закономерно, что в подгруппах с ПР по сравнению с доношенным сроком частота применения токолиза достоверно выше ($p < 0,05$). Отдельным блоком оценивалось, как внутри подгрупп, так и при межгрупповом анализе назначение токолитической терапии пациенткам с интактными плодными оболочками. Данный критерий был выбран обоснованно, принимая во внимание наличие особенностей в течении двух клинических фенотипов сПР. Однако достоверных различий по всем пунктам найдено не было, что можно связать с крайне малой выборкой в подгруппах в рамках оценки вышеуказанного параметра. В целом, можно сделать заключение, что в нашем исследовании клинически значимых диссоциаций в особенностях токолитической терапии не обнаружено.

Течение гестационного континуума, начиная с самых ранних сроков закладывает фундамент и во многом определяет не только исход данной беременности, но и качество здоровья новорожденного в ближайшие и отдаленные периоды жизни. Дисбаланс микрофлоры влагалища, внутриматочная гематома, течение беременности на фоне угрозы прерывания являются неблагоприятным фоном и сопутствуют развитию осложнений. В этих ситуациях особое значение приобретает рациональная и обоснованная антибактериальная терапия, имеющая мультисистемное воздействие, усугубление дисбиотических нарушений, потенциальное влияние на плод, его иммунную систему и негативный вклад в перинатальное программирование. После 28 недели гестации длина шейки матки менее 15 мм позволяет прогнозировать преждевременные роды с высокой чувствительностью – 92%, однако низкая специфичность данного предиктора определяет его использование только в комбинации с другими факторами риска. Решение о проведении профилактики РДС плода, учитывая высокий процент пациенток, родивших в срок, должно быть основано на объективных критериях

угрожающих преждевременных родов.

3.2.3. Исходы родов, течение послеродового и раннего неонатального периодов

Ведущим показателем работы акушера-гинеколога является успешный исход беременности и родов, поэтому, данный анализ с целью улучшения исходов для повышения качества будущей жизни новорожденных представляет важный клинико-исследовательский аспект. В нашей работе мы провели детальный анализ 240 пациенток накануне, во время и после родоразрешения, данные которого представлены в таблице 17.

Таблица 17

Исходы родов у обследованных женщин

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Средний срок родоразрешения*#	27,6 ± 1,87	32,4 ± 1,03	34,7 ± 0,76	37,4 ± 0,18	39,1 ± 0,79	39,6 ± 0,82	0,0101
Самопроизвольные роды**	6 (30,00%)	13 (43,33%)	23 (76,66%)	15 (75,00%)	35 (70,00%)	71 (78,89%)	<0,0001
Экстренное кесарево сечение**	14 (70,00%)	17 (56,67%)	5 (16,67%)	5 (25,00%)	5 (10,00%)	10 (11,11%)	<0,0001
ПРПО**	11 (55,00%)	21 (70,00%)	17 (56,67%)	2 (11,11%)	4 (8,7%)	13 (14,44%)	<0,0001
Кровопотеря в родах, мл*	283,3 ± 68,31	265,4 ± 114,40	287,0 ± 93,20	260,0 ± 50,70	274,9 ± 59,90	269,7 ± 60,60	0,8691
Кровопотеря во время к/с, мл*	639,3 ± 88,10	629,4 ± 125,10	550,0 ± 95,74	610,0 ± 114,0	653,3 ± 89,6	650,0 ± 98,5	0,3187
Ручное обследование полости матки*	2 (10,00%)	2 (6,67%)	6 (20,00%)	1 (5,00%)	3 (6,00%)	1 (1,11%)	0,0139
Наличие воспалительных изменений в тканях плаценты*	7 (35,00%)	6 (20,00%)	3 (10,00%)	4 (20,00%)	2 (4,00%)	16 (17,78%)	0,0292

Продолжение таблицы 17

Примечания:	<p>*Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA.</p> <p># Сравнение НЕ проводилось между подгруппой IIb и группой III</p> <p>**Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>Межгрупповой анализ:</p> <p>- самопроизвольные роды: Ia - III – $p < 0,0001$, Ib - III – $p = 0,0005$, Ia - Ic – $p = 0,0015$, Ia - IIa – $p = 0,0104$, Ia - IIb – $p = 0,0031$, Ib - Ic – $p = 0,0169$, Ib - IIa – $p = 0,0419$, Ib - IIb – $p = 0,0330$;</p> <p>- экстренное кесарево сечение: Ia - III – $p < 0,0001$, Ia - IIb – $p < 0,0001$, Ia - IIa – $p = 0,0104$, Ia - Ic – $p = 0,0003$, Ib - Ic – $p = 0,0028$, Ib - IIa – $p = 0,0419$, Ib - IIb – $p < 0,0001$, Ib - III – $p < 0,0001$;</p> <p>- ПРПО: Ia - III – $p = 0,0003$, Ia - IIa – $p = 0,0057$, Ia - IIb – $p < 0,0001$, Ib - III – $p < 0,0001$, Ib - IIa – $p < 0,0001$, Ib - IIb – $p < 0,0001$, Ic - IIa – $p = 0,0010$, Ic - IIb – $p < 0,0001$, Ia - III – $p < 0,0001$;</p> <p>- ручное обследование стенок послеродовой матки: Ic - III – $p < 0,0001$;</p> <p>- наличие воспалительных изменений в тканях плаценты: Ia - IIb – $p = 0,0016$.</p>
--------------------	---

Логично, что у пациенток с ПР срок родоразрешения был меньше, поэтому анализ между ПР, ранними СР и СР – не проводился, однако при анализе среди пациенток, родоразрешенных в срок у пациенток высокого риска срок родов был достоверно меньше в сравнении с группой контроля ($p = 0,0101$). Доминирование самопроизвольных родов отмечалось по мере увеличения срока беременности и в подгруппе поздних преждевременных родов – Ic, статистически значимых различий с контролем получено не было ($p = 0,8016$), статистически значимая разница отмечалась только при анализе подгрупп Ia и Ib с остальными подгруппами, родоразрешенными в срок.

Развитие регулярной родовой деятельности, как показание для оперативного родоразрешения, постепенно уменьшается с увеличением срока гестации, что обусловлено повышением перинатальных успехов, полученные различия были достоверны при сравнении в подгруппах Ia и Ib ($p = 0,0445$, ОШ 4,33 95% ДИ 1,087 – 14,51) и Ia и Ic ($p = 0,0088$, ОШ 9,33 95% ДИ 1,652 – 46.41). Наиболее часто встречаемые показания для операции кесарева сечения представлены на рисунке 18.

Показания к операции кесарева сечения

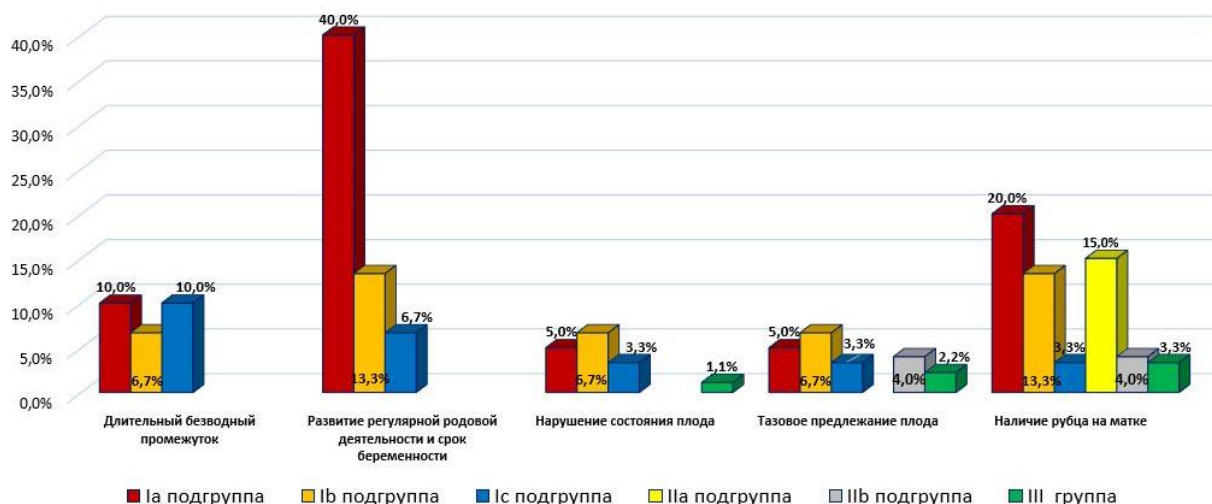


Рисунок 18. Показания к операции кесарева сечения.

Показатели периферической крови беременных накануне родоразрешения представлены на рисунке 19. Статистически значимые различия получены для воспалительных маркеров периферической крови: лейкоцитов, нейтрофилов, С-реактивного белка, лимфоцитов. Отмечается статистически значимое увеличение уровня лейкоцитов ($p=0,0346$) и относительного значения нейтрофилов ($p=0,0026$) в подгруппе Ia – экстремально и очень ранних преждевременных родов на фоне снижения абсолютного ($p=0,0077$) и относительного ($p=0,0077$) количества лимфоцитов. Относительное значение незрелых гранулоцитов ($p=0,2526$) и уровень фибриногена ($p=0,8097$) статистически значимо не различались. Уровень С-реактивного белка оценивался среди пациенток с ПР и был значимо выше в подгруппе Ia в сравнении с подгруппами Ib ($p=0,0297$) и Ic ($p=0,0014$).

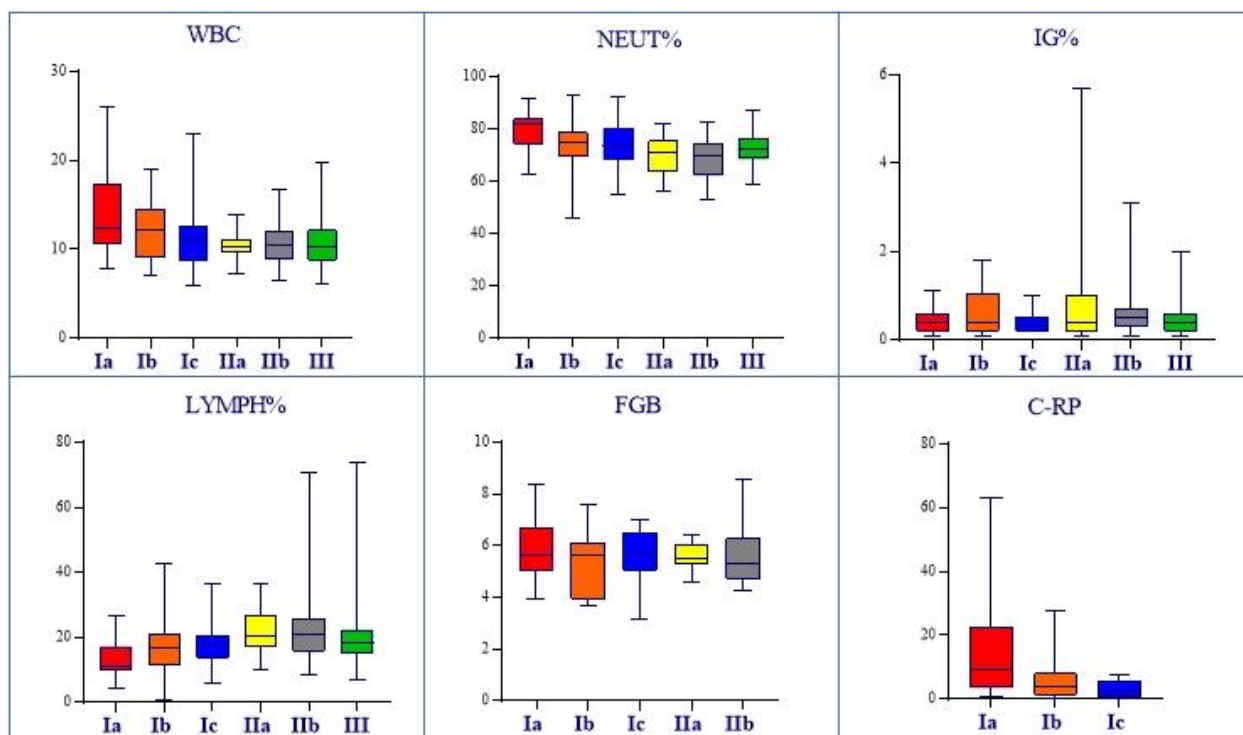


Рисунок 19. Показатели периферической крови беременных накануне родоразрешения.

WBC - лейкоциты, *NEUT%* - относительный уровень нейтрофилов, *IG%* - относительный уровень незрелых гранулоцитов, *LYMPH%* - относительный уровень лимфоцитов, *FGB* - фибриноген, *C-RP* – С-реактивный белок.

При оценке микробиологического статуса НГТ накануне родоразрешения, представленного в таблице 18, среди пациенток высокого риска отмечалось обеднение лактобациллами, представляющими нормальный биоценоз влагалища, по сравнению с группой контроля и подгруппой IIb, статистически значимые различия были найдены также между подгруппами высокого риска ПР, но со срочными родами (IIa и IIb). С наибольшей частотой семейство *Enterobacteriaceae* определяли в подгруппе IIa (65,00%), в то же время представители этого семейства статистически значимо чаще встречались в подгруппах с преждевременными родами по сравнению с группой контроля и подгруппой женщин высокого риска, родивших в срок. Стрептококк группы В и грибы рода *Candida* высеивались с частотой, не превышающей 5,6% без существенной разницы в сравниваемых группах.

Таблица 18

**Микробиологический контроль состояния микробиоты НГТ накануне
родоразрешения**

Показатели*	Іа	Іб	Іс	Іа	Іб	ІІІ	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Нормоценоз, доминирование бактерий рода <i>Lactobacillus</i>	9 (45,00%)	10 (13,33%)	7 (23,33%)	5 (25,00%)	29 (58,00%)	66 (73,33%)	<0,0001
Доминирование <i>E. coli & E. faecalis</i>	9 (45,00%)	14 (46,67%)	11 (36,67%)	13 (65,00%)	10 (20,00%)	5 (5,56%)	<0,0001
Доминирование грибов рода <i>Candida</i>	-	1 (3,33%)	-	-	2 (4,00%)	5 (5,56%)	0,8494
Доминирование <i>Streptococcus agalactiae</i>	1 (5,00%)	1 (3,33%)	1 (3,33%)	-	1 (2,00%)	5 (5,56%)	0,8815
Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест, точный критерий Фишера.</p> <p>Межгрупповой анализ:</p> <p>- нормоценоз, доминирование бактерий рода <i>Lactobacillus</i>: Іа - ІІІ – p=0,0184, Іб - ІІІ – p=0,0001, Іс - ІІІ – p <0,0001, Іа - ІІІ – p=0,0001, Іб - Іб – p=0,0397, Іс - Іб – p=0,0029, Іа - Іб – p=0,0173;</p> <p>- доминирование <i>E. coli & E. faecalis</i>: Іа - ІІІ – p <0,0001, Іб - ІІІ – p <0,0001, Іс - ІІІ – p <0,0001, Іа - ІІІ – p <0,0001, Іб - ІІІ – p=0,0111, Іа - Іб – p=0,0423, Іб - Іб – p=0,0221, Іа - Іб – p=0,0006.</p>						

Особенности течения послеродового периода отражены в таблице 19. Выписка пациенток с большим количеством койко-дней отмечалась в подгруппе Іа в сравнении с остальными подгруппами, за исключением подгруппы ранних преждевременных родов - Іб, в которой имела место высокая частота абдоминального родоразрешения. Антибактериальная терапия по показаниям была проведена в подгруппе экстремально и очень ранних преждевременных родов в 95% случаях (19/20), что статистически значимо выше в сравнении со всеми остальными подгруппами и контролем (p <0,01). В подгруппе Іс также статистически значимо чаще проводилась

антибактериальная терапия в сравнении с контролем ($p=0,0031$), однако все-таки значимо реже в сравнении с подгруппами Ia и Ib ($p < 0,0001$ и $p=0,0033$, соответственно). Продолжение анализа в данном направлении показало, что длительность курса антибактериальной терапии была достоверно выше в подгруппах Ia и Ib. Наиболее часто применялись защищенные пенициллины (амоксциллин + клавулановая кислота), а также комбинация цефалоспоринов с метронидазолом. Другие лекарственные средства использовали при наличии аллергической реакции к указанным препаратам, либо таргетно в зависимости от результатов антибиотикограммы. Сократительная активность послеродовой матки имела статистически значимые различия между подгруппами Ia и Ib ($p=0,0311$) и Ib и Ic ($p=0,0098$) в ширине полости матки в средней трети.

Таблица 19

Особенности течения послеродового периода у обследованных женщин

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Выписка, сут*	5 [4,2;6]	5 [4;5]	4 [3;5]	4 [3;5]	3,5 [3;5]	3,5 [3;5]	0,0010
Антибактериальная терапия**	19 (95,00%)	18 (60,00%)	6 (20,00%)	3 (15,00%)	8 (16,00%)	2 (2,22%)	<0,0001
Антибактериальная терапия, кол-во сут**	3 [3,4,8]	2,5 [0;3]	0 [0;0]	0 [0;0]	0 [0;0]	0 [0;0]	<0,0001
Оценка сократительной активности матки в пuerперии							
Ширина полости матки в верхней трети, см***	0,9 ± 0,40	0,7 ± 0,58	0,8 ± 0,32	0,6 ± 0,42	0,8 ± 0,29	0,8 ± 0,38	0,4409
Ширина полости матки в средней трети, см***	0,9 ± 0,39	0,6 ± 0,43	0,9 ± 0,38	0,7 ± 0,44	0,9 ± 0,31	0,8 ± 0,37	0,0028
Ширина полости матки в нижней трети, см***	1,6 ± 0,52	1,3 ± 0,63	1,7 ± 0,75	1,2 ± 0,69	1,5 ± 0,59	1,5 ± 0,93	0,3028

Продолжение таблицы 19

Примечания:	<p>*Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; ANOVA</p> <p>**Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>***Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение; ANOVA.</p> <p>Множественные сравнения:</p> <p>- выписка: Ia vs. Ic – p=0,0047, Ia vs. IIa – p=0,0157; Ia vs. IIb – p=0,0020, Ia vs. III – p=0,0020;</p> <p>- антибактериальная терапия: Ia vs. Ib – p=0,0075, Ia vs. Ic – p <0,0001, Ib vs. Ic – p=0,0033, Ia vs. IIa – p <0,0001, Ia vs. IIb – p <0,0001, Ia vs. III – p <0,0001, Ib vs. III – p <0,0001, Ic vs. III – p=0,0031, Ib vs. IIa – p=0,0029, Ib vs. IIb – p <0,0001;</p> <p>- антибактериальная терапия, кол-во сут: Ia vs. Ib – p=0,0068, Ia vs. Ic – p <0,0001, Ia vs. IIa – p <0,0001, Ia vs. IIb – p <0,0001, Ia vs. III – p <0,0001, Ib vs. Ic – p <0,0001, Ib vs. IIa – p=0,0001, Ib vs. IIb – p <0,0001, Ib vs. III – p <0,0001;</p> <p>- ширина полости матки в средней трети, см: Ia vs. Ib – p=0,0311, Ib vs. Ic – p=0,0098.</p>
--------------------	---

На 3-и сутки послеродового периода отмечается нормализация показателей белого ростка крови, уровень маркеров воспаления: лейкоцитов ($p=0,0662$), нейтрофилов ($p=0,5388$) и незрелых гранулоцитов ($p=0,1$) соответствует референсным значения, статистически значимых различий между группами не получено. Данные представлены на рисунке 20.

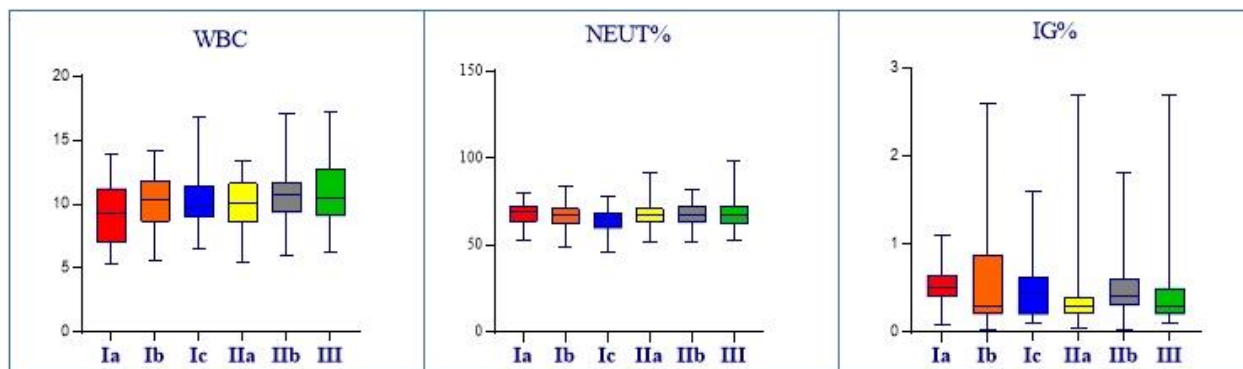


Рисунок 20. Показатели периферической крови на 3-и сутки пуэрперия.

WBC - лейкоциты, NEUT% - относительный уровень нейтрофилов, IG% - относительный уровень незрелых гранулоцитов.

Успех завершения беременности невозможно оценивать без анализа исходов для новорожденного. Выживаемость, смертность и заболеваемость, частота гнойно-септических осложнений (врожденная пневмония, инфекция,

специфичная для перинатального периода и т.п.) и респираторных нарушений - существенный пласт, «следовой эффект» особенностей течения беременности. На первом этапе нашего исследования в отношении исходов для новорожденных была оценена маршрутизация в различные неонатальные отделения центра; данные представлены в таблице 22. Логично, что в подгруппах с наступлением родов до 35 недель - 100% новорожденных были переведены в ОРИТН (в подгруппе Ia этот показатель 95%, так как один ребенок (5%) был переведен в реанимационный блок отделения хирургии новорожденных). В подгруппе поздних ПР данный процент составил 56,7; что статистически значимо ниже в сравнении с подгруппами Ia и Ib ($p < 0,0001$). При анализе пациенток высокого риска, родивших в срок до 38 недель (подгруппа IIa) новорожденные чаще переводились в реанимационное отделение в сравнении с подгруппой IIb (10% против 2%), однако разница не имела статистической значимости ($p=0,1944$). Разница в количестве пребывания ребенка в отделении интенсивной терапии видна уже между подгруппами Ia и Ib, однако статистически незначима ($p > 0,9999$). При оценке процента перевода младенцев в отделение патологии новорожденных, в расчет брались только случаи их перевода из отделения физиологии, поэтому все пациенты подгрупп Ia и Ib в анализе не участвовали. Статистически значимых различий между группами не получено. Увеличение процента поступления новорождённых в отделение физиологии растет соразмерно увеличению срока беременности на момент родов. Частота поступления пациентов в отделение хирургии новорожденных выше в подгруппе Ic по сравнению с группой контроля ($p=0,0037$, ОШ 17,80 95% ДИ 2,174 – 211,4). Общее количество койко-дней к моменту выписки было максимальным в подгруппах ПР Ia – Ic (сравнительные данные детально представлены в примечаниях в таблице 20).

Таблица 20

Маршрутизация новорожденных

Таблица 20

Показатели	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	p-value
	подгруппа n=20	подгруппа n=30	подгруппа n=30	подгруппа n=20	подгруппа n=50	группа n=90	
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
ОРИТН*	19 (95,00%)	30 (100,00%)	17 (56,67%)	2 (10,00%)	1 (2,00%)	-	<0,0001
ОРИТН, сут**	16,5 [10,30,8]	5 [3,8;12,3]	2 [0;6,3]	0 [0;0]	0 [0;0]	-	<0,0001¥
ОПН*	×	×	4 (13,33%)	2 (10,00%)	4 (8,00%)	5 (5,56%)	0,5682
ОФН*	-	-	4 (13,33%)	14 (70,00%)	40 (80,00%)	84 (93,33%)	<0,0001
ОХН*	1 (5,00%)	-	5 (16,67%)	2 (10,00%)	5 (10,00%)	1 (1,11%)	0,0311
Выписка, сут**	59 [45;79]	23,5 [18;34]	15,5 [11;20,5]	3 [2,3;10]	3,5 [3;5]	3 [3;4]	<0,0001¥
Примечания:	<p>ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, ОПН – отделение патологии новорожденных, ОФН – отделение физиологии новорожденных, ОХН – отделение хирургии новорожденных.</p> <p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>**Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; ANOVA.</p> <p>¥ Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; Kruskal-Wallis test.</p> <p>× - группа не участвовала в анализе.</p> <p>Множественные сравнения:</p> <p>- ОРИТН: Ia - Ic – p=0,0035, Ib - Ic – p <0,0001; Ic - IIa – p=0,0010, Ia - IIa – p <0,0001, Ib - IIa – p <0,0001;</p> <p>- ОРИТН, сут: Ia - Ic – p=0,0011, Ia - IIa – p <0,0001, Ia - IIb – p <0,0001, Ib - IIa – p <0,0001, Ib - IIb – p <0,0001, Ic - IIa – p=0,0168, Ic - IIb – p <0,0001;</p> <p>- ОФН: Ic - IIa – p <0,0001, Ic - IIb – p <0,0001, Ic - III – p <0,0001, IIa - III – p=0,0079;</p> <p>- ОХН: Ic - III – p=0,0037;</p> <p>- выписка: Ia - IIa – p <0,0001, Ia - IIb – p <0,0001, Ia - III – p <0,0001, Ib - IIa – p <0,0001, Ib - IIb – p <0,0001, Ib - III – p <0,0001, Ic - IIa – p=0,0004, Ic - IIb – p <0,0001, Ic - III – p <0,0001.</p>						

При изучении неонатальных исходов, представленных в таблице № 21, в первую очередь, были отмечены закономерные статистически значимые различия в массе новорожденных. Как и ожидалось, этот показатель был самым низким в группах высокого риска, родоразрешенных преждевременно.

