

*На правах рукописи*

**КОКОЕВА**

**Диана Николаевна**

**ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
ФАКТОРОВ ВРОЖДЕННОГО ИММУНИТЕТА  
ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ**

**14.01.01 – акушерство и гинекология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

**Москва – 2021**

Работа выполнена в ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Тютюнник Виктор Леонидович

Официальные оппоненты:

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

Цахилова Светлана Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии стоматологического факультета, профессор кафедры

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета

Защита состоится «18» мая 2021 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина д. 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

[http://www.science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Kokoeva/D.N.-dissertation\\_1.pdf](http://www.science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Kokoeva/D.N.-dissertation_1.pdf)

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Проблема преждевременных родов не теряет своей актуальности и по-прежнему остается в числе важнейших причин перинатальной заболеваемости и смертности (Адамян Л.В. и соавт., 2014; Серова О.Ф. и соавт., 2015; Janssen V.G. et al., 2017; Gomez-Lopez N. et al., 2019). Частота преждевременных родов в развитых странах варьирует в пределах от 7 до 9%, а в развивающихся достигает 20% не имея тенденции к снижению (Ходжаева З.С. и соавт., 2016; Leal M.D. et al., 2016; Vogel J.P. et al., 2018). Дети рожденные с очень низкой и экстремально низкой массой тела имеют тяжелые последствия для здоровья, что, несомненно, определяет значимость и необходимость поиска причин, а также методов профилактики данного осложнения беременности (Радзинский В.Е. и соавт., 2017; Liu L. et al., 2016; Areia A.L. et al., 2019; Daskalakis G. et al., 2019).

На сегодняшний день патогенез преждевременных родов до конца не изучен, а предрасположенность к их развитию может быть обусловлена различными факторами (Савельева Г.М. и соавт., 2012; Серов В.Н. и соавт., 2014; Jiang M. et al., 2018; Shen Z.Z. et al., 2019).

По механизму реализации преждевременные роды принято разделять на спонтанные и инициированные преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО). В классическом представлении спонтанные преждевременные роды реализуются вследствие активации материнской и/или плодовой гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, тромбофилических нарушений, перерастяжения миометрия вследствие многоводия, многоплодия и пороков развития матки. ПРПО, как правило, обусловлен локальным или системным воспалительным процессом (Сидорова И.С. и соавт., 2014; Кан Н.Е. и соавт., 2016; Buck J.N., 2016; Ville Y. et al., 2018).

Несмотря на то, что преждевременные роды являются результатом воздействия сразу нескольких факторов, в последние годы все большее значение в их развитии отводится системному воспалительному ответу (СВО) (Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2016; Romero R. et al., 2016; Vogel J.P. et al., 2018), одним

их механизмов развития которого является активация факторов врожденного иммунитета, в связи с чем их роль в реализации данного осложнения имеет большое значение (Сухих Г.Т. и соавт., 2014; Тютюнник В.Л. и соавт., 2019; Arenas-Hernandez M. et al., 2016; Romero R. et al., 2017). Факторы врожденного иммунитета принимают непосредственное участие в воспалительном ответе, являясь наследственно закрепленной системой защиты организма от патогенных микроорганизмов, а также эндогенных продуктов клеточной и тканевой деструкции, к которым относится DAMPs (факторы, ассоциированные с повреждением клеточных структур) (Тетруашвили Н.К. и соавт., 2018; Menon R. et al., 2014). Согласно данным литературы в рамках концепции роли асептического воспаления в генезе больших акушерских синдромов, в том числе и при преждевременных родах DAMPs отводится особое значение (Высоких М.Ю. и соавт., 2017; Chaemsaitong P. et al., 2016; Cappelletti M. et al., 2017). Эффекторное действие DAMPs в сочетании с их провоспалительным действием может выполнять роль триггера, вызывающего воспалительный ответ, который в свою очередь приводит к реализации преждевременных родов (Баев О.Р. и соавт., 2017; Romero R. et al., 2011; Menon R. et al., 2016; Brien M.E. et al., 2019). Данный механизм остается малоизученным, в связи с чем представляет особый интерес изучение взаимосвязи между уровнем DAMPs митохондриального происхождения (мтДНК, мембранные белки), выраженностью окислительного стресса, изменениями факторов врожденного иммунитета и вероятностью реализации преждевременных родов.

Вышеизложенное послужило предпосылкой для выполнения данного исследования с целью уточнения новых звеньев патогенеза, прогнозирования и диагностики преждевременных родов.

#### Степень разработанности темы исследования

В снижении перинатальной заболеваемости особое значение имеют вопросы, связанные с ранней диагностикой, прогнозированием и выбором рациональной тактики при преждевременных родах (Ходжаева З.С. и соавт., 2020;

R. Romero et al., 2014). Досрочное родоразрешение является глобальной проблемой современного акушерства, которое сопряжено с высоким уровнем инвалидизации новорожденных, что диктует необходимость пересмотра некоторых аспектов акушерской тактики (Баев О.Р. и соавт., 2017; Muñoz-Pérez V.M. et al., 2019). Неоднозначен вопрос о пролонгировании беременности при различных акушерских синдромах, так как с одной стороны увеличивает риск заболеваемости матери, а с другой стороны, с позиции перинатального акушерства – пролонгирование беременности позволяет значительно увеличить выживаемость новорожденных и снизить частоту отдаленных неонатальных последствий (Баранов И.И. и соавт., 2017; Lee A.C. et al., 2019). В работах Н.Е. Кан и соавт. (2018) и M. Arenas-Hernandez et al. (2016) отмечена связь активации факторов врожденного иммунитета с реализацией преждевременных родов. В исследованиях R. Romero et al. (2011) и A.K. Müller-Rischart et al. (2013) было показано, что повышение уровня DAMPs митохондриального происхождения свидетельствует о наличии оксидативного стресса, который характерен для системного воспалительного ответа, увеличивая при этом вероятность реализации преждевременных родов.

Вышеизложенное послужило основой углубленного изучения данного вопроса в представленном нами исследовании.

#### Цель исследования

Оценить диагностическое значение факторов врожденного иммунитета и маркеров повреждения клеточных структур для оптимизации тактики ведения преждевременных родов.

#### Задачи исследования

1. Изучить клинико-anamnestические данные и особенности течения беременности, родов, послеродового периода, а также состояние плода и новорожденного при преждевременных родах.
2. Оценить состояние локального звена врожденного иммунитета путем определения профиля экспрессии цитокинов в вагинальном соскобе при преждевременных родах.

3. Провести анализ копийности митохондриальной ДНК в периферической крови при физиологической беременности, преждевременных и своевременных родах.

4. Установить взаимосвязь содержания структурно-функционального белка митохондрий (VDAC1) в плаценте с выраженностью окислительного стресса при преждевременных родах.

5. Разработать алгоритм диагностики и прогнозирования преждевременных родов с учетом выявленных изменений факторов локального звена врожденного иммунитета и маркеров системного воспалительного ответа.

#### Научная новизна

Изучен количественный и качественный состав митохондриальных DAMPs в периферической крови при физиологически протекающей беременности, при спонтанных преждевременных родах и с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Установлены зависимости между уровнем DAMPs митохондриального происхождения (мтДНК, мембранные белки) с выраженностью окислительного стресса.

Показана взаимосвязь локального воспаления на фоне дисбиотических нарушений с вероятностью реализации преждевременных родов.

Уточнена роль оксидативного стресса митохондриального происхождения в развитии преждевременных родов.

#### Теоретическая и практическая значимость

Установлено, что в группу риска по реализации преждевременных родов следует включать беременных с заболеваниями мочеполовой системы (хронический цистит), внутриматочными инструментальными вмешательствами, преждевременными родами и неразвивающейся беременностью в анамнезе.

Выявлено значимое повышение уровня мтДНК при спонтанных преждевременных родах и при разрыве плодных оболочек, а также установлены референсные значения.

Рекомендовано при поступлении в стационар пациенток с угрожающими преждевременными родами для персонализированного прогнозирования и возможности выбора тактики ведения, помимо стандартного перечня исследований, проведение определения уровня копийности митохондриальной ДНК.