Вследствие очевидных различий межгрупповой анализ не проводился, за исключением подгруппы IIb и группы III (своевременные роды у пациенток высокого риска и здорового контроля), однако, значимых различий получено не было ($p > 0,9999$). При оценке полового доминирования, различий также не получено. Оценка состояния новорожденных на первой минуте после рождения была статистически значимо ниже в подгруппе экстремально и очень ранних преждевременных родов в сравнении со всеми остальными подгруппами ($p < 0,0001$), что очевидно демонстрирует мультисистемную морфофункциональную незрелость младенцев, рожденных в данные гестационные сроки. Данная тенденция прослеживается при анализе показателей шкалы Апгар на пятой минуте, из общей динамики выбивается только подгруппа IIb (высокий риск при своевременных родах). Отмечается достоверно более низкие значения второй оценки в сравнении с подгруппой IIa и группой III, что может свидетельствовать о более низком адаптационном потенциале детей из данной подгруппы, несмотря на гестационный срок.

Таблица 21

Неонатальные исходы

Показатели	Ia подгруппа n=20	Ib подгруппа n=30	Ic подгруппа n=30	IIa подгруппа n=20	IIb подгруппа n=50	III группа n=90	p-value
	ВР ПР 22 ⁰ - 29 ⁶	ВР ПР 30 ⁰ - 33 ⁶	ВР ПР 34 ⁰ - 36 ⁶	ВР СР 37 ⁰ - 37 ⁶	ВР СР ≥ 38 ⁰	НР СР ≥ 38 ⁰	
Смертность*	2 (10,00%)	-	-	-	-	-	×
Девочка*	13 (65,00%)	9 (30,00%)	16 (53,33%)	12 (60,00%)	26 (52,00%)	44 (48,89%)	0,1761
Средняя масса тела при рождении**	1101 ± 270,4	1982 ± 336,3	2491 ± 345,0	2992 ± 304,9	3344 ± 395,7	3352 ± 478,7	<0,0001
Оценка по шкале Апгар, 1-я мин., балл**	6 [4;6]	7 [7;7]	8 [7;8]	8 [8;8]	8 [8;8]	8 [8;8]	<0,0001
Оценка по шкале Апгар, 5-я мин., балл**	7 [6;7]	8 [7;8]	8 [8;8]	9 [9;9]	8 [8;8]	9 [9;9]	<0,0001

Продолжение таблицы 21

Примечания:	<p>*Данные представлены как абсолютные значения и % соотношение; χ^2-тест.</p> <p>**Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; ANOVA.</p> <p>× - анализ не проводился.</p> <p>Межгруппой анализ:</p> <p>- Оценка по шкале Апгар, 1-я мин., балл: Ia - Ib, Ic, IIa, IIb, III – p <0,0001, Ib - IIb, III – p <0,0001, Ib - IIa – p=0,0002, Ic - IIb – p=0,0035, Ic - III – p=0,0016;</p> <p>- Оценка по шкале Апгар, 5-я мин., балл: Ia - Ib, Ic, IIa, IIb, III – p <0,0001, Ib - IIa, III – p <0,0001, Ic - IIa, III – p <0,0001, IIa - IIb – p <0,0001, IIb - III – p <0,0001;</p>
--------------------	---

Клиническая картина РДС была патогномонична только для недоношенных новорожденных с прямым вектором уменьшения распространенности по мере увеличения срока беременности на момент родоразрешения, при этом между подгруппами Ia и Ib статистически значимых различий не выявлено (p >0,9999). Заместительная терапия препаратами сурфактанта, как традиционным, так и менее инвазивным (LISA²³) методами, была значимо выше в подгруппе Ia и потребовалась всем новорожденным (12/12, 100%). Транзиторное тахипноэ встречалось только в подгруппах Ic (9/30, 30%) и IIa (2/20, 10%), что отражает сохраняющуюся незрелость легочной ткани при поздних преждевременных и ранних своевременных родах. Врожденная пневмония наиболее часто встречалась в подгруппах преждевременных родов (до 80%), несмотря на высокую частоту проводимой антибактериальной терапии матерям во время беременности. Типичные осложнения и последствия ПР, такие как развитие ДВС (диссеминированное внутрисосудистое свертывание), БЛД, ВЖК и НЭК характерно сопутствовали более выраженной гестационной незрелости, то есть пациентам из подгруппы Ia. Неонатальная заболеваемость представлена на рисунке 21.

²³ LISA – Less Invasive Surfactant Administration, интратрахеальная инстилляция сурфактанта с использованием тонкого катетера, введение аэрозольного или небулизированного сурфактанта и введение с помощью ларингеальной маски [199].



Рисунок 21. Неонатальная заболеваемость

Оценка периферической крови новорожденных представлена на рисунке 22. Статистически значимые различия получены для показателей «сдвига лейкоцитарной формулы влево», а именно палочкоядерных нейтрофилов, количество которых было выше в подгруппе Ib в сравнении с подгруппой IIb ($p=0,0133$).

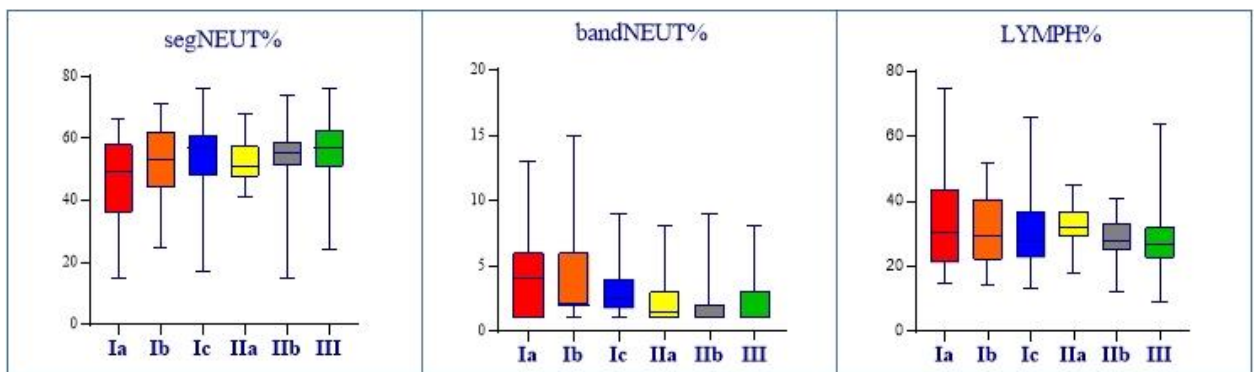


Рисунок 22. Показатели периферической крови новорожденных (1-е сутки жизни)

segNEUT% - относительный уровень сегментоядерных нейтрофилов, *bandNEUT%* - относительный уровень палочкоядерных нейтрофилов, *LYMPH%* - относительный уровень лимфоцитов.

Суммируя приведенные выше данные, а именно, течение родов, послеродового, раннего и позднего неонатального периодов, можно

заклучить, что наиболее частым методом родоразрешения при экстремально и очень ранних ПР было кесарево сечение в экстренном порядке в связи с развитием регулярной родовой деятельности в интересах плода. Накануне родоразрешения у пациенток с ПР отмечалась провоспалительная активация, что отражает более высокие уровни лейкоцитов, нейтрофилов и С-реактивного белка. Данный процесс, также подтверждается изменениями в тканях последа по типу лимфо-лейкоцитарной инфильтрации. Анализ микрофлоры НГТ демонстрирует рост типичных представителей микрофлоры кишечника из семейства *Enterococcaceae*. В послеродовом периоде пациенткам высокого риска, родившим преждевременно, требовались продолжение или старт антибактериальной терапии, преимущественно препаратами из группы защищенных пенициллинов. Осложнения неонатального периода, характерные для периода незрелости, закономерно более часто отмечались в подгруппах экстремально и очень ранних ПР. Важно отметить, что проведение антибактериальной терапии пациенткам высокого риска не способствовало снижению частоты внутриутробной пневмонии.

3.3. Характеристика влагалищной микробиоты пациенток высокого риска

Микробные сообщества НГТ формируют особую среду, которая при нормоценозе может благоприятно влиять на течение беременности, и напротив, при дисбиотических нарушениях способствовать не только деструкции местного иммунитета, но и восходящей инфекции с поражением матки и плода. Поэтому динамический микробиологический мониторинг состояния микробиоты влагалища и цервикального канала является одним из обязательных этапов ведения пациенток групп высокого риска [4, 10].

Представленная на рисунке 23 гистограмма, отражает качественный состав и частоту выделения различных видов и групп микроорганизмов в составе микробиоты влагалища пациенток высокого риска и контрольной

группы в зависимости от срока родоразрешения; ниже в примечаниях приведены данные с оценкой разницы между подгруппами. Для стратификации условий и исключения возможных конфаундеров проанализированы данные результатов культурального исследования отделяемого из заднего свода влагалища в сроках 28⁰ - 33⁶ недель. В подгруппе Ia, в которой родоразрешение могло быть проведено раньше указанных сроков, оценивали состав микробиоты непосредственно накануне родов.

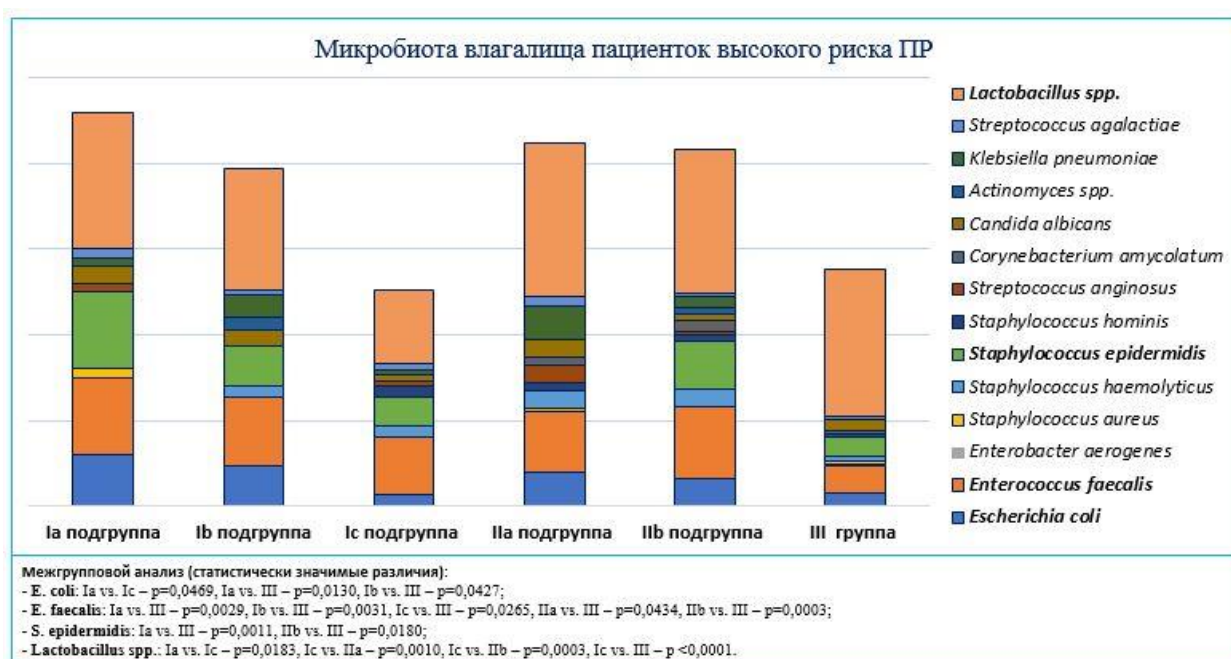


Рисунок 23. Микробиота влагалища пациенток высокого риска ПР.

Рост *Escherichia coli* (*E. coli*) и *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) встречался статистически значимо чаще у пациенток групп высокого риска, причем в большинстве случаев данные микроорганизмы были в ассоциации. Ряд микроорганизмов, таких как *Enterobacter aerogenes* (*E. aerogenes*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) и *Actinomyces* spp. представлены в составе микробиоты в единичных случаях в низкой концентрации. Не до конца понятно, как интерпретировать полученные различия в частоте обнаружения *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), являющегося комменсалом вагинального биотопа, который обнаружен у 45% (9/20) представительниц подгруппы Ia и лишь у 11% (10/90) в группе III. Более вероятными в данной

ситуации возможны два вывода, либо это статистическое совпадение, либо не до конца изученные свойства этой бактерии. Анализ частоты обнаружения представителей рода *Lactobacillus* spp. указывает на их обильное присутствие в вагинальных образцах всех подгрупп, за исключением подгруппы Ic - поздних преждевременных родов, где они встречаются менее чем у половины пациентов - 43% (13/30), что статистически значимо реже в сравнении с подгруппами Ia, Pa, Pb и III ($p < 0,05$). Скудный рост лактобацилл снижает колонизационную резистентность вагинального биотопа, способствуя пролиферации условно-патогенных микроорганизмов и повышает риск восходящей колонизации цервикального канала и нижнего полюса плодного пузыря, что может привести к ПРПО и/или «запуску» родовой деятельности.

Необходимо отметить, что данный этап исследования вагинальной микробиоты проводился в рамках рутинного микробиологического исследования без учета строгих анаэробов и видового типирования лактобацилл. Более подробный анализ с использованием методов культуромики представлен ниже.

3.4. Исследование амниотической и цервикавагинальной жидкостей пациенток высокого риска, прошедших амниоцентез

Развитие регулярной родовой деятельности, как проявление активации миометрия не может начаться без вовлечения в процесс внутриматочных структур в результате предшествующего многоступенчатого процесса. Поэтому для понимания фундаментальных процессов, происходящих внутриутробно на территории плода, согласно плану исследования, было решено провести многоступенчатый глубокий анализ состава амниотической жидкости, включая культуральные, клеточные, цитокиновые и постгеномные исследования.

Фундаментальный этап данной работы, представлял проспективный анализ, в который включены 46 беременных высокого риска преждевременных родов из общего числа пациенток, включенных в

исследование, подписавших добровольное информированное согласие на проведение трансабдоминального амниоцентеза под ультразвуковой ассистенцией. 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, а именно: цервикальвагинальной жидкости, отделяемого из заднего свода влагалища, кишечной микрофлоры и плазмы крови. Таким образом, учитывая, что деление пациентов на группы проводилось уже после родоразрешения, отсутствовал субъективный вклад авторов при делении групп. Схема исследования представлена на рисунке 24.

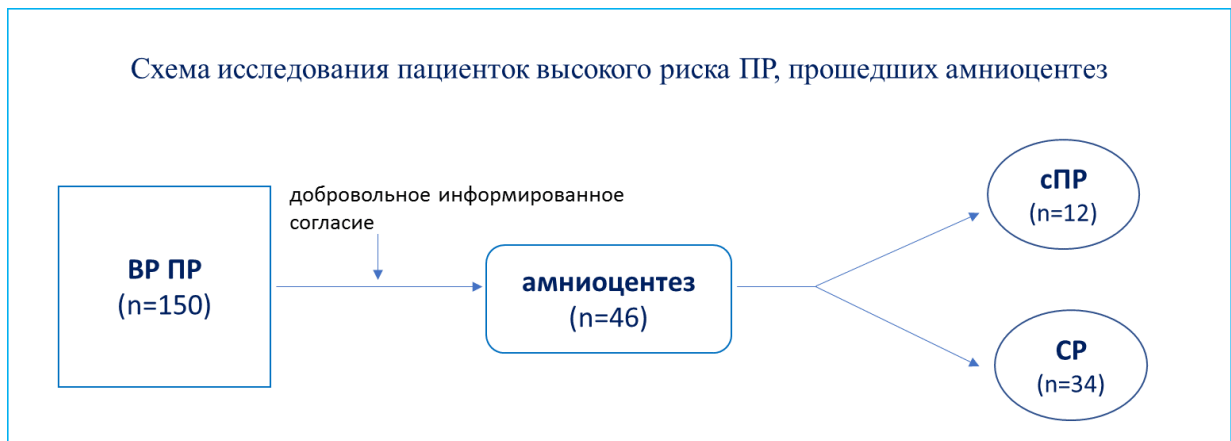


Рисунок 24. Схема исследования пациенток высокого риска ПР, прошедших амниоцентез.

3.4.1. Клинико-anamнестическая характеристика и особенности течения беременности, родов, пуэрперия и неонатального периода

Детальный анализ пациенток высокого риска ПР на большой когорте проведен ранее в главе 3.2. Изучение клинико-anamнестических факторов, а также течения беременности и родов данных выделенных групп имеет вспомогательное значение, для более верной интерпретации полученных в

ходе фундаментального исследования данных. Совокупная характеристика представлена в таблице 22.

Таблица 22

**Клиническая характеристика пациенток, участвовавших в
исследовании амниотической жидкости**

Показатель	I группа Преждевременные роды n=12	II группа Своевременные роды n=34	p-value
Клинико-anamnestическая характеристика:			
Возраст, лет*	30,58 ± 6,2	29,91 ± 3,7	0,6539
ИМТ, кг/м*2*	24,50 ± 3,8	24,88 ± 4,1	0,7807
Отягощенный соматический анамнез ^{1**}	4 (33,33%)	6 (17,65%)	0,4157
Отягощенный гинекологический анамнез**	5 (41,67%)	8 (23,53%)	0,2759
Первобеременные**	4 (33,33%)	12 (35,29%)	>0,9999
Среднее количество родов#	1 [1,75; 3]	0,5 [1; 2]	0,3416
ПР в анамнезе**	4 (33,33%)	8 (23,53%)	0,7034
Течение беременности, родов и пуэрперия:			
Угрожающие ПР**	12 (100%)	34 (100%)	-
Нарушения микрофлоры влагалища**	7 (58,33%)	22 (64,71%)	0,7375
Коррекция ИЦН**	10 (83,33%)	22 (64,71%)	0,2938
Длина шейки матки на момент проведения исследования*	23,00 ± 8,4	22,42 ± 7,6	0,8285
Срок родоразрешения, нед*	35,05 ± 1,5	38,60 ± 0,9	<0,0001
Абдоминальное оперативное родоразрешение**	4 (33,33%)	9 (26,47%)	0,7165
Наличие воспалительных изменений в тканях плаценты**	4 (33,33%)	1 (2,94%)	0,0420
Выписка, сут*	3,83 ± 0,8	3,88 ± 1,1	0,8960
Неонатальные исходы:			
Средняя масса тела при рождении*	2524 ± 427,7	3217 ± 460,7	<0,0001
Оценка по шкале Апгар, 1-я мин., балл#	7,5 [7; 8]	8 [8; 8]	0,0052

Продолжение таблицы 22

Примечания:	<p>* Данные представлены как среднее \pm стандартное отклонение, t-test;</p> <p>** Данные представлены как абсолютные значения и % соотношения; точный тест Фишера;</p> <p># Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; U-критерий.</p> <p>1 – показатель рассчитывался как совокупность нескольких нозологий (двух и более);</p>
--------------------	---

Полученные клиничко-анамнестические данные подтверждают однородность сформированной когорты беременных высокого риска в обеих группах, а также корректность выбранных факторов риска при рекрутировании пациенток в исследование. Статистически значимые различия, кроме очевидных (таких как: срок родоразрешения, масса плода и оценка по шкале Апгар), были получены при гистологическом исследовании последа. Отмечалась большая распространенность воспалительных изменений в виде лейкоцитарной инфильтрации и хориоамнионита.

3.4.2. Анализ маркеров воспаления и зрелости легочной ткани плода в амниотической жидкости

С целью оценки потенциальных предикторов преждевременных родов проведен детальный сравнительный анализ лабораторного состава АЖ. Использование гематологических анализаторов позволяет получать данные сразу после забора пробы. Результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23

Клеточный и молекулярный состав амниотической жидкости

Показатель	I группа Преждевременные роды n=12	II группа Своевременные роды n=34	p-value
1	2	3	4
Ламеллярные тельца (ЛТ/ LBC), $\times 10^9/\text{л}^*$	23,83 \pm 15,8	15,00 \pm 11,03	0,0456
Лейкоциты (WBC), $\times 10^9/\text{л}^*$	0,36 \pm 0,19	0,43 \pm 0,18	0,2349
Нейтрофилы (NEUT), %*	79,44 \pm 9,71	69,70 \pm 15,48	0,0480

Продолжение таблицы 23

1	2	3	4
Моноциты (MONO), %**	3,6 [1,8;6,7]	3,7 [2,2;10,6]	0,7064
Эозинофилы (EO), %*	3,46 ± 2,49	3,43 ± 3,3	0,9759
Базофилы (BASO), %**	2,8 [0,6;9,8]	3 [0,2;10,7]	0,9654
Глюкоза (GLU), мг/л*	1,42 ± 0,68	1,45 ± 0,62	0,8759
Общий белок (TOTPROT), мг/дл*	2067 ± 497,9	2881 ± 1355	0,0495
Примечания:	* Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-test; ** Данные представлены медианой и перцентилями Me [25%;75%]; U-критерий.		

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 25). Полученные данные показали, что при уровне нейтрофилов более 83,8% с чувствительностью 82,4% и специфичностью 41,7% более вероятно преждевременное наступление родов. Площадь под кривой (AUC) составила 0,69 [95% ДИ 0,53 - 0,86; $p=0,047$].

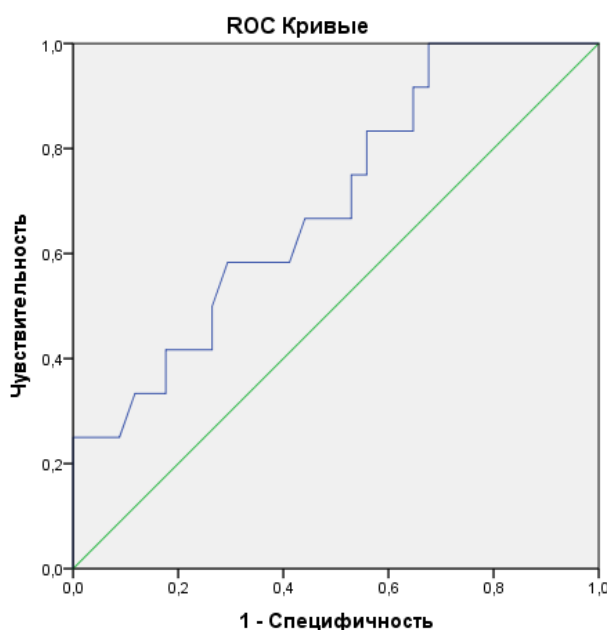


Рисунок 25. ROC-кривая прогнозирования преждевременных родов в зависимости от количества нейтрофилов в АЖ.

Для оценки влияния воспалительного процесса на зрелость легочной ткани плода, проводился корреляционный анализ, между уровнем нейтрофилов и количеством ламеллярных телец: отмечалась положительная взаимосвязь ($r=0,33$, $p=0,046$), что может свидетельствовать о потенцирующем эффекте воспаления на выработку сурфактанта пневмоцитами II порядка, что согласуется с данными мировой литературы [162]. Рисунок 26 отражает зависимость между уровнем нейтрофилов и количеством ЛТ.

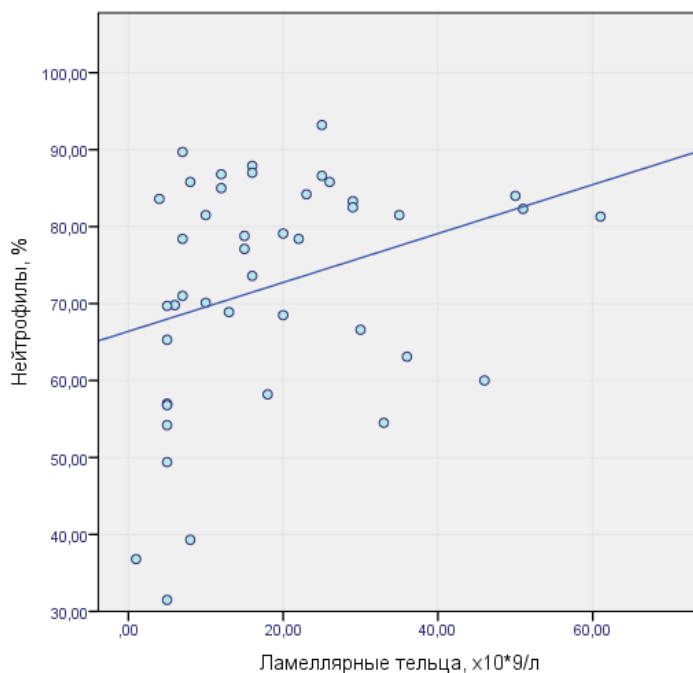


Рисунок 26. Диаграмма рассеяния, отражающая взаимосвязь между уровнем нейтрофилов и количеством ЛТ.

С целью поиска возможных неинвазивных предикторов зрелости легочной ткани плода, нами проведен корреляционный анализ данных количества ЛТ и результатов ультразвуковой фето- и доплерометрии. Статистически значимые показатели представлены в таблице 24. Другие анализируемые параметры визуальных методов диагностики анатомии и функционального состояния плода, такие как: предполагаемая масса плода (ПМП), включая процентильную шкалу, длина плечевой кости, толщина плаценты, ИАЖ, доплерометрические параметры оценки кровотока в маточном и плодовом русле, не показали статистически значимых ассоциаций.

Таблица 24

**Корреляционный анализ количества ламеллярных телец и
неинвазивных предикторов зрелости легочной ткани плода**

Показатель	Количество ЛТ	
	r*	p
Размеры мозжечка, мм	0,38	0,04
Длина бедра, мм	0,32	0,04
Индекс резистентности в СМА плода, сек	-0,32	0,04
Примечание:	* анализ проводился с использованием линейного коэффициента корреляции r-Пирсона.	

Проведенный анализ корреляционных связей одноименных показателей амниотической жидкости и периферической крови матери не выявил статистически значимых ассоциаций. Анализировались количество лейкоцитов ($r=0,26$, $p=0,09$), нейтрофилов ($r= -0,27$, $p=0,07$) и уровень глюкозы ($r=0,27$, $p=0,07$). В то же время, при применении коэффициента корреляции Пирсона отмечена зависимость между уровнем лейкоцитов в АЖ матери и периферической крови новорожденного в группе преждевременных родов ($r=0,63$; $p=0,03$). При анализе своевременных родов таких статистически значимых корреляций не выявлено. Данные представлены в таблице 25.

Таблица 25

**Характеристика корреляционных связей между одноименными
параметрами АЖ и периферической крови новорожденного**

Показатель	I группа Преждевременные роды n=12		II группа Своевременные роды n=34	
	r*	p	r*	p
Лейкоциты (WBC), $10^9/L$	0,63	0,03	0,03	0,89
Нейтрофилы (NEUT), $10^9/L$	0,24	0,45	0,02	0,92
Лимфоциты (LYMPH), $10^9/L$	- 0,04	0,9	- 0,14	0,43
Примечания:	* анализ проводился с использованием линейного коэффициента корреляции r-Пирсона.			

Для лабораторной оценки течения воспалительного процесса, а именно взаимодействия между лейкоцитами (WBC), нейтрофилами (NEUT) и лимфоцитами (LYMPH) проведен множественный корреляционный анализ. Статистически значимые различия получены для пары NEUT-LYMPH, результаты отражают значимую сильную отрицательную связь ($r = -0,549$, $p < 0,0001$). Данные представлены в виде матрицы рассеивания на рисунке 27.

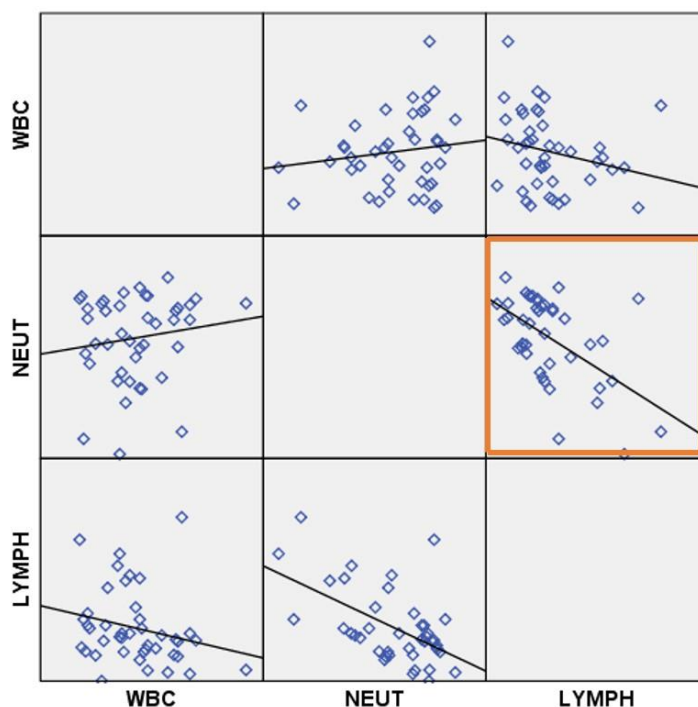


Рисунок 27. Матрица рассеивания, отражающая взаимосвязь между воспалительными маркерами АЖ.

Интерлейкин-6 является растворимым медиатором с плеiotропным действием. Он обнаруживается в различных биологических жидкостях и тканях, уровень экспрессии данного цитокина позволяет прогнозировать вероятность развития и течения различных патологических процессов, в том числе преждевременных родов, как результата ВАВ. Однако следует отметить, что, будучи высоко чувствительным маркером, он является низкоспецифичным. В нашем исследовании мы проводили оценку уровня ИЛ-6 в амниотической жидкости и плазме периферической крови матери методом иммуноферментного анализа (рисунок 28). Медиана и интерквартильный размах, как в плазме крови, так и амниотической жидкости были выше в ПР,

однако различия не были статистически значимыми ($p= 0,2315$ и $p= 0,6767$, соответственно).

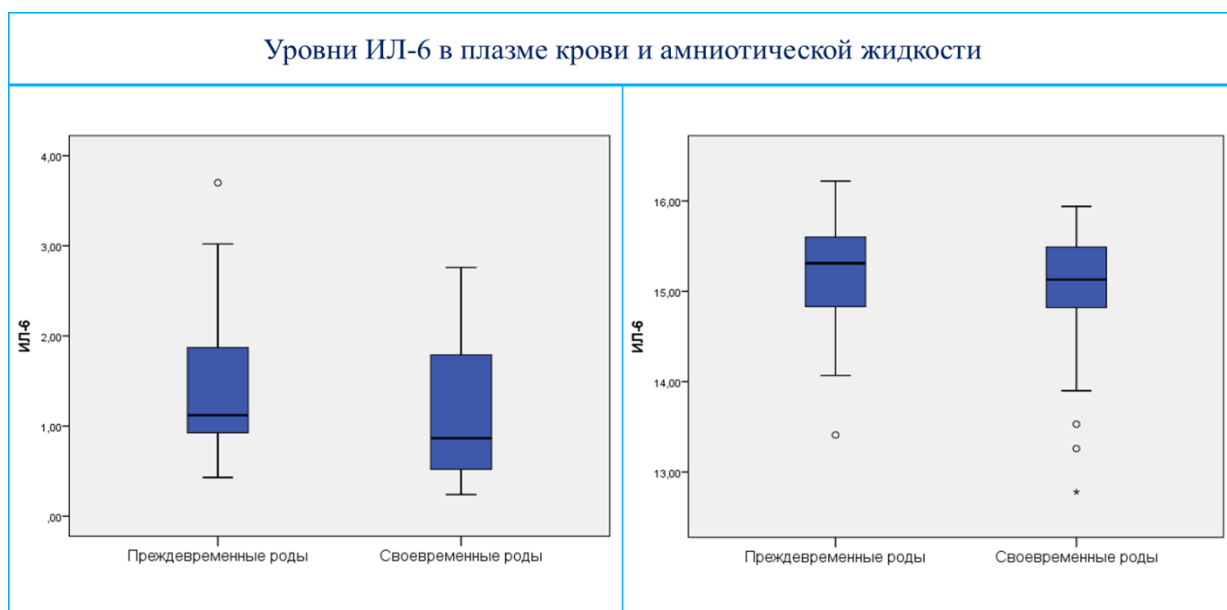


Рисунок 28. Уровни ИЛ-6 в плазме крови (слева) и амниотической жидкости (справа).

С целью оценки зависимости уровня ИЛ-6 между АЖ и плазмой крови проведен корреляционный анализ, который показал статистически значимую сильную положительную связь в группе женщин с преждевременными родами ($r=0,6$, $p=0,0378$), данные представлены на рисунке 29.

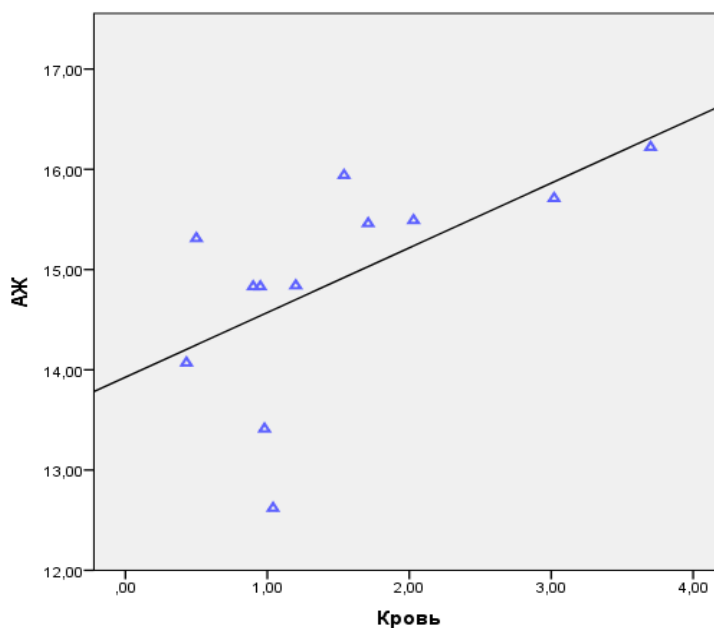


Рисунок 29. Диаграмма рассеяния, отражающая взаимосвязь между уровнем ИЛ-6 в плазме крови и амниотической жидкости.

При попытке классифицировать данные в зависимости от уровня ИЛ-6 (АЖ и плазма крови) с помощью иерархического анализа было получено пять кластеров, однако четкого разделения в зависимости от срока родоразрешения не прослеживалось. Тем не менее четвертый кластер совместил в себе наибольшие значения уровня ИЛ-6 в крови и АЖ у пациентов с ПР. Данные представлены в виде дендрограммы с использованием метода Варда на рисунке 30.

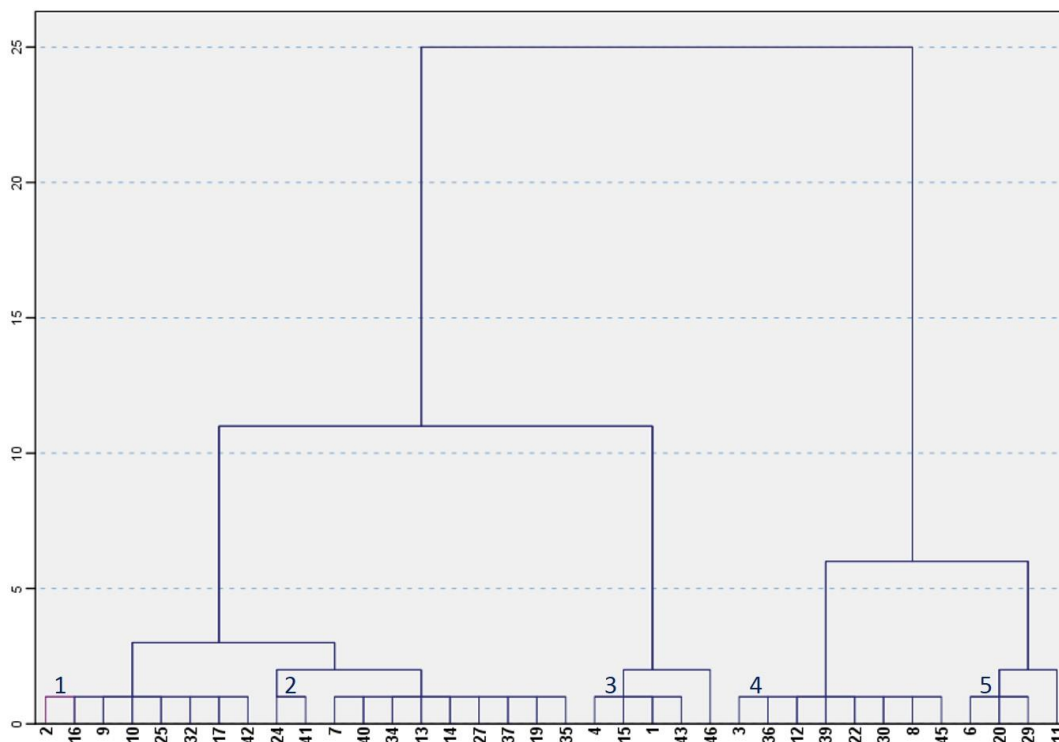


Рисунок 30. Иерархическая дендрограмма с использованием метода Варда.

Получено пять кластеров на первом шаге (пронумерованы), для четвертого характерны наибольшие средние значения уровня ИЛ-6 в плазме крови и АЖ (3,05 и 15,6, соответственно) и наибольшее количество пациентов из группы ПР.

Полученные данные подтверждают эффективность традиционных методов, но также обосновывают необходимость дальнейшего поиска, в том числе неинвазивных предикторов ПР, вследствие чего нами был продолжен анализ на метагеномном уровне (глава 3.4.3).

3.4.3. Метаболомный анализ амниотической и цервикагинальной жидкостей

Омиксные технологии в медицине относятся к лабораторным инструментам нового поколения, которые открывают «неизвестные страницы» молекулярной природы различных процессов, происходящих в организме человека, а также вносят необходимую детализацию в понимание многих патологических состояний.

На рисунке 31 приведена диаграмма, демонстрирующая отличие содержания четырех органических кислот в амниотической жидкости между сравниваемыми группами. Наибольшая концентрация наблюдается для *N*-ацетиласпарагиновой кислоты (NAA), являющейся производным аспарагиновой кислоты. NAA главным образом присутствует в головном мозге и в меньшей степени представлена в периферических органах. Ее роль в патофизиологии изучена недостаточно. Однако, кроме регуляции различного спектра процессов в головном мозге, ряд исследований доказывает, что повышенный уровень NAA влияет на воспаление, а также повышает сократительную способность клеток гладкой мускулатуры [163]. Кроме того, исследования показывают, что повышение концентрации NAA приводит к окислительному стрессу, включая повышение уровня оксида азота с последующим снижением потенциала антиоксидантов [164].

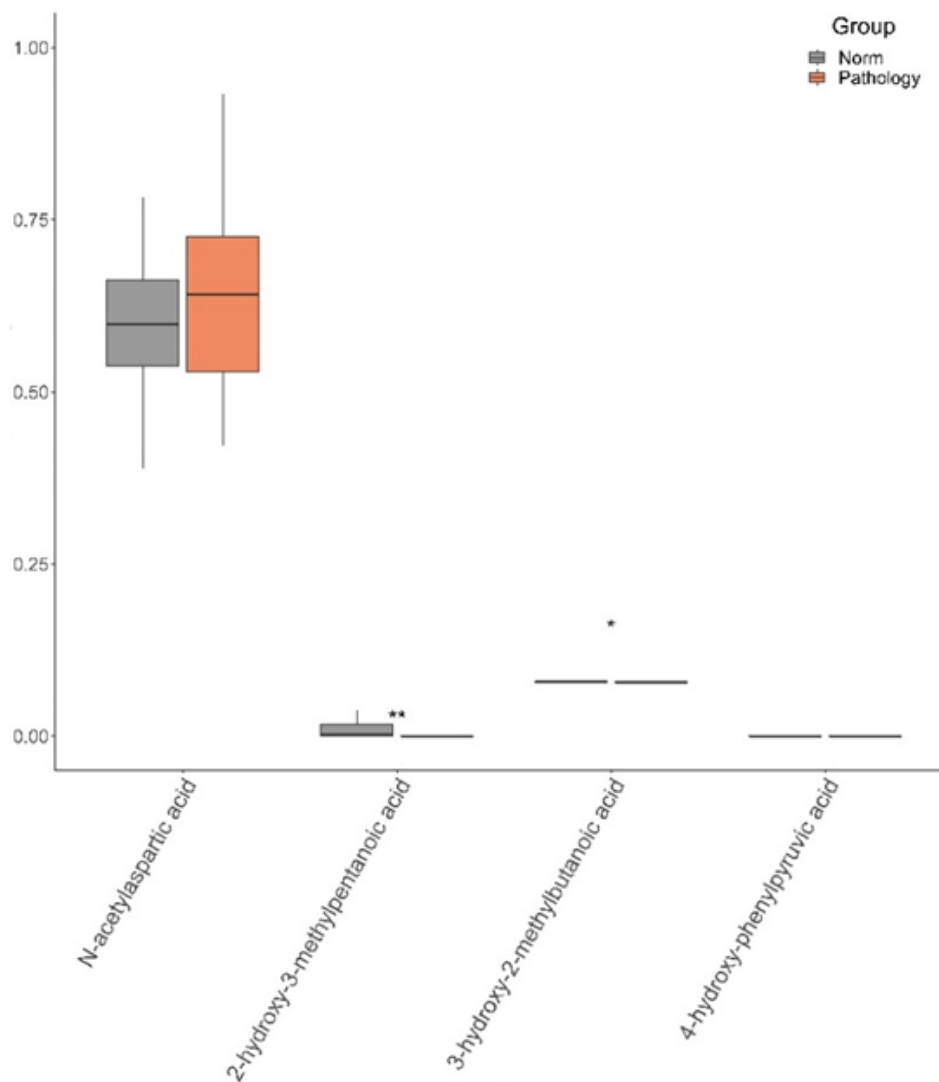


Рисунок 31. Бокс-диаграмма концентрации органических кислот в амниотической жидкости в группах своевременных (на рисунке *norm*) и преждевременных родов (на рисунке *pathology*).

Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния. * - p -value $\leq 0,05$; ** - p -value $\leq 0,01$.

Статистически значимые различия получены для 2-гидрокси-3-метилпентановой кислоты и 3-гидрокси-2-метилбутановой кислоты, которые участвуют в метаболизме изолейцина²⁴. 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота в большей концентрации отмечена в группе СР, что неудивительно, так как, будучи метаболитом изолейцина, она проявляет

²⁴ The Human Metabolome Database (HMDB), <https://hmdb.ca>.

противовоспалительную активность наряду с такими аминокислотами с разветвленной цепью как валин и лецитин за счет снижения экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы и медиаторов воспаления ИЛ-6 и циклооксигеназы-2 [165].

Были построены четыре модели логистической регрессии на основе уровней от 2 до 4 органических кислот в АЖ с максимальным значением AUC. ROC-кривые данных моделей представлены на рисунке 32.

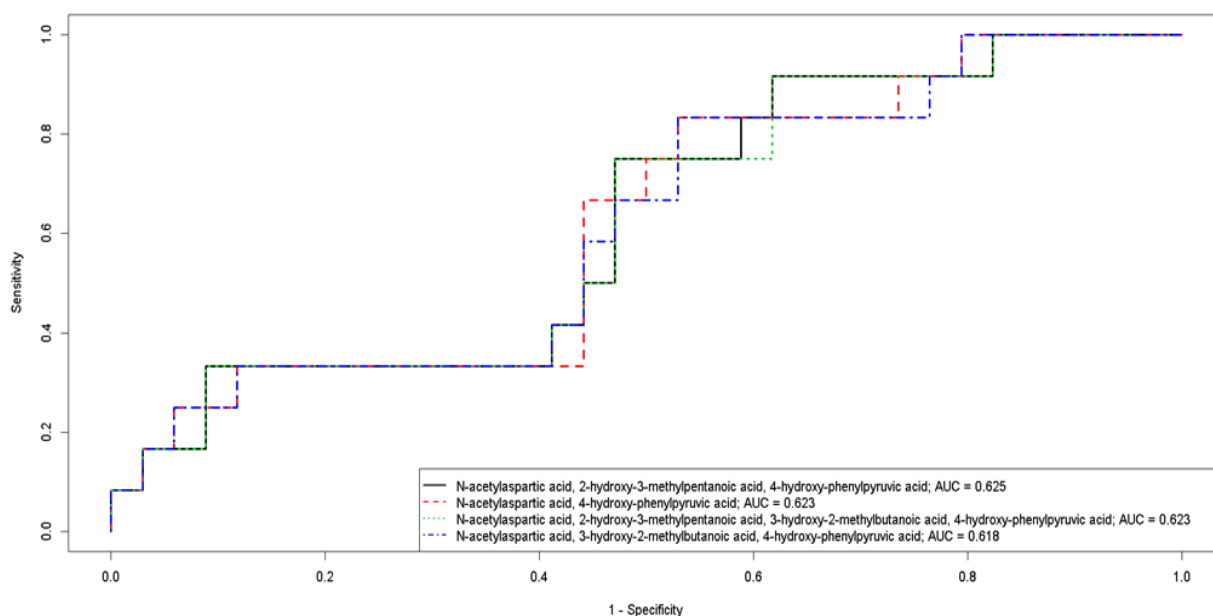


Рисунок 32. ROC-кривые моделей логистической регрессии, разработанных на основании концентраций органических кислот в амниотической жидкости.

Полученные профили метаболомных сигнатур в различных вариациях демонстрируют их применимость в качестве прогностических критериев. Во всех случаях площадь под ROC-кривой была больше 0,6. Характеристика моделей логистической регрессии, построенных на основании концентраций органических кислот в АЖ отображена в таблице 26. В результате была выбрана следующая модель логистической регрессии с максимальным значением AUC и чувствительностью 92% при 38% специфичности:

$$y = \frac{e^{b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3}}{1 + e^{b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3}}, \quad \text{где} \quad (1)$$

x_1, x_2, x_3 – концентрации N-ацетиласпарагиновой кислоты, 2-гидрокси-3-метилпентановой кислоты, 4-гидроксибензилпировиноградной кислоты, соответственно;

$$b_0 = -2.131;$$

$$b_1 = 1.943;$$

$$b_2 = 1.401; b_3 = -0.032$$

Таблица 26

Характеристики моделей логистической регрессии, построенных с использованием концентраций различных органических кислот в АЖ

Органические кислоты, на основании которых построена модель логистической регрессии	Пороговое значение логистической регрессии	Чувствительность	Специфичность
<i>N-ацетиласпарагиновая кислота, 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная кислота</i>	0.21	0.92	0.38
<i>N-ацетиласпарагиновая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная</i>	0.21	0.83	0.47
<i>N-ацетиласпарагиновая кислота, 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота, 3-гидрокси-2-метилбутановая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная кислота</i>	0.21	0.92	0.38
<i>N-ацетиласпарагиновая кислота, 3-гидрокси-2-метилбутановая кислота, 4-гидроксибензилпировиноградная кислота</i>	0.22	0.83	0.47

НГТ женщин характеризуется не только присутствием разнообразной богатой микробиоты, но и сложным иерархическим иммунологическим микроокружением. Развитые защитные механизмы позволяют надежно противостоять интервенции патогенной микрофлоры. **Цервикагинальная жидкость** является первичным адаптивным звеном иммунного ответа, которая способна препятствовать микробной адгезии. ЦВЖ состоит из секрета желез вульвы, бартолиновых, сальных, потовых, а также трансудата плазмы,

микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, секрета вагинальных иммунных клеток [166]. Техническая простота забора проб, отсутствие рисков и возможность включения большого количества пациентов в исследование делает ее перспективным источником для проведения исследований. Результаты анализа профиля органических кислот в ЦВЖ представлены на рисунке 33.

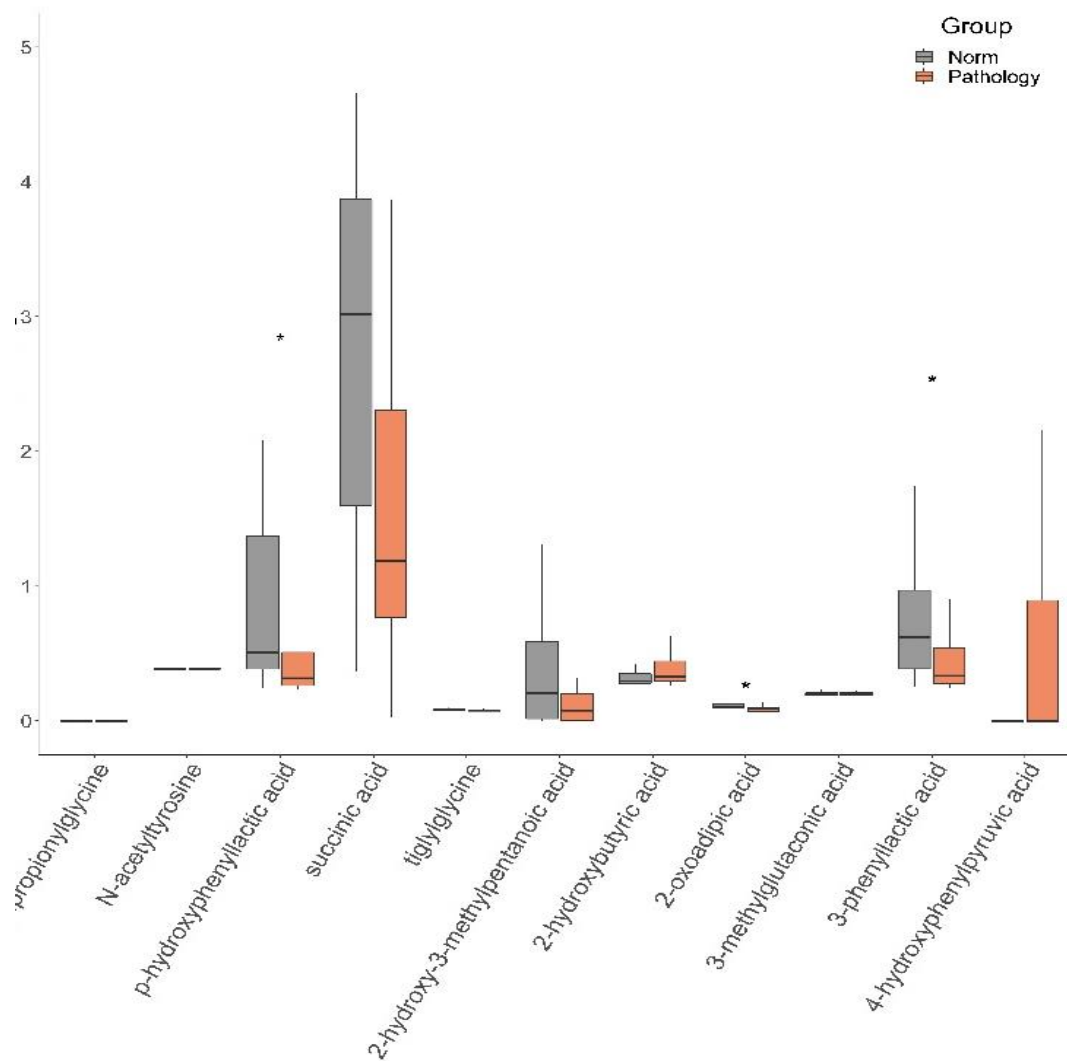


Рисунок 33. Бокс-диаграмма концентрации органических кислот в ЦВЖ в группах своевременных (на рисунке *norm*) и преждевременных родов (на рисунке *pathology*).

Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса — медиана; концы усов — разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния. * - $p\text{-value} \leq 0,05$; ** - $p\text{-value} \leq 0,01$.

В наибольшем количестве была детектирована *сукциновая* или *янтарная кислота*, которая участвует в цикле трикарбоновых кислот. В последнее время ее рассматривают как метаболический сигнал, участвующий в воспалении [167]. 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-гидроксибензилтиривиноградная кислота* в группе женщин со своевременными родами 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*. Статистически значимые различия получены для *n-гидроксибензиллактата* и *3-фенилмолочной кислоты*. Полученные различия относительно *2-оксоадипиновой кислоты* трактовать сложно, так как данный метаболит довольно скудно освещен в научной литературе, большая часть исследований посвящена ее роли в заболеваниях, связанных с нарушениями обмена. Что касается производных молочной кислоты, то они в большей концентрации встречались у пациенток из группы СР, что несомненно отражает и подтверждается (данный аспект будет освещен в следующей главе 3.4.4) большим доминированием представителей семейства *Lactobacillus*. Кроме всего прочего *n-гидроксибензиллактат* является естественным антиоксидантом, так как уменьшает выработку активных форм кислорода как в митохондриях, так и нейтрофилах²⁵.

Были построены четыре модели логистической регрессии на основе уровней четырех органических кислот в ЦВЖ с максимальным значением AUC. ROC-кривые данных моделей представлены на рисунке 34. Представленные ROC-кривые характеризуются высоким значением величины AUC - не менее 0,8. Характеристики вышеуказанных моделей представлены в таблице 27.

²⁵ The Human Metabolome Database (HMDB), <https://hmdb.ca>.

В результате была выбрана следующая модель логистической регрессии с максимальным значением AUC и чувствительностью 92% при 82% специфичности:

$$y = \frac{e^{b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 + b_4 \cdot x_4}}{1 + e^{b_0 + b_1 \cdot x_1 + b_2 \cdot x_2 + b_3 \cdot x_3 + b_4 \cdot x_4}}, \quad \text{где} \quad (1)$$

x_1, x_2, x_3, x_4 – концентрации N-ацетил тирозина, 2-оксоадипиновой кислоты, 3-метилглутаконовой кислоты и 4-гидроксифенилпировиноградной кислоты, соответственно;

$$b_0 = -137.975;$$

$$b_1 = 368.056;$$

$$b_2 = 2.700;$$

$$b_3 = -67.923;$$

$$b_4 = -0.283$$

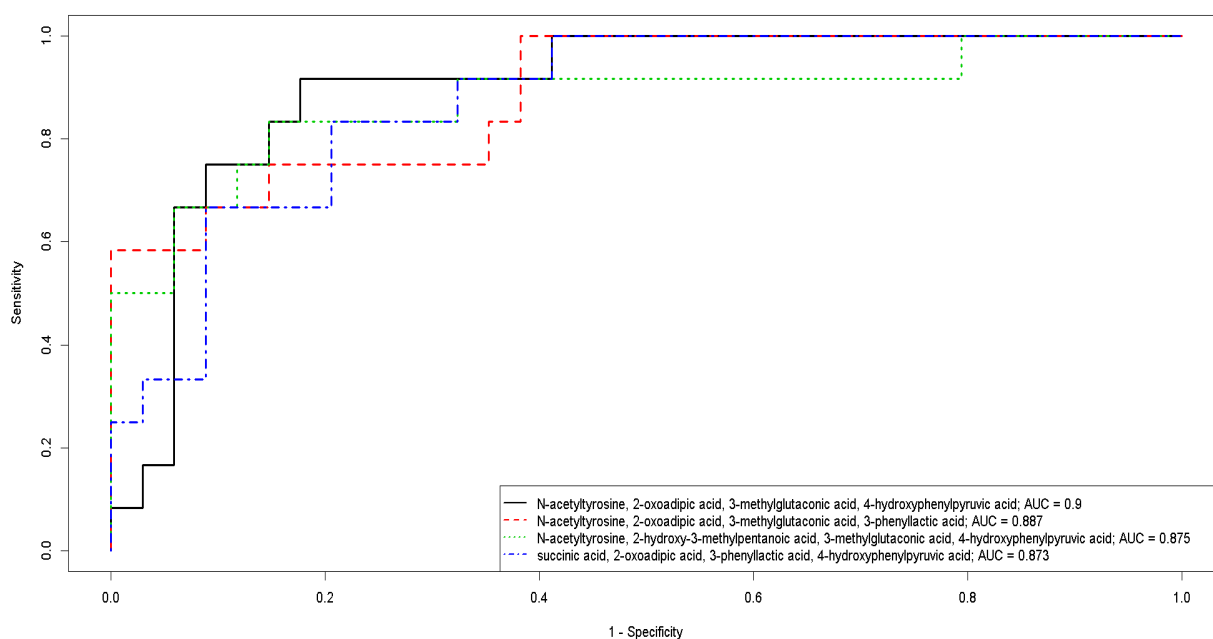


Рисунок 34. ROC-кривые моделей логистической регрессии, разработанных на основании концентраций органических кислот в ЦВЖ.

Таблица 27

Характеристики моделей логистической регрессии, построенных с использованием концентраций различных органических кислот в ЦВЖ

Органические кислоты, на основании которых построена модель логистической регрессии	Пороговое значение логистической регрессии	Чувствительность	Специфичность
<i>N-ацетил тирозин, 2-оксоадипиновая кислота, 3-метилглутаконовая кислота, 4-гидроксифенилпировиноградная кислота</i>	0.25	0.92	0.82
<i>N-ацетил тирозин, 2-оксоадипиновая кислота, 3-метилглутаконовая кислота, 3-фенилмолочная кислота</i>	0.11	1.00	0.62
<i>N-ацетил тирозин, 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота, 3-метилглутаконовая кислота, 4-гидроксифенилпировиноградная кислота</i>	0.32	0.83	0.85
<i>Янтарная кислота, 2-оксоадипиновая кислота, 3-фенилмолочная кислота, 4-гидроксифенилпировиноградная кислота</i>	0.37	0.83	0.79

3.4.4. Исследование микробиоты влагалища при проведении амниоцентеза у пациенток высокого риска преждевременных родов

До начала описания композиционного состава микробиоты влагалища, следует отметить, что микробиологическое исследование амниотической жидкости методом культуромикки, предполагающим использование широкого спектра селективных и неселективных питательных сред не выявило роста микроорганизмов, все образцы были стерильным. Молекулярно-генетическое детектирование патогенов не проводилось.

Анализ микробиоты имеет многоступенчатую структуру, от более доступных и простых методов переходят к более сложным, многоэтапным и трудоемким. В нашем исследовании стартовой точкой оценки микробиоты была микроскопия отделяемого из влагалища, окрашенного по Граму. При

анализе лейкоцитарной насыщенности секрета влагалища в подгруппе ПР отмечалось несколько большее значение уровня лейкоцитов - $22,50 \pm 13,06$ в поле зрения в сравнении со своевременными родами - $17,44 \pm 14,74$, однако различия не были статистически значимыми ($p=0,1027$). Клеточный состав (поверхностные, промежуточные и парабазальные клетки эпителия влагалища), морфологическое микробное разнообразие, детектируемое при световой микроскопии (кокки, морфотипы лактобацилл, бифидобактерии, гарднереллы и колиформные палочки) в обеих группах также статистически не различались. Однако получены значимые отличия в отношении цитолиза, отражающего достаточную защитную кислотопродуцирующую функцию лактобацилл. У пациенток из группы ПР он отсутствовал, в группе СР он встречался у 29,4% (10/34; $p=0,0439$), что согласуется с полученными ранее данными относительно обеднения микробиоты лактобациллами в подгруппе поздних преждевременных родов.

При исследовании вагинальной микробиоты с помощью ПЦР в режиме реального времени в группе преждевременных родов наблюдалась несколько большая встречаемость облигатно-анаэробных микроорганизмов, микоплазм и дрожжевых грибов с большим логарифмическим значением, однако статистически значимой разницы не получено. Полученные результаты представлены на тепловой карте – рисунок 35.

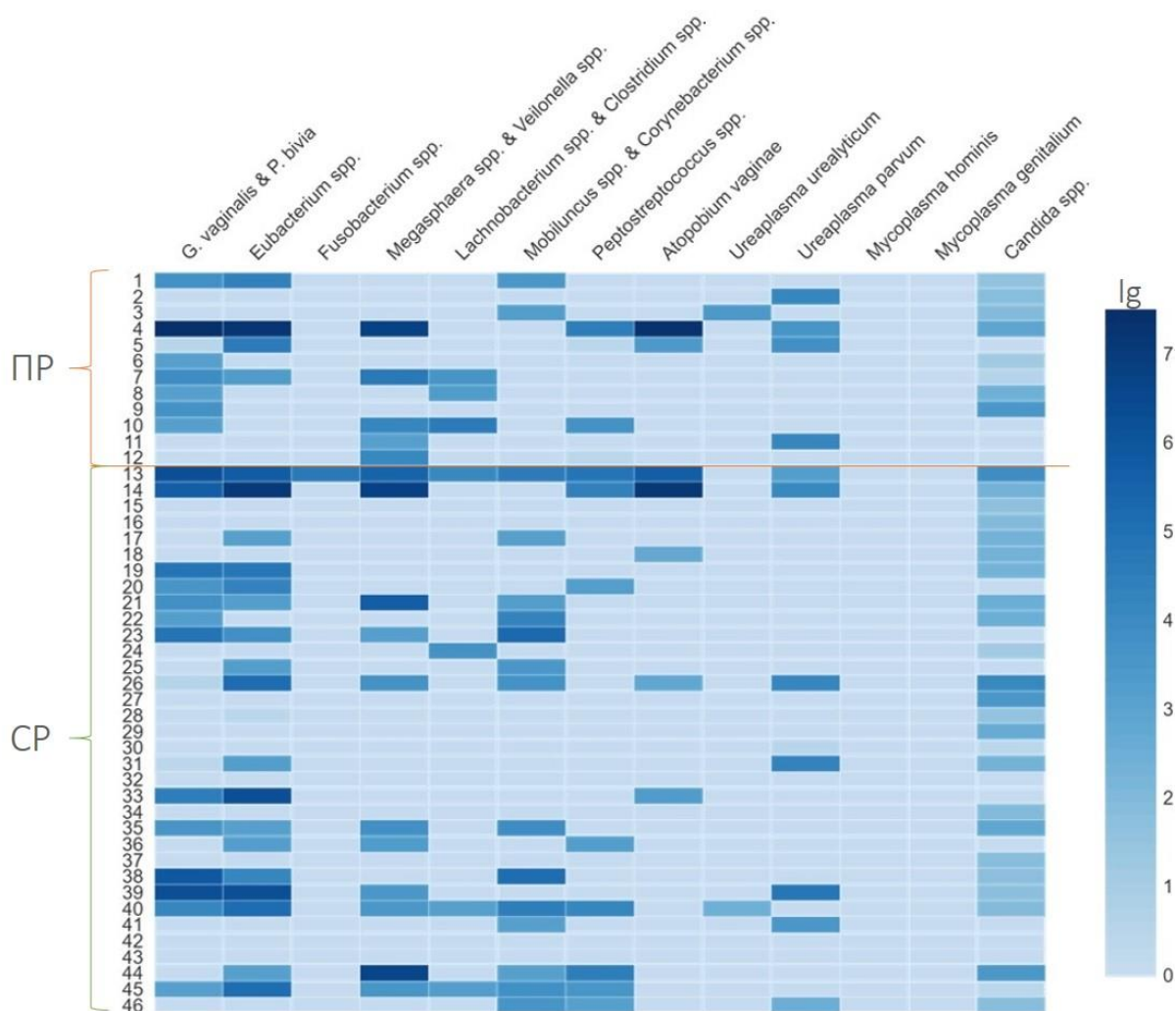


Рисунок 35. Тепловая карта (графическое изображение) состава вагинальной микробиоты.

Каждая горизонтальная линия отражает состав микробиоты конкретной пациентки. Каждая ячейка соответствует одному микроорганизму или группе микроорганизмов, а цветовая гамма отражает количественную оценку в геном-эквивалентах (ГЭ), соответствующих количеству ДНК/РНК микроорганизма в исследуемом образце.

Влагалище, с обитающими в нем бактериальными сообществами, представляют собой тонко сбалансированный мутуализм. С момента открытия лактобацилл – как типичных представителей вагинальной микробиоты в 1892 году Густавом Дедерлейном²⁶, принято считать, что наличие *Lactobacillus* spp. ассоциируется с репродуктивным и гравидарным здоровьем. В нашем исследовании проведена детальная сравнительная оценка видового состава лактобацилл в группах ПР и СР, представленная на рисунке 36.

²⁶ Döderlein's Bacillus: *Lactobacillus Acidophilus*, Stanley Thomas, The Journal of Infectious Diseases, Vol. 43, No. 3 (Sep., 1928), pp. 218-227.

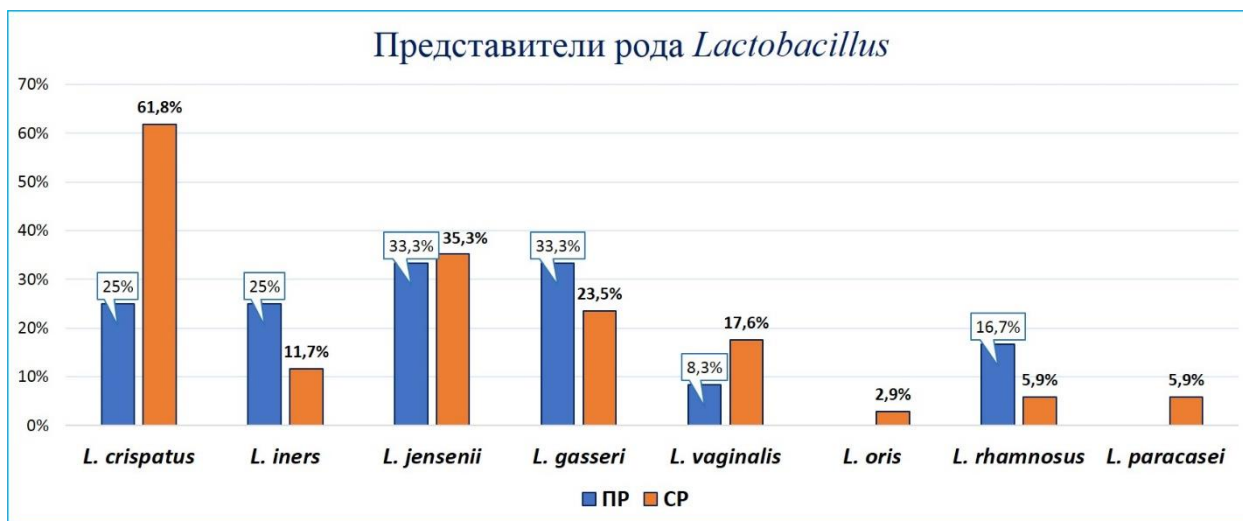


Рисунок 36. Сравнительная оценка видового состава лактобацилл в группах преждевременных и своевременных родов.

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) пациентов, а в группе СР у 62% (21/34). Также следует отметить вдвое большую представленность *L. iners* в группе ПР, что подтверждает наличие дисбиотических нарушений во влагалище.

Видовой состав микробиоты влагалища в обеих группах женщин в зависимости от срока родоразрешения показан на круговой гистограмме на рисунке 37. 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 преждевременных родов.

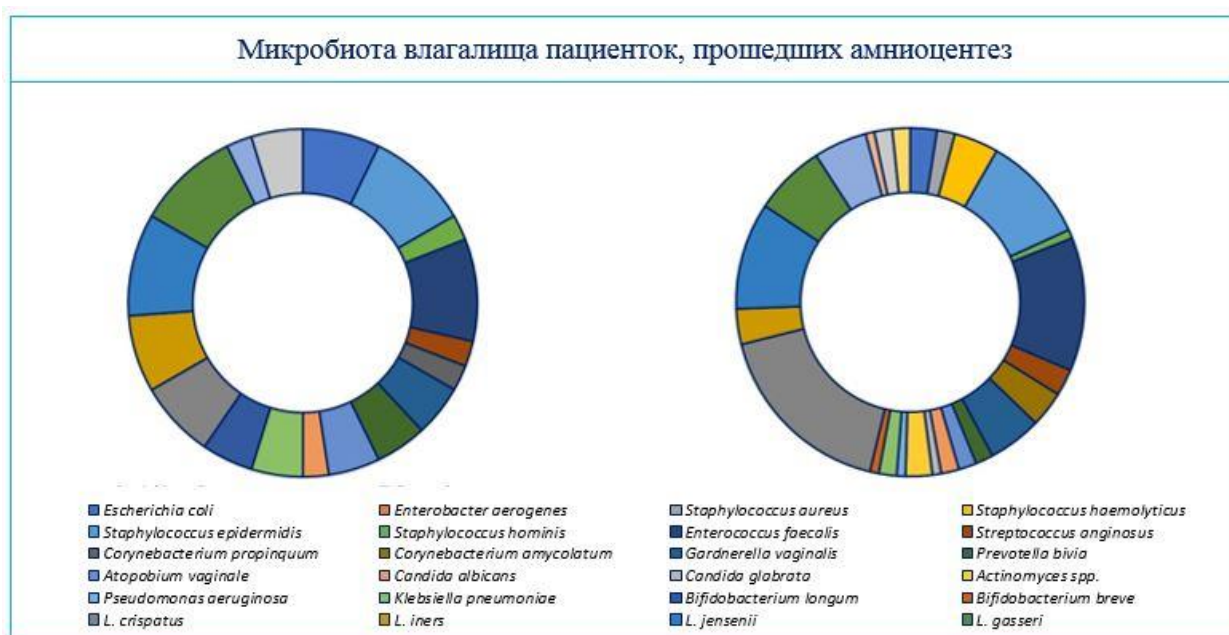


Рисунок 37. Видовой состав микробиоты влагалища пациенток, при проведении амниоцентеза в группах преждевременных (слева) и своевременных (справа) родов.

Представленная гистограмма также наглядно демонстрирует меньшее микробное разнообразие («богатство» микробиоты) влагалища у пациенток в группе ПР.

3.5. Анализ кишечной микробиоты пациенток со спонтанными преждевременными родами

Смена парадигмы и углубленное изучение, как отдельных областей микробиоты, так и микробиома в целом, в течение последнего десятилетия позволило выявить ряд новых факторов и этиопатогенетических путей в развитии заболеваний различных органов и систем. Активация провоспалительного пути на фоне дисбаланса кишечной микробиоты с формированием пристеночного воспаления содействует диссеминации микроорганизмов и их метаболитов из просвета кишечника, таких как липополисахариды, содержащихся в клеточной стенке грамотрицательных бактерий, которые вносят дополнительный вклад в системное воспаление и

соответственно в реализацию преждевременных родов.

В соответствии с поставленной задачей изучить потенциальное влияние микробиоты кишечника матери на реализацию преждевременных родов была исследована КМ родильниц на 1 – 3 сутки послеродового периода из пациенток высокого риска, родивших преждевременно (I группа) и соматически здоровых женщин без отягощенного акушерского анамнеза (II группа).

Клинико-анамнестическая характеристика пациенток соответствует представленной ранее в главах 3.2 и 3.4.1. Группы 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 преждевременные роды в анамнезе ($p=0,04$), истмико-цервикальная недостаточность (40% и 10%), соответственно, $p=0,029$) с проведенной коррекцией в виде серкляжа (75%) или акушерского пессария (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 сравнительном анализе течения родов вне зависимости от гестационного срока преобладающим методом в обеих группах были роды через естественные родовые пути (85 и 90%, соответственно). Частота ПРПО ($p=0,46$), длительность безводного промежутка ($p=0,32$) и продолжительность родов ($p=0,13$) в обеих группах значимо не различались.

При изучении особенностей кишечной микробиоты пациенток с ПР был проведен детальный анализ ее состава в исследуемых группах, который представлен на рисунке 38. Необходимо подчеркнуть, что при одинаковом таксономическом разнообразии отмечается «обеднение» практически всех представителей нормальной микробиоты кишечника у пациенток с ПР. Доля микроорганизмов представлена в процентном соотношении.



Рисунок 38. Сравнительный анализ состава кишечной микробиоты в группах преждевременных и своевременных родов.

Межгрупповые статистически значимые различия обнаружены в отношении *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae* (*Kl. pneumoniae*) и бактерий семейства *Bacteroidaceae* (рисунок 39). Так, у пациенток с ПР статистически значимо чаще с более высоким логарифмическим значением КОЕ (колониеобразующих единиц) по сравнению с группой своевременных родов встречались такие патогены, как *S. aureus* ($p=0,0331$) и/или *Kl. pneumoniae* ($p=0,0340$), при этом наблюдается «обеднение» микробиоты облигатно-анаэробными бактериями семейства *Bacteroidaceae* ($p=0,0416$), что усиливает дисбиотические процессы [168].

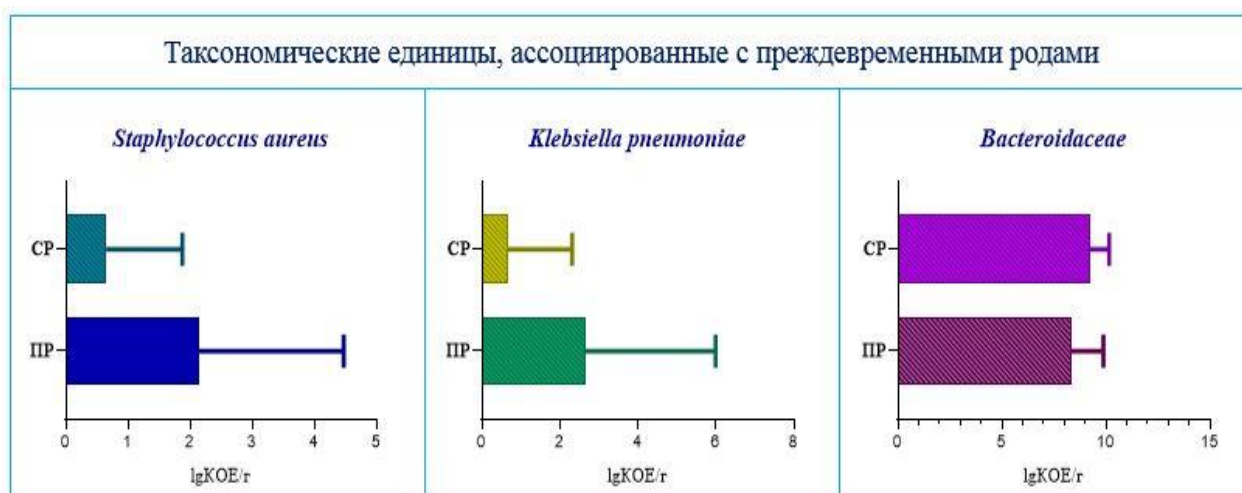


Рисунок 39. Наиболее значимые таксономические единицы, ассоциированные со спонтанными преждевременными родами.

Для оценки взаимосвязей микроорганизмов в основной группе и понимания их взаимодействия между собой проведен множественный корреляционный анализ с использованием линейного коэффициента корреляции r -Пирсона, результаты которого представлены в таблице 28.

Таблица 28

Корреляционные связи между представителями КМ у пациенток с ПР

Представители КМ	r	p
<i>Bifidobacterium</i> spp.& <i>Lactobacillus</i> spp.	0,45	0,045
<i>Bifidobacterium</i> spp.& <i>Bacteroides</i> spp.	0,52	0,017
<i>Bifidobacterium</i> spp. & <i>Candida</i> spp.	-0,47	0,037
<i>Lactobacillus</i> spp.& <i>Enterococcus</i> spp,	0,48	0,033
<i>Lactobacillus</i> spp. & <i>Clostridium</i> spp.	-0,48	0,034
<i>Kebsiella. pneumoniae</i> & УПМ (условно-патогенные микроорганизмы)	0,59	0,005

Полученные данные подтверждают потенцирующее (прямая зависимость) влияние представителей нормальной микрофлоры друг на друга: рост одних способствует росту других ($r=0,45$; $p=0,045$), в то время как рост УПМ создает благоприятную среду для размножения патогенов ($r=0,59$; $p=0,005$); а также отрицательное влияние (обратная зависимость) между

нормальными симбиотами и УПМ, в частности, *Candida* spp. (-0,47; $p=0,037$ [169]).

Для более детальной оценки других факторов риска, влияющих на КМ, нами проводилось анкетирование (анкета представлена в приложении №3) пациенток обеих групп. Не найдено значимых различий ($p=0,74$) в особенностях диеты (на выбор предлагалось 5 вариантов: - разнообразное питание, в том числе вредные продукты (фастфуд, чипсы и т.д.), - разнообразное правильное питание, - исключение углеводов, - исключение белков, - исключение жиров), 70% респондентов в обеих группах выбрали ответ: разнообразное правильное питание. Нарушения стула по типу гипотонии (констипация) встречались несколько чаще в группе ПР, однако различия между группами были не значимы ($p=0,75$). По частоте вредных привычек (курение), наличию домашних животных обе группы статистически значимо не отличались ($p=0,75$ и $p=0,31$, соответственно).

Послеродовой период протекал в обеих группах без осложнений, пациентки выписаны в среднем на 4-е сутки. Уровень лейкоцитов для пациенток из группы ПР составил $11,38 \pm 2,96$, и не различался с таковым для контрольной группы, который составил $10,60 \pm 3,3$ ($p=0,42$). Инфекционных осложнений, характерных для пуэрперия отмечено не было. Тем не менее у 7 новорожденных (35%) из группы ПР развились инфекционные осложнения, специфичные для перинатального периода (врожденная пневмония, инфекция мочевыводящих путей и т.д.), тогда как в группе своевременных родов таковых не отмечено ($p=0,0004$). Процентное содержание лимфоцитов периферической крови на 1 - 2-е сутки жизни было значимо выше в I группе ($39,5 \pm 13,2$), чем в группе контроля - $27,50 \pm 7,78$ ($p=0,001$).

Для оценки общего количества микроорганизмов с целью визуализации всего массива данных на платформе *Displayr* была построена тепловая карта, представленная на рисунке 40.

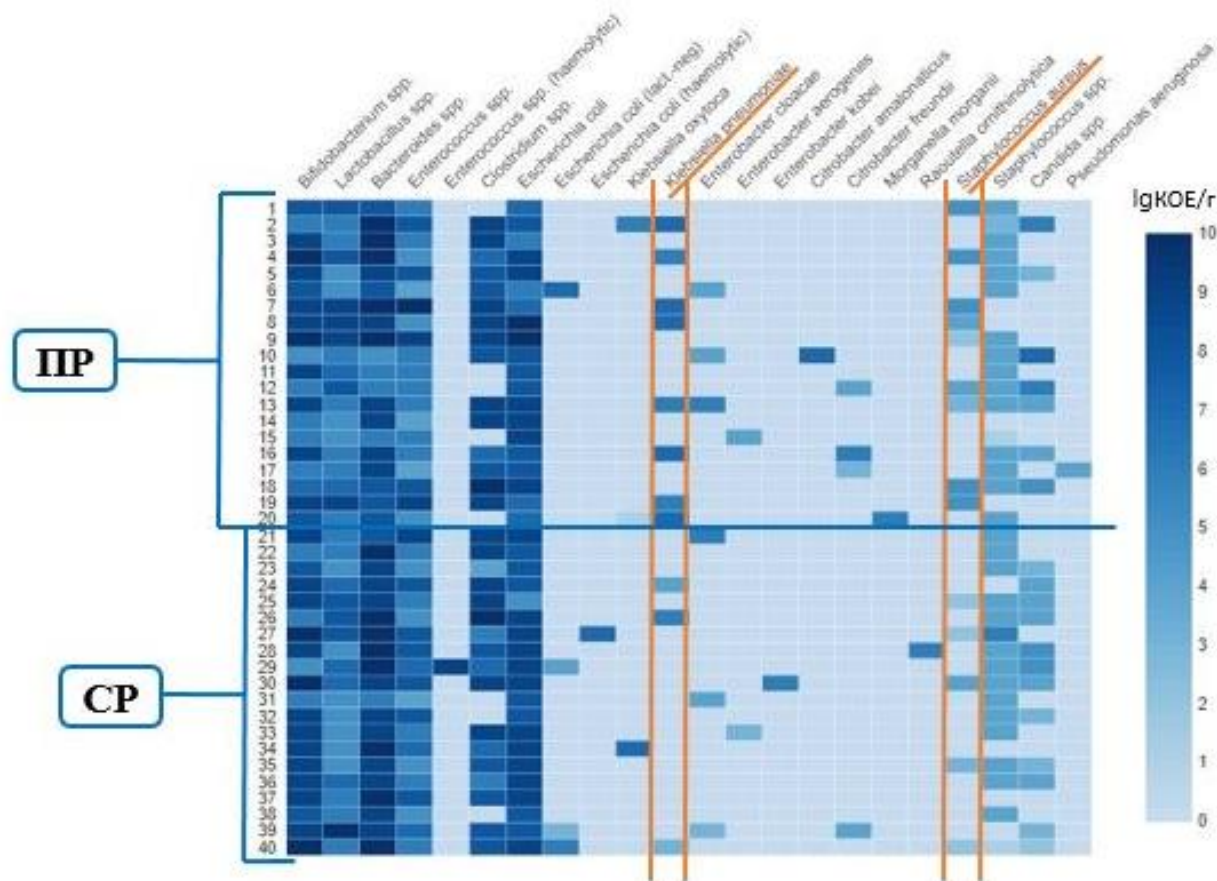


Рисунок 40. Тепловая карта представителей КМ при преждевременных и своевременных родах.

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

Согласно полученным данным, со спонтанными преждевременными родами может быть ассоциирован рост УПМ в виде *S. aureus*, который встречался у 50% (10/20) пациенток с ПР и 25% (5/20) при СР, данные различия не имели статистической значимости ($p=0,19$). Однако обильный рост *S. aureus* (более 1×10^4 КОЕ) отмечен только у 5% (1/19) пациенток с доношенным сроком, при этом у пациенток с преждевременными родами данный показатель составил 40% (8/20), что является статистически значимым ($p=0,02$, ОШ 12,67 95% ДИ 1,8 – 146,6). Анализ встречаемости *Kl. pneumoniae* также не показал значимых отличий ($p=0,16$): в группе ПР рост был зафиксирован у 40% (8/10) женщин, в группе СР у 15% (3/20). Обильный рост

Kl. 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).

Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Преждевременные роды - большой акушерский синдром, представляющий серьезную задачу не только в фундаментальных научных исследованиях, но и в рутинной практике рядового врача акушера-гинеколога. Столкнуться с данной патологией может акушер на любом уровне оказания перинатальной помощи, что делает крайне важным выделение когорты пациенток высокого риска для выбора надлежащего метода профилактики и своевременного оказания акушерского менеджмента.

Согласно данным официальной статистики Минздрава России общее количество ПР в 2018 году составило 93123 случая, в 2019 году данный показатель был ниже – 86789 случаев. Соразмерно количеству, абсолютному числу досрочных родоразрешений сопутствуют не только финансовые расходы системы здравоохранения, но и социальные потери. Так в США было подсчитано, что потери производительности рынка труда, связанные с высокой инвалидизацией среди недоношенных новорожденных, составили 5,7 млрд. долларов²⁷. Рождение детей с особыми потребностями – серьезная задача для государства и большое бремя для семьи. Длительная, а иногда пожизненная реабилитация ребенка, соответствующая необходимая психологическая помощь родителям, усиливает масштаб проблемы. Все вышеперечисленное делает своевременную диагностику и профилактику ПР важнейшей задачей исследователей и клиницистов. Однако развивается и обратная сторона, тревоги врача, беспокойство за исход беременности, особенно у пациенток с отягощенным анамнезом, которые приводят к необоснованным госпитализациям по поводу угрожающих ПР. В проведенном исследовании в США в период с июля 2009 года по июнь 2010 года в стационар III уровня было принято 139 пациентов с преждевременными родами, у 36% пациентов они не реализовались, затраты на обследование и пребывание в стационаре составили более 1 млн. долларов [170].

²⁷ Preterm Birth: Causes, Consequences, and Prevention. 12 - Societal Costs of Preterm Birth.

Формирование четких обоснованных критериев для таргетного отбора пациентов в группу высокого риска по реализации преждевременных родов, а также выявление маркеров и предикторов досрочного родоразрешения с целью профилактики и их предотвращения явились основополагающими задачами нашего исследования.

Нами тщательно проанализированы не только особенности анамнеза, соматического статуса, течения и исхода беременности, особенности профилактики преждевременных родов, но и подвергнута сомнению взаимосвязь ряда факторов с досрочным родоразрешением, таких, например, как длина шейки матки в III триместре менее 25 мм. Проведена оценка проведенных курсов профилактики РДС плода с анализом данных относительно временного промежутка на момент проведения курса и сроком родоразрешения. Проведено многофакторное исследование амниотической жидкости, а также поиск неинвазивных предикторов ПР в ЦВЖ.

Распределение структуры преждевременных родов в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России отражает общемировую тенденцию, спонтанные ПР доминируют над индуцированными. Анализ методов родоразрешения продемонстрировал зависимость от возраста беременных ($p=0,0003$) и срока гестации ($p < 0,0001$) [171]. Прослеживалась отрицательная зависимость между сроком беременности и доминированием абдоминального родоразрешения, и положительная - между возрастом женщины и выбором метода родоразрешения в пользу кесарева сечения.

Перед назначением диагностических процедур и принятием какой-либо терапевтической стратегии необходимо тщательно выявлять женщин, которым реально угрожают преждевременные роды. Согласно клиническим рекомендациям уважаемых международных ассоциаций, при решении вопроса относительно проведения токолитической терапии, профилактики РДС плода и нейропротекции следует опираться на неминуемость преждевременных родов и, соответственно, вероятность их наступления в течении ближайших 7-14 дней [1, 10]. В нашем исследовании мы провели

сравнительный анализ пациенток высокого риска с беременными без отягощенного акушерского анамнеза, родивших в доношенном сроке, для критической оценки существующих прогностических факторов на основании литературных данных и выявления потенциально новых значимых признаков.

Исследование когорты пациенток высокого риска позволило отметить преобладание старшей возрастной группы ($p < 0,0001$), возраст пациенток постепенно уменьшался по мере увеличения срока родоразрешения. *F. Fuchs* и *B. Monet* в проведенном многоцентровом исследовании 184 тысяч родов заключили, что после стратификации рисков, возраст был строго ассоциирован с досрочным родоразрешением [172]. Антропометрические показатели не выявили достоверных различий ($p=0,8041$), группы пациенток высокого риска были сопоставимы со здоровым контролем. Однако, по нашим данным, как и в исследовании *Sarah D. McDonald* [173], ожирение статистически значимо чаще регистрировалось в группе пациенток высокого риска, родивших преждевременно в сравнении с контрольной группой (18,75% и 5,56% соответственно, $p=0,0169$). Экстрагенитальная коморбидность не оказывала существенный вклад в развитие ПР, не имела значимой связи с подгруппами высокого риска при анализе заболеваний по системам органов. Также ни в одной из подгрупп, как преждевременных, так и своевременных родов, не было значимых различий в характеристике менструального цикла. Возраст наступления менархе, длительность и регулярность менструаций были сопоставимы во всех группах.

Убедительные данные были получены при изучении особенностей гинекологического анамнеза. Выскабливание полости матки было статистически значимо выше в подгруппе ранних ПР в сравнении с пациентками с нормально протекавшей беременностью ($p=0,0104$, ОШ 3,29 95% ДИ 1,353 – 7,523), углубляясь в изучение проблемы также установлено, что среднее количество процедур *abrasio cavi uteri* было значимо больше в подгруппах Ia и Ib ($p=0,0010$). Анализируя полученные результаты и данные литературы, никаких контраргументов к данному факту нами не было

получено [174]. Полученные результаты согласуются с выводами, сделанными итальянскими учеными *G. Saccone* и *L. Perriera* и их рекомендациями о необходимости использования безопасных хирургических или консервативных методов при проведении аборт [175]. Однако удивительным оказалось, что частота хронического эндометрита достоверно не различалась ($p=0,1341$), по-видимому, данное обстоятельство продиктовано сложностями клинической и гистологической верификации, как правило вялотекущего воспалительного процесса эндометрия. Еще одним обстоятельством, свидетельствующим в пользу абсолютной минимизации использования данного метода является его доминирование в подгруппах экстремально и очень ранних преждевременных родов, когда частота острого хориоамнионита достигает 94%, что подтверждает его закономерную взаимосвязь [36]. Хронические воспалительные заболевания придатков матки представлены крайне скудным наличием в группах, максимальная распространенность в подгруппе поздних ПР 10% (3/30), что с одной стороны говорит о низком вкладе со стороны данной патологии, эффективных методах диагностики и лечения внутриклеточных паразитов, ассоциированных с поражением маточных труб; а с другой - подтверждает сомнения ряда авторов о возможности заброса бактериальных культур из брюшной полости и придатков в полость матки [36]. Миома матки статистически значимо чаще встречалась в подгруппе ранних своевременных родов, причем, в сравнении, как с ПР (подгруппой Ia, $p=0,0381$), так и здоровыми беременными (группой III, $p=0,0310$), связующей нитью вероятно является исключительно анатомический фактор, без вовлечения иных патологических механизмов. Проведенный и опубликованный в 2020 году метаанализ подтверждает связь миомы матки с неблагоприятными акушерскими исходами, в том числе с ПР [176]. Любопытным, но объяснимым стало отсутствие вклада поражений шейки матки легкой степени (не изменяющих ее структуру), причем данный фактор статистически значимо чаще встречался у пациенток группы высокого риска, но к досрочному родоразрешению не приводил ($p=0,0161$).

Наиболее яркие различия, что ожидаемо, получены при анализе репродуктивного анамнеза. Среднее количество беременностей и паритет были выше в подгруппах ПР, при этом среднее количество ПР в анамнезе оказались статистически значимо выше во всех подгруппах высокого риска с досрочным родоразрешением ($p < 0,0001$). Преждевременные роды в анамнезе - незыблемый, мощный и достоверный критерий повторения эпизода невынашивания в данную беременность. Разбор репродуктивных потерь предоставил занимательные данные, так количество аборт и самопроизвольных выкидышей (без учета метода прерывания) не коррелировало со сроком гестации на момент родоразрешения, а среднее количество неразвивающихся беременностей ($p=0,0172$) и привычного невынашивания ($p=0,0319$) было статистически значимо выше, но только для подгруппы экстремально и очень ранних ПР, когда роды наступали до 30 полных недель беременности.

При изучении особенностей течения беременности, анализ данных был оптимизирован и хронологически представлен в соответствии с типичными осложнениями, характерными для каждого триместра. Пациенткам высокого риска, родившим преждевременно в I триместре беременности, сопутствовали более высокая распространенность внутриматочных гематом и эпизодов кровянистых выделений ($p=0,0497$), как отражение иммунологического дисбаланса и, вероятно, субклинического вялотекущего инфекционного процесса. Наличие эпизодов угрожающего выкидыша было статистически значимо чаще у пациенток высокого риска, однако, как в подгруппах преждевременных родов (Ib, $p=0,0014$) [177], так и своевременных родов (IIa, $p=0,0048$). Нарушения микрофлоры влагалища на малых сроках беременности чаще встречались у всех пациенток высокого риска, однако значимые различия получены только пациенток группы экстремально и очень ранних ПР ($p=0,0048$). R. Brown, Maya Al-Memar из имперского лондонского колледжа показали, что изменения микроценоза влагалища на ранних сроках беременности связаны с последующим ПРПО [178]. Дисбиотические

нарушения микробиоты НГТ во II триместре отчетливо прослеживаются в подгруппах экстремально, очень ранних и ранних ПР (Ia & Ib, $p=0,0486$ и $p=0,0005$, соответственно), причем они статистически значимо чаще регистрируются в сравнении как с нормой, так и высоким риском, родившим в срок. Интересным оказался факт более высокой распространенности ГСД в подгруппе поздних ПР в сравнении с группой контроля ($p=0,0314$), по-видимому, это можно истолковать как результат макросомии и многоводия, ведущих к перерастяжению миометрия, как одного из факторов в инициации родовой деятельности [9, 179]. Во II и III триместрах эпизоды угрозы преждевременных родов статистически значимо ассоциировались с досрочным родоразрешением. Вклад дисбиоза микрофлоры влагалища продолжал прослеживаться и в III триместре.

Антибактериальная терапия - дискуссионный вопрос во многих отраслях клиники, но акушерство с его непосредственным участием в «формировании поколений» занимает особое место. Показания для проведения антибактериальной терапии должны быть четко регламентированы. Результаты проведенного нами анализа частоты назначения антибиотиков во время беременности показывают, что системная терапия была проведена более чем 50% пациенток из группы высокого риска с статистически значимыми различиями в сравнении с группой контроля (для подгрупп Ia, Ib и Ib, $p < 0,0001$). Вместе с тем, среднее количество курсов, проведенных за беременность, также было статистически значимо выше в подгруппах высокого риска, родоразрешенных, как преждевременно, так и своевременно. При корректировке данных с учетом вычета пациентов с ПРПО, когда антибактериальная терапия является обязательной частью акушерского менеджмента, характер распределения полученных данных не менялся, распространённость терапии в подгруппе Ia составила 88,89%, Ib 55,56% и Ic 23,08%, статистически значимые различия получены для подгрупп экстремально и очень ранних ПР и поздних ПР ($p=0,0075$). Более 20 лет назад опубликованный кокрановский обзор относительно применения

антибиотиков у пациенток с интактными плодными оболочками приводил доводы о сомнениях в целесообразности назначения антибактериальной терапии [180], рекомендации ВОЗ от 2015 года, также не рекомендует рутинной назначение антибиотиков при целом плодном пузыре.

Нами проанализирована динамика изменений длины шейки матки по данным УЗ-цервикометрии во всех подгруппах в течении беременности. Для I и II триместра характерна обратная зависимость между значениями длины шейки матки и сроком беременности на момент родоразрешения со статистически значимой разницей между всеми подгруппами ПР и контролем ($p < 0,0001$). Однако в III триместре подобная закономерность не сохраняется, данные между подгруппами распределены гетерогенно. ROC-анализ показал диагностическую значимость длины шейки матки, проведенной после 28 недели беременности, только при значениях цервикометрии менее 15 мм, которые соответствовали значениям чувствительности 92% и специфичности 32%. Данный вопрос является принципиальным, так как большая часть исследований по влиянию длины шейки матки и ее прогностическому значению, говорит о значениях менее 25 мм в сроках 16 – 24 недели. В крупном поперечном исследовании *I. Papastefanou* и соавторов, проведенном на выборке более 1000 человек, анализировалась связь между значением длины шейки матки, измеренной в 28-30 недель. Авторы разделили ПР в зависимости от срока беременности на момент родов на 2 группы: 30-34 недели и 34-37 недель. Для пациенток, родивших до 34 недель гестации средние значения длины шейки матки составили 11 мм, а для женщин родивших в 34-37 недель 22 мм [181]. В нашем исследовании при ПРПО значения длины шейки матки были больше, чем у пациенток с интактными плодными оболочками, однако внутригрупповой анализ статистически значимой разницы не показал ($p > 0,5$). Коррекция ИЦН, как элемент профилактики ПР статистически значимо чаще встречалась у пациенток высокого риска из всех подгрупп независимо от срока родоразрешения. Нельзя исключить и не отметить, что данный факт обусловлен тем, что рекрутирование пациенток в исследование основывалось,

в том числе на изменении длины шейки матки во время данной беременности, как фактор высокого риска ПР. Хирургическая коррекция несколько доминировала над установкой разгрузочного пессария в подгруппах Ia и Ib (45%/40% и 53%/37%, соответственно), что несомненно продиктовано более ранним дебютом ИЦН. Применение комбинированного метода: серкляж + пессарий представлено незначительно, однако при сравнительном анализе получены статистически значимые различия между подгруппами поздних ПР и ранних СР (3,33% и 30%, соответственно, $p=0,0121$), что доказывает эффективность данного метода и возможность пролонгирования беременности [182]. Для течения второй половины беременности на фоне ИЦН характерно продолжающееся размягчение шейки матки и более низко расположенная предлежащая часть плода. В подобной клинической ситуации разгрузочный акушерский пессарий снимает излишнюю нагрузку со швов на шейке матки и препятствует их погружению и/или прорезыванию.

Профилактика РДС плода - якорный элемент качественного менеджмента пациенток с угрожающими ПР. В то же время, необходимо объективно оценивать степень угрозы и последующую вероятность наступления родов в ближайшие семь дней, как основной фактор для назначения антенатального курса ГКС. Учитывая, что в нашем исследовании треть курсов (31/101) проведена пациенткам, родившим в срок; а также пациенткам с ПР, у которых разница между сроками проведения профилактики РДС плода и родоразрешением составила 5 недель, становится понятным, что тщательное взвешивание факторов риска: анамнестических, клиничко-лабораторных, а также оценка точных предикторов ПР и показателей зрелости легких плода позволит избежать проведения необоснованных курсов [33, 101].

Согласно нашим данным, при анализе исходов родов ПРПО был доминирующим в подгруппе Ib – 70% (21/30) и минимальным в подгруппе Ib – 8,7% (4/50). Частота экстренного абдоминального оперативного родоразрешения была максимальной в подгруппах Ia (70%, 14/20) и Ib

(56,67%, 17/30), что статистически значимо выше не только в сравнении с контролем ($p < 0,0001$), но и поздними преждевременными родами (подгруппа Ic 16,7%, 5/30; $p < 0,01$). Ведущим показанием к проведению операции кесарева сечения в подгруппах Ia и Ib были развитие регулярной родовой деятельности, а также наличие рубца на матке и длительный безводный промежуток. Анализ показателей периферической крови беременных накануне родов отражает провоспалительную активацию у пациенток высокого риска, родоразрешенных преждевременно, особенно при экстремально и очень ранних ПР, что подтверждается статистически значимо более высоким уровнем лейкоцитов и нейтрофилов ($p < 0,01$), стоит отметить, что в подгруппе Ia значимые различия получены в сравнении со всеми остальными подгруппами, кроме ранних ПР (Ib) [183]. Аналогичная динамика повторяется при исследовании уровня С-реактивного белка (в том числе с поправкой на пациенток с интактными плодными оболочками; $p < 0,05$) и фибриногена, но для последнего различия между подгруппами не были статистически значимыми ($p=0,8097$). Анализ вышеуказанных показателей, но уже в послеродовом периоде демонстрирует нормализацию и восстановление «иммунологического баланса», уровень лейкоцитов ($p=0,0662$), нейтрофилов ($p=0,3447$), незрелых гранулоцитов ($p=0,1$) значимо не отличался от группы контроля. Наличие воспалительных изменений в тканях плаценты по типу лейкоцитарной инфильтрации, как гистологическое подтверждение воспалительного процесса, было выше в подгруппах высокого риска, родоразрешенных преждевременно, особенно в подгруппе Ia, для которой найдены статистически значимые различия в сравнении с подгруппой Ib (высокий риск, роды в срок более 38 недель) [64].

Ранний неонатальный период для недоношенных новорожденных, что очевидно, сопровождался более низкой оценкой по шкале Апгар и меньшими антропометрическими показателями при рождении. Полового доминирования не отмечено ($p=0,1761$), в равной степени недоношенными рождались мальчики и девочки. Ведущими нозологическими формами при анализе

неонатальной заболеваемости были РДС, врожденная пневмония, ВЖК и ДВС, которые абсолютно доминировали в подгруппе Ia. Частота врожденной пневмонии у недоношенных новорожденных, несмотря на широко проводимую антибактериальную терапию оставалась высокой. Новейшие исследования показывают, что перинатальное воздействие антибактериальных препаратов вызывает антибиотико-опосредованный дисбиоз, который, особенно у недоношенных новорожденных, способствует более раннему дебюту септических осложнений [184]. Ряд патологий, таких как НЭК, БЛД были строго ассоциированы с гестационной незрелостью и отмечены только в подгруппе Ia, в то время как ВЖК была представлена среди всех подгрупп с преждевременными родами (Ia – 25%, Ib – 23%, Ic – 17%). Показатели периферической крови новорожденных после рождения в целом отражают изменения в организме матери – сдвиг лейкоцитарной формулы влево, палочкоядерные нейтрофилы были статистически значимо выше в подгруппе Ia в сравнении с доношенными новорожденными ($p=0,0133$).

В нашем исследовании микробиота влагалища была проанализирована в динамике, чтобы отразить ее изменения в III триместре и накануне родов, с использованием широкого спектра микробиологических и молекулярно-генетических методов. Анализ влагалищной микробиоты показал доминирование в подгруппах преждевременных родов *E. coli* и *E. faecalis*, в подгруппе поздних ПР на фоне роста вышеуказанных патогенов также отмечалось обеднение представителями семейства *Lactobacillus*. Результаты нашего исследования позволяют предположить, что именно представители кишечной микрофлоры вносят финальный вклад в ПРПО и инициацию родов, однако фоновым процессом, приводящим к их росту, не исключено, являются дисбиотические нарушения микрофлоры влагалища, которые достоверно чаще регистрировались в подгруппах Ia и Ib во II триместре ($p=0,0486$ и $p=0,0005$, соответственно) [13, 14, 16, 178]. Аналогичные данные получены R.J. Drew и L. LeBlanc, которые в своем исследовании показали, что ПР и неблагоприятные неонатальные исходы ассоциированы с ростом аэробных

культур *E. coli*, на фоне обеднения лактобациллами [185]. Следует отдельно отметить, что у пациенток с поздними преждевременными родами статистически значимо реже были представлены бактерии представители семейства *Lactobacillus*, при видовой идентификации достоверные различия были получены для *L. crispatus*, что согласуется с данными литературы [186]. В целом для пациенток с ПР было характерно меньшее микробное разнообразие.

Исследование амниотической жидкости, особенно «чистых» образцов, не контаминированных кровью, меконием, выделениями из влагалища представляет особый интерес и ценность. В силу трудоемкого процесса забора материала (трансабдоминальный амниоцентез) анализ различных маркеров, впрочем, как и объем исследований представлены недостаточно. В нашем исследовании мы с самых разных сторон изучали этот уникальный биоматериал. Результаты проведенного анализа позволяют утверждать, что нейтрофилы АЖ можно рассматривать в качестве предиктора преждевременных родов, их повышение свидетельствует о развитии данного осложнения ($p=0,048$). Ряд исследований под руководством профессора *R. Romero* подтверждает связь нейтрофилов с ВАИ, а также детализирует возможные механизмы патогенеза, в частности фагоцитарную активность, и происхождение этих клеток [187, 188]. В качестве более слабых маркеров с ПР был ассоциирован уровень общего белка ($p=0,049$). Оценка зрелости легких плода, основанная на измерении количества ЛТ является бюджетным и эффективным методом объективизации клинической информации. Согласно полученным результатам, наличие признаков воспалительного процесса ассоциировано с большей зрелостью легких плода ($r=0,3$; $p=0,046$). Австралийские исследователи в своей работе предположили, что влияние ВУИ на развитие легких плода, по-видимому, является результатом прямого действия провоспалительных стимулов на легочную ткань плода [162]. Исследования на животных позволили сделать выводы, что увеличение выработки сурфактанта у плодов с высоким риском ПР, вероятно, лежит в

основе снижения степени тяжести РДС в последующем после рождения, как эволюционно выработанный механизм, учитывая, что ведущий причиной ПР является инфекционный процесс [189]. В качестве неинвазивных предикторов зрелости легкого плода нами были получены такие ультразвуковые критерии как: размеры мозжечка ($r=0,38$; $p=0,04$), длина бедренной кости ($r=0,32$; $p=0,04$), индекс резистентности в СМА плода ($r= -0,32$; $p=0,04$). Не найдено значимых ассоциаций между маркерами воспаления (лейкоциты, нейтрофилы) в АЖ и периферической крови беременных. Как, указывалось выше, повышенное количество лейкоцитов в АЖ было ассоциировано с лейкоцитозом у недоношенных новорожденных (в группе преждевременных родов - $r=0,63$; $p=0,03$). Лабораторный анализ АЖ является бюджетным *point-of-care* методом, который целесообразно использовать в перинатальных центрах, и который позволяет ответить на ряд важных вопросов: наличие/отсутствие признаков ВАВ, степень зрелости легкого плода и прогнозирование перинатальных исходов с последующей таргетной коррекцией акушерского менеджмента. Иммуноферментный анализ АЖ показал более высокие концентрации интерлейкина-6 в амниотической жидкости [27] и плазме крови, однако различия не были статистически значимыми. Вероятно, данный факт обусловлен тем, что все пациентки, участвовавшие в исследовании АЖ имели высокий риск ПР, при этом у большинства пациенток интервал между забором АЖ и реализацией ПР составил более двух недель, что, вероятно, обусловило отсутствие статистической значимости. Обнадёживающими и оптимистичными оказались полученные данные относительно статистически значимой сильной положительной связи между уровнем ИЛ-6 в АЖ и периферической крови ($r=0,6$, $p=0,0378$), что позволяет обоснованно предполагать, что данный показатель можно использовать как инструмент диагностики у «симптомных» пациенток с интактными плодными оболочками, а при ПРПО и как средство мониторинга степени тяжести ВАВ [190].

Достижения последних лет в области метаболомики открывают большое

окно возможностей для уточнения патогенетических механизмов формирования ПР, а также поиска новых предикторов [115]. В нашем исследовании, полученный профиль органических кислот в амниотической и цервикагинальной жидкости в целом отражает снижение метаболитов, проявляющих противовоспалительную активность в группе пациенток с преждевременными родами. Высокие концентрации N-ацетиласпарагиновой кислоты в АЖ повышают сократительную активность миомерия, за счет активации киназы легких цепей миозина и фосфорилирования легкой цепи миозина. Кроме того, указанный метаболит способствует индукции синтеза провоспалительных агентов, таких как ФНО- α , индуцибельная изоформа NO-синтазы, циклооксигеназа-2 [163]. 2-гидрокси-3-метилпентановая и 3-гидрокси-2-метилбутановая кислоты участвуют в обмене изолейцина, который проявляет противовоспалительную активность. 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота в большей концентрации была отмечена у пациенток со своевременными родами, в первую очередь за счет снижения экспрессии индуцибельной изоформы NO-синтазы и медиаторов воспаления ИЛ-6 и циклооксигеназы-2 [165]. 3-гидрокси-2-метилбутановая кислота, наоборот, участвует в катаболизме изолейцина, а также окислении жирных кислот и кетогенезе. Не исключено, что ее более высокие концентрации в группе ПР вносят дополнительный вклад в развитие воспаления, индуцированного жирными кислотами. Таким образом, для метаболомного профиля АЖ пациенток с ПР характерно повышение метаболитов, ответственных за провоспалительную и сократительную активацию на фоне снижения противовоспалительных факторов. Цервикагинальная жидкость полезный ресурс для поиска неинвазивных предикторов ПР, в первую очередь за счет технической простоты и доступности забора проб биологического материала. Полученные в ходе исследования высокие концентрации сукцината в ЦВЖ пациенток с СР вероятно отражают противовоспалительную активность. Вместе с тем, анализ данных показывает, что сукцинат играет ключевую двойственную роль в воспалительных реакциях, проявляя как про-

, так и противовоспалительную активность, в зависимости от клеточного окружения [167]. Однако последние исследования доказывают, что активация сукцинатного рецептора 1 (*SUCNR1*) способствует формированию противовоспалительного фенотипа в макрофагах [191]. Как и в АЖ, 2-гидрокси-3-метилпентановая кислота доминировала среди пациенток со своевременными родами, что подтверждает ее протективный вклад, как ингибитора провоспалительных медиаторов [165]. Ряд метаболитов имел ксенобиотическое происхождение и отражал микробиоту НГТ. Полученные высокие значения 4-гидроксифенилпировиноградной кислоты у пациенток с преждевременными родами отражали микробный композиционный состав ЦВЖ, так как она является типичным метаболитом бактерий рода *Escherichia* [192]. Производные молочные кислоты статистически значимо чаще встречались у пациенток со своевременными родами, подтверждая большую микробную обсеменённость лактобациллами с выраженным феноменом цитолиза. В нашем исследовании для метаболомного профиля ЦВЖ пациенток с ПР было характерно снижение противовоспалительных метаболитов, на фоне их большего количества у пациенток, родивших в срок.

Толстый кишечник человека населяет более 50 типов микроорганизмов, но доминируют четыре основных типа: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria* [193]. Согласно полученным результатам, ведущими представителями КМ пациенток с преждевременными и своевременными родами были микроорганизмы родов *Bifidobacterium* (тип *Actinobacteria*), *Bacteroides* (тип *Bacteroidetes*), *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Clostridium* (тип *Firmicutes*) и *Escherichia*, *Klebsiella* (тип *Proteobacteria*). При ранжировании полученных данных в зависимости от выраженности дисбиотических нарушений на три группы были получены следующие результаты: нормоценоз, умеренно выраженные дисбиотические изменения (строгие анаэробы преобладают над факультативными анаэробами, рост УПМ менее 10^4 КОЕ/г) и выраженный дисбиоз (факультативные анаэробы преобладают над облигатными анаэробами, рост УПМ более 10^4

КОЕ/г, с повышенной генерацией *S. aureus*, *Klebsiella* spp. и *Clostridium* spp. У 90% (18/20) пациенток с ПР преобладали дисбиотические нарушения кишечника от умеренных до выраженных, что значимо выше по сравнению с беременными, родившими в срок (2/20 (10%), $p < 0,001$). Частота выраженного дисбиоза была статистически значимо ассоциирована с ПР (45 и 10%, соответственно; $p=0,004$).

Говоря о композиционном составе КМ, важно отметить, что с ПР было ассоциировано увеличение численности факультативно-анаэробной условно-патогенной микрофлоры в виде *S. aureus* и/или *Kl. pneumoniae*, а также скудное количество облигатных анаэробов - бактериоидов. Снижение титров бактериоидов и других облигатно-анаэробных микроорганизмов в составе КМ сопровождается нарушением продукции короткоцепочечных жирных кислот (ацетата, пропионата, бутирата), оказывающих влияние на здоровье толстой кишки, обеспечивая защиту от воспаления и нарушения барьерной функции [24, 25]. Здоровые эпителиальные клетки толстого кишечника истощают уровни кислорода в его просвете, на границе слизистой оболочки, через процессы бета-окисления, создавая, таким образом, анаэробную среду, а в случае воспаления - уменьшают способность к бета-окислению вследствие повышенной доступности кислорода, который приводит к дисбиотическим изменениям, ассоциированным с повышенной генерацией протеобактерий, в том числе энтеробактерий [194, 195]. Увеличение проницаемости клеток кишечника сопровождается возрастанием транспорта липополисахаридов клеточной стенки грамотрицательных бактерий из просвета кишечника в кровотока [196], вызывая эндотоксемию. Снижение содержания бактериоидов в составе КМ пациенток с ПР, в сочетании с увеличением популяции протеобактерий (*Kl. pneumoniae*), имевшее место в нашем исследовании, могло привести к повышенной продукции провоспалительных цитокинов и простагландинов и запустить каскад патогенетических механизмов, инициирующих развитие преждевременной родовой деятельности.

В исследовании преждевременных родов, остается много открытых

вопросов. На данный момент наиболее используемым критерием высокой вероятности наступления ПР в клинике является длина шейки матки. Однако, пороговые значения цервикометрии варьируются в зависимости от срока беременности. Кроме того, данный показатель обладает высокой чувствительностью, но низкой специфичностью, что требует от исследователей поиска, и последующего активного внедрения новых надежных маркеров. При назначении любого спектра диагностических тестов и терапевтических процедур необходимо руководствоваться дифференцированным и персонифицированным подходом, поэтому первым пунктом должна стоять стратификация рисков с формированием когорты пациенток высокого риска в прекоцептуальном и/или раннем гестационном периодах. В последующем этой группе пациенток необходим динамический мониторинг: исследование отделяемого из цервикального канала и цервикометрия, с применением современных предикторов, в частности метаболомного профиля ЦВЖ, который возможен на амбулаторном этапе. Выявление признаков дисбиоза и роста патогенов в отделяемом НГТ требует своевременной коррекции с учетом типирования микроорганизмов на основании антибиотикограммы. При отсутствии строгих показаний следует избегать назначения системной антибактериальной терапии. При детекции пороговых значений шейки матки с учетом срока беременности у «симптомных» (при наличии клинических признаков угрожающих ПР) женщин показана госпитализация в стационар с решением вопроса о срочности проведения токолитической терапии и профилактики РДС плода. Полученные нами предикторы ПР и зрелости легочной ткани плода, в том числе на основании комплексного анализа АЖ (количество нейтрофилов, ламеллярных телец, уровень органических кислот) позволят определить степень риска и, соответственно, вероятность преждевременного родоразрешения в течение ближайших семи дней. Наличие заболеваний или функциональных расстройств в работе ЖКТ у пациенток с угрожающими ПР, указывает на необходимость проведения оценки кишечной микробиоты

беременной. На основании полученных данных по результатам исследования разработан алгоритм формирования группы пациенток высокого риска ПР и ведения беременности, представленный в приложении №1.

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, преждевременные роды 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-гидроксифенилпировиноградная 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-гидроксифенилпировиноградная 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 преждевременными родами отмечается выраженный дисбаланс кишечной микробиоты, 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 цервиковагинальной жидкости. 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 внутриамниотического воспаления и/или микробной инвазии в амниотическую полость возможно проведение трансабдоминального амниоцентеза под ультразвуковой 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 персонафицированного 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, особенно с клинической картиной угрожающих ПР, при исключении других возможных причин, следует провести оценку кишечной микробиоты беременной.
4. Пациенткам высокого риска ПР в случае эпизода угрожающих ПР рекомендовано проведение метаболомного анализа цервикагинальной жидкости в качестве дополнительного критерия для определения показаний к проведению профилактики РДС, нейропротекции плода и 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 сокращений

Аббревиатура	Расшифровка
ПР	преждевременные роды
сПР	спонтанные преждевременные роды
ИЦН	истмико-цервикальная недостаточность
РДС	респираторный дистресс-синдром
НГТ	нижний генитальный тракт
АЖ	амниотическая жидкость
ЦВЖ	цервикавагинальная жидкость
КМ	кишечная микробиота
ГКС	глюкокортикостероиды
ВАИ	внутриамниотическая инфекция
МИАП	микробная инвазия в амниотическую полость
ВАВ	внутриамниотическое воспаление
ВУИ	внутриутробная инфекция
ПРПО	преждевременный разрыв плодных оболочек
ИЛ-6	интерлейкин-6
ММП	матриксный металлопротеиназ
ЛПС	липополисахарид
СВРП	система воспалительной реакции плода
СР	своевременные роды
БЛД	бронхолегочная дисплазия
ПВЛ	перивентрикулярная лейкомаляция
ВЖК	внутрижелудочковое кровоизлияние
РКИ	рандомизированное клиническое исследование
ЗЛП	зрелость легких плода
ВРТ	вспомогательная репродуктивная технология
ВОЗ	всемирная организация здравоохранения
ТА	трансабдоминальный амниоцентез
ВНР	врожденный порок развития
ИМТ	индекс массы тела
ИППП	Инфекции, передаваемые половым путем
ГСД	гестационный сахарный диабет

Список литературы

1. Preterm labour and birth. NICE guideline NG25. London: National Institute for Health and Care Excellence (UK). 2015.
2. *Blencowe H, Cousens S, Chou D, Oestergaard M, Say L, Moller A-B, Kinney M, Lawn J, Born Too Soon Preterm Birth Action Group.* Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod Health.* 2013;10 Suppl 1:S2. doi:10.1186/1742-4755-10-S1-S2.
3. *American College of Obstetricians and Gynecologists, Society for Maternal-Fetal Medicine.* ACOG Obstetric Care Consensus No. 3: Periviable Birth. *Obstet Gynecol.* 2015;126(5):e82-94. doi:10.1097/AOG.0000000000001105.
4. Клинические рекомендации «Преждевременные роды». Министерство Здравоохранения РФ. 2020;
5. *Trumello C, Candelori C, Cofini M, Cimino S, Cerniglia L, Paciello M, Babore A.* Mothers' Depression, Anxiety, and Mental Representations After Preterm Birth: A Study During the Infant's Hospitalization in a Neonatal Intensive Care Unit. *Front public Heal.* 2018;6:359. doi:10.3389/fpubh.2018.00359.
6. *Tawfik DS, Sexton JB, Kan P, Sharek PJ, Nisbet CC, Rigdon J, Lee HC, Profit J.* Burnout in the neonatal intensive care unit and its relation to healthcare-associated infections. *J Perinatol.* 2017;37(3):315–20. doi:10.1038/jp.2016.211.
7. *Chang HH, Larson J, Blencowe H, Spong CY, Howson CP, Cairns-Smith S, Lackritz EM, Lee SK, Mason E, Serazin AC, Walani S, Simpson JL, Lawn JE, Born Too Soon preterm prevention analysis group.* Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index. *Lancet (London, England).* 2013;381(9862):223–34. doi:10.1016/S0140-6736(12)61856-X.
8. *Romero R.* Prenatal medicine: The child is the father of the man*. *J Matern Neonatal Med.* 2009;22(8):636–9. doi:10.1080/14767050902784171.
9. *Romero R, Espinoza J, Kusanovic J, Gotsch F, Hassan S, Erez O, Chaiworapongsa T, Mazor M.* The preterm parturition syndrome. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113(SUPPL. 3):17–42. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01120.x.
10. *Di Renzo GC, Cabero Roura L, Facchinetti F, Helmer H, Hubinont C, Jacobsson B, Jørgensen JS, Lamont RF, Mikhailov A, Papantoniou N, Radzinsky V, Shennan A, Ville Y, Wielgos M, Visser GHA.* Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30(17):2011–30. doi:10.1080/14767058.2017.1323860.
11. *Romero R, Dey SK, Fisher SJ.* Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science (80-).* 2014;345(6198):760–5. doi:10.1126/science.1251816.
12. *Reekie J, Roberts C, Preen D, Hocking JS, Donovan B, Ward J, Mak DB, Liu B, Chlamydia and Reproductive Health Outcome Investigators.* Chlamydia trachomatis and the risk of spontaneous preterm birth, babies who are born small for gestational age, and stillbirth: a population-based cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18(4):452–60. doi:10.1016/S1473-3099(18)30045-8.
13. *Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaidler A, Egarter C, Husslein P.* Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(1):139–47. doi:10.1067/mob.2003.339.
14. *Ходжаева ЗС, Гусейнова ГЕ, Муравьева ВВ, Донников АЕ, Мишина НД, Припутневич ТВ.* Характеристика микробиоты влагалища у беременных с досрочным преждевременным разрывом плодных оболочек. *Акушерство и Гинекология.* 2019;12_2019:64–73. doi:10.18565/aig.2019.12.66-74.
15. *Donders GG, Van Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R, Van den Bosch T, Riphagen I, Van Lierde S.* Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis

- and aerobic vaginitis during the first trimester of pregnancy. *BJOG*. 2009;116(10):1315–24. doi:10.1111/j.1471-0528.2009.02237.x.
16. *Shimaoka M, Yo Y, Doh K, Kotani Y, Suzuki A, Tsuji I, Mandai M, Matsumura N*. Association between preterm delivery and bacterial vaginosis with or without treatment. *Sci Rep*. 2019;9(1):509. doi:10.1038/s41598-018-36964-2.
 17. *Czikk MJ, McCarthy FP, Murphy KE*. Chorioamnionitis: from pathogenesis to treatment. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(9):1304–11. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03574.x.
 18. *Oh KJ, Kim SM, Hong JS, Maymon E, Erez O, Panaitescu B, Gomez-Lopez N, Romero R, Yoon BH*. Twenty-four percent of patients with clinical chorioamnionitis in preterm gestations have no evidence of either culture-proven intraamniotic infection or intraamniotic inflammation [Internet]. Vol. 216, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Elsevier Inc.; 2017. 604.e1-604.e11. doi:10.1016/j.ajog.2017.02.035.
 19. *Gil AM, Duarte D*. Biofluid Metabolomics in Preterm Birth Research. *Reprod Sci*. 2018;25(7):967–77. doi:10.1177/1933719118756748.
 20. *Baraldi E, Giordano G, Stocchero M, Moschino L, Zaramella P, Tran MR, Carraro S, Romero R, Gervasi MT*. Untargeted Metabolomic Analysis of Amniotic Fluid in the Prediction of Preterm Delivery and Bronchopulmonary Dysplasia. *PLoS One*. 2016;11(10):e0164211. doi:10.1371/journal.pone.0164211.
 21. *Maddipati KR, Romero R, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Zhou S-L, Xu Z, Tarca AL, Kusanovic JP, Gomez R, Docheva N, Honn K V*. Clinical chorioamnionitis at term: the amniotic fluid fatty acyl lipidome. *J Lipid Res*. 2016;57(10):1906–16. doi:10.1194/jlr.P069096.
 22. *Stiemsma LT, Michels KB*. The Role of the microbiome in the developmental origins of health and disease. *Pediatrics*. 2018;141(4). doi:10.1542/peds.2017-2437.
 23. *Edwards SM, Cunningham SA, Dunlop AL, Corwin EJ*. The Maternal Gut Microbiome During Pregnancy. *MCN, Am J Matern Nurs*. 2017;1. doi:10.1097/NMC.0000000000000372.
 24. *Mokkala K, Røytiö H, Munukka E, Pietilä S, Ekblad U, Rönnemaa T, Eerola E, Laiho A, Laitinen K*. Gut Microbiota Richness and Composition and Dietary Intake of Overweight Pregnant Women Are Related to Serum Zonulin Concentration, a Marker for Intestinal Permeability. *J Nutr*. 2016;146(9):1694–700. doi:10.3945/jn.116.235358.
 25. *Cani PD, Osto M, Geurts L, Everard A*. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation and type 2 diabetes associated with obesity. *Gut Microbes*. 3(4):279–88. doi:10.4161/gmic.19625.
 26. *Manuel CR, Latuga MS, Ashby CR, Reznik SE*. Immune tolerance attenuates gut dysbiosis, dysregulated uterine gene expression and high-fat diet potentiated preterm birth in mice. *Am J Obstet Gynecol*. 2019;220(6):596.e1-596.e28. doi:10.1016/j.ajog.2019.02.028.
 27. *Chaemsaihong P, Romero R, Korzeniewski SJ, Martinez-Varea A, Dong Z, Yoon BH, Hassan SS, Chaiworapongsa T, Yeo L*. A rapid interleukin-6 bedside test for the identification of intra-amniotic inflammation in preterm labor with intact membranes. *J Matern Neonatal Med*. 2016;29(3):349–59. doi:10.3109/14767058.2015.1006620.
 28. *Romero R, Chaemsaihong P, Chaiyasit N, Docheva N, Dong Z, Kim CJ, Kim YM, Kim J-S, Qureshi F, Jacques SM, Yoon BH, Chaiworapongsa T, Yeo L, Hassan SS, Erez O, Korzeniewski SJ*. CXCL10 and IL-6: Markers of two different forms of intra-amniotic inflammation in preterm labor. *Am J Reprod Immunol*. 2017;78(1):e12685. doi:10.1111/aji.12685.
 29. *Maddipati KR, Romero R, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Zhou SL, Xu Z, Tarca AL, Kusanovic JP, Gomez R, Chaiyasit N, Honn K V*. Lipidomic analysis of patients with microbial invasion of the amniotic cavity reveals up-regulation of leukotriene B4. *FASEB J*. 2016;30(10):3296–307. doi:10.1096/fj.201600583R.
 30. *Parry S, Leite R, Esplin MS, Bukowski R, Zhang H, Varner M, Andrews WW, Saade GR, Ilekis J, Reddy UM, Huang H, Sadovsky Y, Blair IA, Biggio J*. Cervicovaginal fluid

- proteomic analysis to identify potential biomarkers for preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2019; doi:10.1016/j.ajog.2019.11.1252.
31. *Amabebe E, Reynolds S, He X, Wood R, Stern V, Anumba DOC.* Infection/inflammation-associated preterm delivery within 14 days of presentation with symptoms of preterm labour: A multivariate predictive model. *PLoS One.* 2019;14(9):e0222455. doi:10.1371/journal.pone.0222455.
 32. *DiGiulio DB, Romero R, Kusanovic JP, Gómez R, Kim CJ, Seok KS, Gotsch F, Mazaki-Tovi S, Vaisbuch E, Sanders K, Bik EM, Chaiworapongsa T, Oyarzún E, Relman DA.* Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm pre-labor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2010;64(1):38–57. doi:10.1111/j.1600-0897.2010.00830.x.
 33. *Asztalos E, Willan A, Murphy K, Matthews S, Ohlsson A, Saigal S, Armson A, Kelly E, Delisle M-F, Gafni A, Lee S, Sananes R, Rovet J, Guselle P, Amankwah K.* Association between gestational age at birth, antenatal corticosteroids, and outcomes at 5 years: multiple courses of antenatal corticosteroids for preterm birth study at 5 years of age (MACS-5). *BMC Pregnancy Childbirth.* 2014;14(1):272. doi:10.1186/1471-2393-14-272.
 34. *Kemp MW.* Preterm Birth, Intrauterine Infection, and Fetal Inflammation. *Front Immunol.* 2014;5(DEC):574. doi:10.3389/fimmu.2014.00574.
 35. *Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, Chaiworapongsa T, Mazor M.* The preterm parturition syndrome. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol.* 2006;113(SUPPL. 3):17–42. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01120.x.
 36. *Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM.* Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc.; 2015;213(4):S29–52. doi:10.1016/j.ajog.2015.08.040.
 37. *Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Yeo L.* Prevalence and clinical significance of sterile intra-amniotic inflammation in patients with preterm labor and intact membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;72(5):458–74. doi:10.1111/aji.12296.
 38. *Oh KJ, Kim SM, Hong J-S, Maymon E, Erez O, Panaitescu B, Gomez-Lopez N, Romero R, Yoon BH.* Twenty-four percent of patients with clinical chorioamnionitis in preterm gestations have no evidence of either culture-proven intraamniotic infection or intraamniotic inflammation. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(6):604.e1-604.e11. doi:10.1016/j.ajog.2017.02.035.
 39. *Myntti T, Rahkonen L, Nupponen I, Pätäri-Sampo A, Tikkanen M, Sorsa T, Juhila J, Andersson S, Paavonen J, Stefanovic V.* Amniotic Fluid Infection in Preterm Pregnancies with Intact Membranes. *Dis Markers.* 2017;2017. doi:10.1155/2017/8167276.
 40. *Park JW, Park KH, Jung EY.* Clinical significance of histologic chorioamnionitis with a negative amniotic fluid culture in patients with preterm labor and premature membrane rupture. Terry J, editor. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173312. doi:10.1371/journal.pone.0173312.
 41. *Galask RP, Varner MW, Rosemarie Petzold C, Wilbur SL.* Bacterial attachment to the chorioamniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;148(7):915–28. doi:10.1016/0002-9378(84)90534-9.
 42. *Gonçalves LF, Chaiworapongsa T, Romero R.* Intrauterine infection and prematurity. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev.* 2002;8(1):3–13. doi:10.1002/mrdd.10008.
 43. *Combs CA, Gravett M, Garite TJ, Hickok DE, Lapidus J, Porreco R, Rael J, Grove T, Morgan TK, Clewell W, Miller H, Luthy D, Pereira L, Nageotte M, Robilio PA, Fortunato S, Simhan H, Baxter JK, Amon E, et al.* Amniotic fluid infection, inflammation, and colonization in preterm labor with intact membranes. *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc; 2014;210(2):125.e1-125.e15. doi:10.1016/j.ajog.2013.11.032.
 44. *Committee on Obstetric Practice.* Committee Opinion No. 712: Intrapartum Management of Intraamniotic Infection. *Obstet Gynecol.* 2017;130(2):e95–101.

- doi:10.1097/AOG.0000000000002236.
45. *Fowler JR, Simon L V.* Chorioamnionitis [Internet]. StatPearls. 2019.
 46. *Romero R, Avila C, Brecus CA, Morotti R.* The Role of Systemic and Intrauterine Infection in Preterm Parturition. *Ann N Y Acad Sci.* 1991;622(1 The Primate E):355–75. doi:10.1111/j.1749-6632.1991.tb37880.x.
 47. *Steel JH, Malatos S, Kennea N, Edwards AD, Miles L, Duggan P, Reynolds PR, Feldman RG, Sullivan MHF.* Bacteria and Inflammatory Cells in Fetal Membranes Do Not Always Cause Preterm Labor. *Pediatr Res.* 2005;57(3):404–11. doi:10.1203/01.PDR.0000153869.96337.90.
 48. *Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B, Preterm Birth International Collaborative (PREBIC).* Maternal microbiome - A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):94–9. doi:10.1016/j.siny.2016.02.004.
 49. *Younes JA, Lievens E, Hummelen R, van der Westen R, Reid G, Petrova MI.* Women and Their Microbes: The Unexpected Friendship. *Trends Microbiol.* Elsevier Ltd; 2018;26(1):16–32. doi:10.1016/j.tim.2017.07.008.
 50. *Payne MS, Keelan JA, Stinson LF.* Re: “Amniotic fluid from healthy term pregnancies does not harbor a detectable microbial community” (2018) 6:87, <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0475-7>. *Microbiome.* Microbiome; 2019;7(1):20. doi:10.1186/s40168-019-0642-5.
 51. *Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM.* Sterile intra-amniotic inflammation in asymptomatic patients with a sonographic short cervix: Prevalence and clinical significance. *J Matern Neonatal Med.* 2015;28(11):1343–59. doi:10.3109/14767058.2014.954243.
 52. *Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L.* A Novel Molecular Microbiologic Technique for the Rapid Diagnosis of Microbial Invasion of the Amniotic Cavity and Intra-Amniotic Infection in Preterm Labor with Intact Membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;71(4):330–58. doi:10.1111/aji.12189.
 53. *Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaitong P, Gotsch F, Dong Z, Ahmed AI, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Yeo L.* Prevalence and Clinical Significance of Sterile Intra-amniotic Inflammation in Patients with Preterm Labor and Intact Membranes. *Am J Reprod Immunol.* 2014;72(5):458–74. doi:10.1111/aji.12296.
 54. *Gomez-Lopez N, Romero R, Panaitescu B, Leng Y, Xu Y, Tarca AL, Faro J, Pacora P, Hassan SS, Hsu C-D.* Inflammasome activation during spontaneous preterm labor with intra-amniotic infection or sterile intra-amniotic inflammation. *Am J Reprod Immunol.* 2018;80(5):e13049. doi:10.1111/aji.13049.
 55. *Chen GY, Nuñez G.* Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat Rev Immunol.* 2010;10(12):826–37. doi:10.1038/nri2873.
 56. *Boyle AK, Rinaldi SF, Norman JE, Stock SJ.* Preterm birth: Inflammation, fetal injury and treatment strategies. *J Reprod Immunol.* Elsevier Ireland Ltd; 2017;119:62–6. doi:10.1016/j.jri.2016.11.008.
 57. *Olson DM.* The role of prostaglandins in the initiation of parturition. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2003;17(5):717–30. doi:10.1016/S1521-6934(03)00069-5.
 58. *Boyle AK, Rinaldi SF, Norman JE, Stock SJ.* Preterm birth: Inflammation, fetal injury and treatment strategies. *J Reprod Immunol.* 2017;119:62–6. doi:10.1016/j.jri.2016.11.008.
 59. *Kim M-G, Shim J-Y, Pak JH, Jung B-K, Won H-S, Lee P-R, Kim A.* Progesterone Modulates the Expression of Interleukin-6 in Cultured Term Human Uterine Cervical Fibroblasts. *Am J Reprod Immunol.* 2012;67(5):369–75. doi:10.1111/j.1600-0897.2011.01094.x.
 60. *Cobo T, Kacerovsky M, Palacio M, Hornychova H, Hougaard DM, Skogstrand K, Jacobsson B.* Intra-Amniotic Inflammatory Response in Subgroups of Women with Preterm Prelabor Rupture of the Membranes. Kanellopoulos-Langevin C, editor. *PLoS One.* 2012;7(8):e43677. doi:10.1371/journal.pone.0043677.

61. *Lannon SMR, Vanderhoeven JP, Eschenbach DA, Gravett MG, Waldorf KMA.* Synergy and Interactions Among Biological Pathways Leading to Preterm Premature Rupture of Membranes. *Reprod Sci.* 2014;21(10):1215–27. doi:10.1177/1933719114534535.
62. *Keelan JA.* Intrauterine inflammatory activation, functional progesterone withdrawal, and the timing of term and preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2018;125(December 2017):89–99. doi:10.1016/j.jri.2017.12.004.
63. *Redline RW, Faye-Petersen O, Heller D, Qureshi F, Savell V, Vogler C.* Amniotic Infection Syndrome: Nosology and Reproducibility of Placental Reaction Patterns. *Pediatr Dev Pathol.* 2003;6(5):435–48. doi:10.1007/s10024-003-7070-y.
64. *Kim CJ, Romero R, Chaemsathong P, Chaiyasit N, Yoon BH, Kim YM.* Acute chorioamnionitis and funisitis: Definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc.; 2015;213(4):S29–52. doi:10.1016/j.ajog.2015.08.040.
65. *Torricelli M, Voltolini C, Toti P, Vellucci FL, Conti N, Cannoni A, Moncini I, Occhini R, Severi FM, Petraglia F.* Histologic chorioamnionitis: different histologic features at different gestational ages. *J Matern Neonatal Med.* 2014;27(9):910–3. doi:10.3109/14767058.2013.846313.
66. *Weder N, Zhang H, Jensen K, Yang BZ, Simen A, Jackowski A, Lipschitz D, Douglas-Palumberi H, Ge M, Perepletchikova F, O’Loughlin K, Hudziak JJ, Gelernter J, Kaufman J.* Child abuse, depression, and methylation in genes involved with stress, neural plasticity, and brain circuitry. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 2014;53(4):417–24.e5. doi:10.1016/j.jaac.2013.12.025.
67. *Oh KJ, Park KH, Kim S-N, Jeong EH, Lee SY, Yoon HY.* Predictive value of intra-amniotic and serum markers for inflammatory lesions of preterm placenta. *Placenta.* 2011;32(10):732–6. doi:10.1016/j.placenta.2011.07.080.
68. *Suff N, Karda R, Diaz JA, Ng J, Baruteau J, Perocheau D, Tangney M, Taylor PW, Peebles D, Buckley SMK, Waddington SN.* Ascending Vaginal Infection Using Bioluminescent Bacteria Evokes Intrauterine Inflammation, Preterm Birth, and Neonatal Brain Injury in Pregnant Mice. *Am J Pathol.* American Society for Investigative Pathology; 2018;188(10):2164–76. doi:10.1016/j.ajpath.2018.06.016.
69. *Gilman-Sachs A, Dambaeva S, Salazar Garcia MD, Hussein Y, Kwak-Kim J, Beaman K.* Inflammation induced preterm labor and birth. *J Reprod Immunol.* 2018;129(June):53–8. doi:10.1016/j.jri.2018.06.029.
70. *Hansen LK, Becher N, Bastholm S, Glavind J, Ramsing M, Kim CJ, Romero R, Jensen JS, Uldbjerg N.* The cervical mucus plug inhibits, but does not block, the passage of ascending bacteria from the vagina during pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2014;93(1):102–8. doi:10.1111/aogs.12296.
71. *Puhan MA, Chandra D, Mosenifar Z, Ries A, Make B, Hansel NN, Wise RA, Sciruba F.* The minimal important difference of exercise tests in severe COPD. *Eur Respir J.* 2011;37(4):784–90. doi:10.1183/09031936.00063810.
72. *Baker JM, Chase DM, Herbst-Kralovetz MM.* Uterine microbiota: Residents, tourists, or invaders? *Front Immunol.* 2018;9(MAR). doi:10.3389/fimmu.2018.00208.
73. *Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Pineles BL, Erez O, Espinoza J, Hassan SS.* The fetal inflammatory response syndrome. *Clin Obstet Gynecol.* 2007;50(3):652–83. doi:10.1097/GRF.0b013e31811ebef6.
74. *Leviton A, Allred EN, Kuban KCK, Hecht JL, Onderdonk AB, O’shea TM, Paneth N.* Microbiologic and histologic characteristics of the extremely preterm infant’s placenta predict white matter damage and later cerebral palsy. the ELGAN study. *Pediatr Res.* 2010;67(1):95–101. doi:10.1203/PDR.0b013e3181bf5fab.
75. *Leary RJ, Kinde I, Diehl F, Schmidt K, Clouser C, Duncan C, Antipova A, Lee C, McKernan K, De La Vega FM, Kinzler KW, Vogelstein B, Diaz LA, Velculescu VE.* Development of personalized tumor biomarkers using massively parallel sequencing. *Sci Transl Med.* 2010;2(20):20ra14. doi:10.1126/scitranslmed.3000702.

76. *Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Yoon BH, Mazor M, Berry SM.* Two thirds of human fetuses with microbial invasion of the amniotic cavity have a detectable systemic cyto-kine response before birth. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176(1):S14. doi:10.1016/S0002-9378(97)80102-0.
77. *Ozalkaya E, Karatekin G, Topcuoğlu S, Gürsoy T, Ovalı F.* Morbidity in preterm infants with fetal inflammatory response syndrome. *Pediatr Int.* 2016;58(9):850–4. doi:10.1111/ped.12895.
78. *Kramer BW, Kallapur SG, Moss TJM, Nitsos I, Polglase GP, Newnham JP, Jobe AH.* Modulation of fetal inflammatory response on exposure to lipopolysaccharide by chorioamnion, lung, or gut in sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;202(1):77.e1-77.e9. doi:10.1016/j.ajog.2009.07.058.
79. *Kemp MW, Kannan PS, Saito M, Newnham JP, Cox T, Jobe AH, Kramer BW, Kallapur SG.* Selective Exposure of the Fetal Lung and Skin/Amnion (but Not Gastro-Intestinal Tract) to LPS Elicits Acute Systemic Inflammation in Fetal Sheep. *Frasch MG, editor. PLoS One.* 2013;8(5):e63355. doi:10.1371/journal.pone.0063355.
80. *Hofer N, Kothari R, Morris N, Müller W, Resch B.* The fetal inflammatory response syndrome is a risk factor for morbidity in preterm neonates. *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc; 2013;209(6):542.e1-542.e11. doi:10.1016/j.ajog.2013.08.030.
81. *Francis F, Bhat V, Mondal N, Adhisivam B, Jacob S, Dorairajan G, Harish BN.* Fetal inflammatory response syndrome (FIRS) and outcome of preterm neonates—a prospective analytical study. *J Matern Neonatal Med.* 2019;32(3):488–92. doi:10.1080/14767058.2017.1384458.
82. *Liggins GC.* Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *J Endocrinol.* 1969;45(4):515–23. doi:10.1677/joe.0.0450515.
83. *Crowley PA.* Antenatal corticosteroid therapy: A meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(1):322–35. doi:10.1016/0002-9378(95)90222-8.
84. *Power KA.* Copyright ^a by The American College of Obstetricians and Gynecologists . Published by Wolters Kluwer Health , Inc . Unauthorized reproduction of this article is prohibited . 2014;126(4):2014. doi:10.1097/AOG.0000000000002623.
85. *Wilms FF, Vis JY, Pattinaja DAPM, Kuin RA, Stam MC, Reuvers JM, Mol BWJ.* Relationship between the time interval from antenatal corticosteroid administration until preterm birth and the occurrence of respiratory morbidity. *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc.; 2011;205(1):49.e1-49.e7. doi:10.1016/j.ajog.2011.03.035.
86. *Dixon LL, Too G, Saade GR, Gyamfi-Bannerman C.* Past and Present: A Review of Antenatal Corticosteroids and Recommendations for Late Preterm Birth Steroids. *Am J Perinatol.* 2018;1(212). doi:10.1055/s-0038-1653944.
87. *Asztalos E V., Murphy KE, Willan AR, Matthews SG, Ohlsson A, Saigal S, Armson BA, Kelly EN, Delisle MF, Gafni A, Lee SK, Sananes R, Rovet J, Guselle P, Amankwah K, Saleem M, Sanchez J.* Multiple courses of antenatal corticosteroids for preterm Birth study outcomes in children at 5 years of age (MACS-5). *JAMA Pediatr.* 2013;167(12):1102–10. doi:10.1001/jamapediatrics.2013.2764.
88. *Murphy KE, Hannah ME, Willan AR, Hewson SA, Ohlsson A, Kelly EN, Matthews SG, Saigal S, Asztalos E, Ross S, Delisle M-F, Amankwah K, Guselle P, Gafni A, Lee SK, Armson BA, MACS Collaborative Group.* Multiple courses of antenatal corticosteroids for preterm birth (MACS): a randomised controlled trial. *Lancet (London, England).* Elsevier; 2008 [cited 2018 Oct 21];372(9656):2143–51. doi:10.1016/S0140-6736(08)61929-7.
89. *Singh RR, Cuffe JS, Moritz KM.* Short- and long-term effects of exposure to natural and synthetic glucocorticoids during development. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39(11):979–89. doi:10.1111/1440-1681.12009.
90. *Sheen JM, Yu HR, Tiao MM, Chen CC, Huang LT, Chang HY, Tain YL.* Prenatal dexamethasone-induced programmed hypertension and renal programming. *Life Sci.*

- Elsevier Inc.; 2015;132:41–8. doi:10.1016/j.lfs.2015.04.005.
91. *Tsiarli MA, Rudine A, Kendall N, Pratt MO, Krall R, Thiels E, DeFranco DB, Monaghan AP.* Antenatal dexamethasone exposure differentially affects distinct cortical neural progenitor cells and triggers long-term changes in murine cerebral architecture and behavior. *Transl Psychiatry.* Nature Publishing Group; 2017;7(6):e1153. doi:10.1038/tp.2017.65.
 92. *Borges S, Coimbra B, Soares-Cunha C, Ventura-Silva AP, Pinto L, Carvalho MM, Pêgo JM, Rodrigues AJ, Sousa N.* Glucocorticoid programming of the mesopontine cholinergic system. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2013;4(DEC):1–11. doi:10.3389/fendo.2013.00190.
 93. *Miranda A, Sousa N.* Maternal hormonal milieu influence on fetal brain development. *Brain Behav.* 2018;8(2):1–23. doi:10.1002/brb3.920.
 94. Преждевременные роды Клинические рекомендации (протокол лечения). 2011;
 95. *ACOG; Committee on Obstetric Practice.* Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *Obstet Gynecol.* 2017;130(2):102–9. doi:10.1016/S0029-7844(02)02023-9.
 96. *Mitsiakos G, Kovacs L, Papageorgiou A.* Are antenatal steroids beneficial to severely growth restricted fetuses? *J Matern Neonatal Med.* 2013;26(15):1496–9. doi:10.3109/14767058.2013.789852.
 97. *Tita ATN, Jablonski KA, Bailit JL, Grobman WA, Wapner RJ, Reddy UM, Varner MW, Thorp JM, Leveno KJ, Caritis SN, Iams JD, Saade G, Sorokin Y, Rouse DJ, Blackwell SC, Tolosa JE, Wallace M, Northen A, Grant J, et al.* Neonatal outcomes of elective early-term births after demonstrated fetal lung maturity. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;219(3):296.e1–296.e8. doi:10.1016/j.ajog.2018.05.011.
 98. *Yarbrough ML, Gronowski AM.* Fetal lung maturity testing : the end of an era. 2014;8:509–15. doi:10.2217/bmm.14.7.
 99. *Welch RA, Recanati MA, Welch KC, Shaw MK.* Maternal plasma LPCAT 1 mRNA correlates with lamellar body count. *J Perinat Med.* 2018;46(4):429–31. doi:10.1515/jpm-2017-0057.
 100. *Szallasi A, Gronowski AM, Eby CS.* Lamellar body count in amniotic fluid: a comparative study of four different hematology analyzers. *Clin Chem.* 2003;49(6 Pt 1):994–7. doi:10.1373/49.6.994.
 101. *Beamon C, Carlson L, Rambally B, Berchuck S, Gearhart M, Hammett-Stabler C, Strauss R.* Predicting neonatal respiratory morbidity by lamellar body count and gestational age. *J Perinat Med.* 2016;44(6):677–83. doi:10.1515/jpm-2014-0310.
 102. *Lu J, Gronowski AM, Eby C.* Lamellar Body Counts Performed on Automated Hematology Analyzers to Assess Fetal Lung Maturity. *Lab Med.* 2008;39(7):419–23. doi:10.1309/TPM3HYJE475RYMA2.
 103. *Abdel-Razeq SS, Buhimschi IA, Bahtiyar MO, Rosenberg VA, Dulay AT, Han CS, Werner EF, Thung S, Buhimschi CS.* Interpretation of amniotic fluid white blood cell count in “bloody tap” amniocenteses in women with symptoms of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2010;116(2 Pt 1):344–54. doi:10.1097/AOG.0b013e3181e8fec6.
 104. *Marchocki Z, Vinturache A, Collins K, O’Reilly P, O’Donoghue K.* Amniotic fluid C-reactive protein as a predictor of infection in caesarean section: a feasibility study. *Sci Rep.* 2018;8(1):6372. doi:10.1038/s41598-018-24569-8.
 105. *Committee on Practice Bulletins—Obstetrics TAC of O and G.* Practice bulletin no. 130: prediction and prevention of preterm birth. *Obstet Gynecol.* 2012;120(4):964–73. doi:10.1097/AOG.0b013e3182723b1b.
 106. *Azad RK, Shulaev V.* Metabolomics technology and bioinformatics for precision medicine. *Brief Bioinform.* 2019;20(6):1957–71. doi:10.1093/bib/bbx170.
 107. *Clish CB.* Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine. *Mol Case Stud.* 2015;1(1):a000588. doi:10.1101/mcs.a000588.
 108. *Beger RD, Dunn W, Schmidt MA, Gross SS, Kirwan JA, Cascante M, Brennan L, Wishart DS, Oresic M, Hankemeier T, Broadhurst DI, Lane AN, Suhre K, Kastenmüller G, Sumner*

- SJ, Thiele I, Fiehn O, Kaddurah-Daouk R.* Metabolomics enables precision medicine: “A White Paper, Community Perspective.” *Metabolomics.* 2016;12(9):149. doi:10.1007/s11306-016-1094-6.
109. *Beger RD, Schmidt MA, Kaddurah-Daouk R.* Current Concepts in Pharmacometabolomics, Biomarker Discovery, and Precision Medicine. *Metabolites.* 2020;10(4):129. doi:10.3390/metabo10040129.
 110. *Wishart DS, Feunang YD, Marcu A, Guo AC, Liang K, Vázquez-Fresno R, Sajed T, Johnson D, Li C, Karu N, Sayeeda Z, Lo E, Assempour N, Berjanskii M, Singhal S, Arndt D, Liang Y, Badran H, Grant J, et al.* HMDB 4.0: the human metabolome database for 2018. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(D1):D608–17. doi:10.1093/nar/gkx1089.
 111. *Souza RT, Galvão RB, Leite DFB, Passini R, Baker P, Cecatti JG.* Use of metabolomics for predicting spontaneous preterm birth in asymptomatic pregnant women: protocol for a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 2019;9(3):e026033. doi:10.1136/bmjopen-2018-026033.
 112. *Souza RT, Mayrink J, Leite DF, Costa ML, Calderon IM, Rocha EA, Vettorazzi J, Feitosa FE, Cecatti JG.* Metabolomics applied to maternal and perinatal health: a review of new frontiers with a translation potential. *Clinics.* 2019;74. doi:10.6061/clinics/2019/e894.
 113. *Rappaport SM, Barupal DK, Wishart D, Vineis P, Scalbert A.* The blood exposome and its role in discovering causes of disease. *Environ Health Perspect.* 2014;122(8):769–74. doi:10.1289/ehp.1308015.
 114. *Chen C-Y, Essien MD, Johnson AJ, Lee GT, Chou F-S.* Use of mean platelet volume in the assessment of intrauterine infection in newborns with combined thrombocytopenia and leukopenia at birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;1–7. doi:10.1080/14767058.2019.1608174.
 115. *Menon R, Jones J, Gunst PR, Kacerovsky M, Fortunato SJ, Saade GR, Basraon S.* Amniotic Fluid Metabolomic Analysis in Spontaneous Preterm Birth. *Reprod Sci.* 2014;21(6):791–803. doi:10.1177/1933719113518987.
 116. *Elshenawy S, Pinney SE, Stuart T, Doulias P-T, Zura G, Parry S, Elovitz MA, Bennett MJ, Bansal A, Strauss JF, Ischiropoulos H, Simmons RA.* The Metabolomic Signature of the Placenta in Spontaneous Preterm Birth. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3). doi:10.3390/ijms21031043.
 117. *Mozurkewich EL, Klemens C.* Omega-3 fatty acids and pregnancy: current implications for practice. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2012;24(2):72–7. doi:10.1097/GCO.0b013e328350fd34.
 118. *Ghartey J, Bastek JA, Brown AG, Anglim L, Elovitz MA.* Women with preterm birth have a distinct cervicovaginal metabolome. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;212(6):776.e1-776.e12. doi:10.1016/j.ajog.2015.03.052.
 119. *Access O.* A review of 10 years of human microbiome research activities at the US National Institutes of Health, Fiscal Years 2007-2016. *Microbiome.* 2019;7(1):31. doi:10.1186/s40168-019-0620-y.
 120. *Manuscript A.* Nihms369735.Pdf. 2013;70(Suppl 1):1–12. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00493.x.Defining.
 121. *Power SE, O’Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF.* Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr.* 2014;111(3):387–402. doi:10.1017/S0007114513002560.
 122. *Kashtanova DA, Popenko AS, Tkacheva ON, Tyakht AB, Alexeev DG, Boytsov SA.* Association between the gut microbiota and diet: Fetal life, early childhood, and further life. *Nutrition.* 2016;32(6):620–7. doi:10.1016/j.nut.2015.12.037.
 123. *Kim CJ, Romero R, Chaemsaitong P, Kim J-S.* Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(4 Suppl):S53-69. doi:10.1016/j.ajog.2015.08.041.
 124. *Nuriel-Ohayon M, Neuman H, Koren O.* Microbial Changes during Pregnancy, Birth, and Infancy. *Front Microbiol.* 2016;7:1031. doi:10.3389/fmicb.2016.01031.

125. The microbiota – gut – brain axis. 2019;406(June):7440.
126. Zhang LS, Davies SS. Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: Opportunities for new therapeutic interventions. *Genome Med. Genome Medicine*; 2016;8(1):1–18. doi:10.1186/s13073-016-0296-x.
127. Sordillo JE, Korrick S, Laranjo N, Carey V, Weinstock GM, Gold DR, O'Connor G, Sandel M, Bacharier LB, Beigelman A, Zeiger R, Litonjua AA, Weiss ST. Association of the Infant Gut Microbiome With Early Childhood Neurodevelopmental Outcomes: An Ancillary Study to the VDAART Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw open*. 2019;2(3):e190905. doi:10.1001/jamanetworkopen.2019.0905.
128. Litonjua AA, Lange NE, Carey VJ, Brown S, Laranjo N, Harshfield BJ, O'Connor GT, Sandel M, Strunk RC, Bacharier LB, Zeiger RS, Schatz M, Hollis BW, Weiss ST. The Vitamin D Antenatal Asthma Reduction Trial (VDAART): Rationale, design, and methods of a randomized, controlled trial of vitamin D supplementation in pregnancy for the primary prevention of asthma and allergies in children. *Contemp Clin Trials*. 2014;38(1):37–50. doi:10.1016/j.cct.2014.02.006.
129. Esplin MS, O'Brien E, Fraser A, Kerber RA, Clark E, Simonsen SE, Holmgren C, Mineau GP, Varner MW. Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*. 2008;112(3):516–23. doi:10.1097/AOG.0b013e318184181a.
130. Laughon SK, Albert PS, Leishear K, Mendola P. The NICHD Consecutive Pregnancies Study: recurrent preterm delivery by subtype. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(2):131.e1-8. doi:10.1016/j.ajog.2013.09.014.
131. Berghella V, Saccone G. Fetal fibronectin testing for prevention of preterm birth in singleton pregnancies with threatened preterm labor: a systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(4):431–8. doi:10.1016/j.ajog.2016.04.038.
132. Boivin A, Luo Z-C, Audibert F, Mâsse B, Lefebvre F, Tessier R, Nuyt AM. Risk for preterm and very preterm delivery in women who were born preterm. *Obstet Gynecol*. 2015;125(5):1177–84. doi:10.1097/AOG.0000000000000813.
133. Федотовская ОИ, Ходжаева ЗС. Оптимизация акушерской тактики при преждевременных родах - роль клинических и молекулярно-генетических факторов. Автореф дисс к-та мед наук. 2014;145.
134. Basso O, Olsen J, Christensen K. Low birthweight and prematurity in relation to paternal factors: a study of recurrence. *Int J Epidemiol*. 1999;28(4):695–700. doi:10.1093/ije/28.4.695.
135. Lykke JA, Paidas MJ, Langhoff-Roos J. Recurring complications in second pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2009;113(6):1217–24. doi:10.1097/AOG.0b013e3181a66f2d.
136. Koike T, Minakami H, Kosuge S, Usui R, Matsubara S, Izumi A, Sato I. Uterine leiomyoma in pregnancy: its influence on obstetric performance. *J Obstet Gynaecol Res*. 1999;25(5):309–13. doi:10.1111/j.1447-0756.1999.tb01168.x.
137. Goisis A, Remes H, Martikainen P, Klemetti R, Myrskylä M. Medically assisted reproduction and birth outcomes: a within-family analysis using Finnish population registers. *Lancet (London, England)*. 2019;393(10177):1225–32. doi:10.1016/S0140-6736(18)31863-4.
138. Lykke JA, Dideriksen KL, Lidgaard O, Langhoff-Roos J. First-trimester vaginal bleeding and complications later in pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2010;115(5):935–44. doi:10.1097/AOG.0b013e3181da8d38.
139. Klein LL, Gibbs RS. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(6):1493–502. doi:10.1016/j.ajog.2004.03.014.
140. Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, Gotsch F, Hassan S, Erez O, Chaiworapongsa T, Mazor M. The preterm parturition syndrome. *BJOG*. 2006;113 Suppl:17–42. doi:10.1111/j.1471-0528.2006.01120.x.

141. *Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B.* Maternal microbiome – A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):94–9. doi:10.1016/j.siny.2016.02.004.
142. *Meis PJ, Michielutte R, Peters TJ, Wells HB, Sands RE, Coles EC, Johns KA.* Factors associated with preterm birth in Cardiff, Wales. I. Univariable and multivariable analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173(2):590–6. doi:10.1016/0002-9378(95)90287-2.
143. *Almario C V, Seligman NS, Dysart KC, Berghella V, Baxter JK.* Risk factors for preterm birth among opiate-addicted gravid women in a methadone treatment program. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(3):326.e1-6. doi:10.1016/j.ajog.2009.05.052.
144. *Grobman WA, Gilbert SA, Iams JD, Spong CY, Saade G, Mercer BM, Tita ATN, Rouse DJ, Sorokin Y, Leveno KJ, Tolosa JE, Thorp JM, Caritis SN, Van Dorsten JP, Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Maternal-Fetal Medicine Units (MFMU) Network.* Activity restriction among women with a short cervix. *Obstet Gynecol.* 2013;121(6):1181–6. doi:10.1097/AOG.0b013e3182917529.
145. *Newman RB, Goldenberg RL, Iams JD, Meis PJ, Mercer BM, Moawad AH, Thom E, Miodovnik M, Caritis SN, Dombrowski M, National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) Maternal-Fetal Medicine Units Network (MFMU).* Preterm prediction study: comparison of the cervical score and Bishop score for prediction of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2008;112(3):508–15. doi:10.1097/AOG.0b013e3181842087.
146. *Ehsanipoor RM, Seligman NS, Saccone G, Szymanski LM, Wissinger C, Werner EF, Berghella V.* Physical Examination-Indicated Cerclage: A Systematic Review and Meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2015;126(1):125–35. doi:10.1097/AOG.0000000000000850.
147. *Gyamfi C, Horton AL, Momirova V, Rouse DJ, Caritis SN, Peaceman AM, Sciscione A, Meis PJ, Spong CY, Dombrowski M, Sibai B, Varner MW, Iams JD, Mercer BM, Carpenter MW, Lo J, Ramin SM, O’Sullivan MJ, Miodovnik M, et al.* The effect of 17-alpha hydroxyprogesterone caproate on the risk of gestational diabetes in singleton or twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2009;201(4):392.e1-392.e5. doi:10.1016/j.ajog.2009.06.036.
148. *Ting H-S, Chin P-S, Yeo GSH, Kwek K.* Comparison of bedside test kits for prediction of preterm delivery: phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 (pIGFBP-1) test and fetal fibronectin test. *Ann Acad Med Singapore.* 2007;36(6):399–402.
149. *Alfirevic Z, Allen-Coward H, Molina F, Vinuesa CP, Nicolaidis K.* Targeted therapy for threatened preterm labor based on sonographic measurement of the cervical length: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(1):47–50. doi:10.1002/uog.3908.
150. *Ehsanipoor RM, Swank ML, Jwa SC, Wing DA, Tarabulsi G, Blakemore KJ.* Placental α -Microglobulin-1 in Vaginal Secretions of Women with Evidence of Preterm Labor. *Am J Perinatol.* 2016;33(2):208–13. doi:10.1055/s-0035-1563710.
151. *Kemp MW.* Preterm birth, intrauterine infection, and fetal inflammation. *Front Immunol.* 2014;5:574. doi:10.3389/fimmu.2014.00574.
152. *Corabian P.* The ACTIM™ PARTUS versus THE TLIIQ ® SYSTEM as rapid response tests to aid in diagnosing preterm labour in symptomatic women. In: Institute of Health Economics, Canada. 2008.
153. *Park JW, Park KH, Jung EY.* Clinical significance of histologic chorioamnionitis with a negative amniotic fluid culture in patients with preterm labor and premature membrane rupture. *PLoS One.* 2017;12(3):1–11. doi:10.1371/journal.pone.0173312.
154. *Gabbay Ben Ziv R, Ben-Haroush A, Yogev Y, Meizner I, Pardo J.* Risk of preterm delivery following late amniocentesis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2010;36(S1):205–205. doi:10.1002/uog.8436.
155. *Maki Y, Furukawa S, Kodama Y, Sameshima H, Ikenoue T.* Amniocentesis for threatened preterm labor with intact membranes and the impact on adverse outcome in infants born at

- 22 to 28 weeks of gestation. *Early Hum Dev.* Elsevier Ireland Ltd.; 2015;91(5):333–7. doi:10.1016/j.earlhumdev.2015.03.006.
156. *Williams SF.* Pregnancy Outcomes after Late Second Trimester Amniocentesis for Prenatal Diagnosis. *J Gynecol Obstet.* 2015;2(4):59. doi:10.11648/j.jgo.20140204.13.
 157. *Gouyon J-B, Vintejoux A, Sagot P, Burguet A, Quantin C, Ferdynus C, Burgundy Perinatal Network.* Neonatal outcome associated with singleton birth at 34-41 weeks of gestation. *Int J Epidemiol.* 2010;39(3):769–76. doi:10.1093/ije/dyq037.
 158. *Myra J, Roger H.* Mayo Clinic Guide to a Healthy Pregnancy. HarperCollins Publishers; 2004.
 159. *Grannum.* Ultrasound Examination of the Placenta. *Clin Obs Gynaecol.* 1983;10(3):459–73.
 160. *Анкурская АС, Муравьева ВВ.* Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов. Акушерство и гинекология Новости Мнения Обучения. 2020;1:69–76.
 161. Preterm labour and birth: NICE guideline [NG25]. *Natl Inst Heal Care Excell.* 2015;
 162. *Westover AJ, Moss TJM.* Effects of intrauterine infection or inflammation on fetal lung development. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2012;39(9):824–30. doi:10.1111/j.1440-1681.2012.05742.x.
 163. *Surendran S.* Upregulation of N-acetylaspartic acid alters inflammation, transcription and contractile associated protein levels in the stomach and smooth muscle contractility. *Mol Biol Rep.* 2009;36(1):201–6. doi:10.1007/s11033-007-9167-2.
 164. *Surendran S, Bhatnagar M.* Upregulation of N-acetylaspartic acid induces oxidative stress to contribute in disease pathophysiology. *Int J Neurosci.* 2011;121(6):305–9. doi:10.3109/00207454.2011.558225.
 165. *Lee JH, Park E, Jin HJ, Lee Y, Choi SJ, Lee GW, Chang P-S, Paik H-D.* Anti-inflammatory and anti-genotoxic activity of branched chain amino acids (BCAA) in lipopolysaccharide (LPS) stimulated RAW 264.7 macrophages. *Food Sci Biotechnol.* 2017;26(5):1371–7. doi:10.1007/s10068-017-0165-4.
 166. *Zegels G, Van Raemdonck GA, Tjalma WA, Van Ostade XW.* Use of cervicovaginal fluid for the identification of biomarkers for pathologies of the female genital tract. *Proteome Sci.* 2010;8:63. doi:10.1186/1477-5956-8-63.
 167. *Grimolizzi F, Arranz L.* Multiple faces of succinate beyond metabolism in blood. *Haematologica.* 2018;103(10):1586–92. doi:10.3324/haematol.2018.196097.
 168. *Vinturache AE, Gyamfi-Bannerman C, Hwang J, Mysorekar IU, Jacobsson B.* Maternal microbiome - A pathway to preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016;21(2):94–9. doi:10.1016/j.siny.2016.02.004.
 169. *Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G.* Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev.* 2017;279(1):70–89. doi:10.1111/imr.12567.
 170. *Lucovnik M, Chambliss LR, Garfield RE.* Costs of unnecessary admissions and treatments for “threatened preterm labor.” *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209(3):217.e1-217.e3. doi:10.1016/j.ajog.2013.06.046.
 171. *Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R.* Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet (London, England).* 2008;371(9606):75–84. doi:10.1016/S0140-6736(08)60074-4.
 172. *Fuchs F, Monet B, Ducruet T, Chaillet N, Audibert F.* Effect of maternal age on the risk of preterm birth: A large cohort study. *PLoS One.* 2018;13(1):e0191002. doi:10.1371/journal.pone.0191002.
 173. *McDonald SD, Han Z, Mulla S, Beyene J, Knowledge Synthesis Group.* Overweight and obesity in mothers and risk of preterm birth and low birth weight infants: systematic review and meta-analyses. *BMJ.* 2010;341:c3428. doi:10.1136/bmj.c3428.
 174. *McCarthy FP, Khashan AS, North RA, Rahma MB, Walker JJ, Baker PN, Dekker G, Poston*

- L, McCowan LME, O'Donoghue K, Kenny LC.* Pregnancy loss managed by cervical dilatation and curettage increases the risk of spontaneous preterm birth. *Hum Reprod.* 2013;28(12):3197–206. doi:10.1093/humrep/det332.
175. *Averbach SH, Seidman D, Steinauer J, Darney P.* Re: Prior uterine evacuation of pregnancy as independent risk factor for preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216(1):87. doi:10.1016/j.ajog.2016.08.038.
 176. *Pérez-Roncero GR, López-Baena MT, Ornat L, Cuerva MJ, Garcia-Casarrubios P, Chedraui P, Pérez-López FR.* Uterine fibroids and preterm birth risk: A systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Res.* 2020;46(9):1711–27. doi:10.1111/jog.14343.
 177. *Ahmed SR, El-Sammani ME-K, Al-Sheeha MA-A, Aitallah AS, Jabin Khan F, Ahmed SR.* Pregnancy outcome in women with threatened miscarriage: a year study. *Mater Sociomed.* 2012;24(1):26–8. doi:10.5455/msm.2012.24.26-28.
 178. *Brown RG, Al-Memar M, Marchesi JR, Lee YS, Smith A, Chan D, Lewis H, Kindinger L, Terzidou V, Bourne T, Bennett PR, MacIntyre DA.* Establishment of vaginal microbiota composition in early pregnancy and its association with subsequent preterm prelabor rupture of the fetal membranes. *Transl Res.* 2019;207:30–43. doi:10.1016/j.trsl.2018.12.005.
 179. *Lao T.* Does maternal glucose intolerance affect the length of gestation in singleton pregnancies? *J Soc Gynecol Investig.* 2003;10(6):366–71. doi:10.1016/S1071-5576(03)00115-1.
 180. *King J, Flenady V.* Antibiotics for preterm labour with intact membranes. *Cochrane database Syst Rev.* 2000;(2):CD000246. doi:10.1002/14651858.CD000246.
 181. *Papastefanou I, Pilalis A, Eleftheriades M, Souka AP.* Prediction of Preterm Delivery by Late Cervical Length Measurement after 24 Weeks. *Fetal Diagn Ther.* 2015;38(3):200–4. doi:10.1159/000381144.
 182. *Ples L, Sima R-M, Ricu A, Moga M-A, Ionescu A-C.* The efficacy of cervical cerclage combined with a pessary for the prevention of spontaneous preterm birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2019;1–5. doi:10.1080/14767058.2019.1670789.
 183. *Ma M, Zhu M, Zhuo B, Li L, Chen H, Xu L, Wu Z, Cheng F, Xu L, Yan J.* Use of complete blood count for predicting preterm birth in asymptomatic pregnant women: A propensity score-matched analysis. *J Clin Lab Anal.* 2020;34(8):e23313. doi:10.1002/jcla.23313.
 184. *Zhou P, Zhou Y, Liu B, Jin Z, Zhuang X, Dai W, Yang Z, Feng X, Zhou Q, Liu Y, Xu X, Zhang L.* Perinatal Antibiotic Exposure Affects the Transmission between Maternal and Neonatal Microbiota and Is Associated with Early-Onset Sepsis. *Bradford PA, editor. mSphere.* 2020;5(1). doi:10.1128/mSphere.00984-19.
 185. *Drew RJ, LeBlanc L, Kent E, Eogan M.* Relationship between absence of lactobacilli in the vagina of pregnant women and preterm birth: A retrospective pilot study. *Obstet Gynecol Reports.* 2018;2(2). doi:10.15761/OGR.1000128.
 186. *de Freitas AS, Dobbler PCT, Mai V, Procianoy RS, Silveira RC, Corso AL, Roesch LFW.* Defining microbial biomarkers for risk of preterm labor. *Braz J Microbiol.* 2020;51(1):151–9. doi:10.1007/s42770-019-00118-x.
 187. *Gomez-Lopez N, Romero R, Xu Y, Leng Y, Garcia-Flores V, Miller D, Jacques SM, Hassan SS, Faro J, Alsamsam A, Alhousseini A, Gomez-Roberts H, Panaitescu B, Yeo L, Maymon E.* Are amniotic fluid neutrophils in women with intraamniotic infection and/or inflammation of fetal or maternal origin? *Am J Obstet Gynecol.* Elsevier Inc.; 2017;217(6):693.e1-693.e16. doi:10.1016/j.ajog.2017.09.013.
 188. *Gomez-Lopez N, Romero R, Garcia-Flores V, Xu Y, Leng Y, Alhousseini A, Hassan SS, Panaitescu B.* Amniotic fluid neutrophils can phagocytize bacteria: A mechanism for microbial killing in the amniotic cavity. *Am J Reprod Immunol.* 2017;78(4):e12723. doi:10.1111/aji.12723.
 189. *Moss TJM, Westover AJ.* Inflammation-induced preterm lung maturation: lessons from animal experimentation. *Paediatr Respir Rev.* 2017;23:72–7.

- doi:10.1016/j.prrv.2016.10.004.
190. Park H, Park KH, Kim YM, Kook SY, Jeon SJ, Yoo H-N. Plasma inflammatory and immune proteins as predictors of intra-amniotic infection and spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: a retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2018;18(1):146. doi:10.1186/s12884-018-1780-7.
 191. Keiran N, Ceperuelo-Mallafré V, Calvo E, Hernández-Alvarez MI, Ejarque M, Núñez-Roa C, Horrillo D, Maymó-Masip E, Rodríguez MM, Fradera R, de la Rosa JV, Jorba R, Megia A, Zorzano A, Medina-Gómez G, Serena C, Castrillo A, Vendrell J, Fernández-Veledo S. SUCNR1 controls an anti-inflammatory program in macrophages to regulate the metabolic response to obesity. *Nat Immunol*. 2019;20(5):581–92. doi:10.1038/s41590-019-0372-7.
 192. Guo AC, Jewison T, Wilson M, Liu Y, Knox C, Djoumbou Y, Lo P, Mandal R, Krishnamurthy R, Wishart DS. ECMDDB: the E. coli Metabolome Database. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D625-30. doi:10.1093/nar/gks992.
 193. Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto J-M, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature*. 2011;473(7346):174–80. doi:10.1038/nature09944.
 194. Hughes ER, Winter MG, Duerkop BA, Spiga L, Furtado de Carvalho T, Zhu W, Gillis CC, Büttner L, Smoot MP, Behrendt CL, Cherry S, Santos RL, Hooper LV, Winter SE. Microbial Respiration and Formate Oxidation as Metabolic Signatures of Inflammation-Associated Dysbiosis. *Cell Host Microbe*. 2017;21(2):208–19. doi:10.1016/j.chom.2017.01.005.
 195. Litvak Y, Byndloss MX, Tsolis RM, Bäuml AJ. Dysbiotic Proteobacteria expansion: a microbial signature of epithelial dysfunction. *Curr Opin Microbiol*. 2017;39:1–6. doi:10.1016/j.mib.2017.07.003.
 196. Cani PD, Bibiloni R, Knauf C, Waget A, Neyrinck AM, Delzenne NM, Burcelin R. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008;57(6):1470–81. doi:10.2337/db07-1403.
 197. Savitz DA, Terry JW, Dole N, Thorp JM, Siega-Riz AM, Herring AH. Comparison of pregnancy dating by last menstrual period, ultrasound scanning, and their combination. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187(6):1660–6. doi:10.1067/mob.2002.127601.
 198. РФ МЗ. Клинические рекомендации «Нормальная беременность». 2020;
 199. Lau CSM, Chamberlain RS, Sun S. Less Invasive Surfactant Administration Reduces the Need for Mechanical Ventilation in Preterm Infants. *Glob Pediatr Heal*. 2017;4:2333794X1769668. doi:10.1177/2333794X17696683.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1: Алгоритм формирования когорты пациенток высокого риска ПР и их антенатального менеджмента



ПРИЛОЖЕНИЕ 2: 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 3: Анкета

1. Принимали ли Вы антибактериальные препараты (антибиотики) во время беременности?

- Нет
- Да:
- 1 триместр
 - 2 триместр
 - 3 триместр (указать приблизительный срок) _____ недель

2. Ваши пищевые предпочтения во время беременности?

- Разнообразное питание, в том числе вредные продукты (фастфуд, чипсы и тд)
- Разнообразное правильное питание
- Исключение углеводов
- Исключение белков
- Исключение жиров

3. Есть ли у Вас домашние животные?

- Нет
- Да

4. Курите ли Вы?

- Нет
- Да:
- до беременности
 - во время беременности

5. Ваш вес и рост до беременности? _____ см, _____ кг

6. Сколько Вы прибавили в массе за беременность? _____ кг

7. Характер стула:

- До беременности:
- Ежедневно, без натуживания
 - Ежедневно, без натуживания, однако необходимо соблюдать диету
 - Один раз в несколько дней
 - Один раз в несколько дней, только после приема слабительного
- Во время беременности:
- Ежедневно, без натуживания
 - Ежедневно, без натуживания, однако необходимо соблюдать диету
 - Один раз в несколько дней
 - Один раз в несколько дней, только после приема слабительного