Предложены диагностические критерии, включающие определение профиля экспрессии цитокинов в вагинальном отделяемом и уровня мтДНК для ранней диагностики преждевременных родов, что обеспечивает своевременное проведение комплекса профилактических и терапевтических мероприятий.

Внедрение разработанного алгоритма в акушерскую практику позволяет оптимизировать диагностику и прогнозирование преждевременных родов для улучшения перинатальных исходов.

#### Положения, выносимые на защиту

1. Риск реализации преждевременных родов как спонтанных, так и с преждевременным разрывом плодных оболочек ассоциирован сочетанием дисбиоза с локальным воспалением. Вероятность пролонгирования беременности зависит от совокупности качественных и количественных показателей микробиоценоза влагалища и достигает при сочетании нормоценоза без локального воспаления – 81,8%, а при сочетании локальной воспалительной реакции и дисбиотических нарушений – 7,0%.

2. Преждевременные роды сопровождаются повышением содержания в плаценте структурно-функционального белка (VDAC1), относящегося к DAMPs и являющегося триггером апоптоза, что отражает развитие окислительного стресса вследствие нарушения баланса про- и антиоксидантных систем.

3. Определение уровня копийности митохондриальной ДНК в периферической крови сопровождается нарушением функции рецепторных систем, контролирующих продукцию активных форм кислорода и отражающее

наличие системного воспалительного ответа, может быть использовано в качестве неинвазивного предиктора при преждевременных родах с чувствительностью 77% и специфичностью 93%.

#### Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе темы научной работы, определении и постановке цели и задач исследования, разработке дизайна, систематизации данных литературы по теме диссертации и анализе клинико-анамнестических данных, лично осуществлял обследование и ведение женщин на всех этапах беременности, родов и в послеродовом периоде. Автором производился забор биологического материала, а также интерпретация лабораторных результатов. Диссертантом проведен анализ медицинской документации, обобщение и статистическая обработка данных, а также научное обобщение полученных результатов.

#### 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, 3 и 4 паспорта «акушерство и гинекология».

#### Апробация результатов

Основные положения работы представлены на: XVIII<sup>ом</sup> и XX<sup>ом</sup> Российских форумах «Мать и дитя» (Москва, 2017, 2019), Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика» (Москва, 2016), X<sup>ом</sup> Юбилейном региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Геленджик, 2017), XII<sup>ом</sup> Международном конгрессе по репродуктивной медицине» (Москва, 2018). Результаты исследования доложены на конкурсе молодых ученых на XIX<sup>ом</sup> Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2018).

Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (22 июня 2020 года, протокол № 7).



### Внедрение результатов исследования

Разработанная на основании результатов исследования тактика персонализированного подхода и алгоритм диагностики и прогнозирования преждевременных родов с учетом молекулярно-генетических маркеров внедрена в практическую деятельность акушерских отделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Материалы и результаты, полученные в ходе работы, используются в учебном процессе в виде практических занятий и лекций для клинических ординаторов, аспирантов, а также для повышения квалификации врачей из различных регионов России, работающих в системе специализированной акушерско-гинекологической помощи.

### Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 8 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК.

Получен патент на изобретение № 2682713 от 21 марта 2019 г. (заявка 2018108827 от 13 марта 2018 г.) «Прогнозирование преждевременных путем совместного определения внеклеточной ДНК и интерлейкина-8 в плазме периферической крови».

### Структура и объем диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа изложена на 134 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 41 рисунком и 18 таблицами. Библиографический указатель включает 238 работ цитируемых авторов, из них 68 на русском и 170 на иностранных языках.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материал и методы исследования

Для уточнения факторов риска развития преждевременных родов было проведено проспективное исследование, в которое были включены 142 бере-

менные, родоразрешенные на базах ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, а также в ГБУЗ «Городская клиническая больница № 24 Департамента здравоохранения Москвы» – «Перинатальный центр» в период с 01.10.2014 г по 01.10.2018 г. Все беременные были включены в исследование по обращаемости. В соответствии с полученными данными клинко-лабораторного обследования, поставленным диагнозом и разработанными критериями включения, пациентки были разделены на 3 группы. Группу 1 составили 43 беременных со спонтанными преждевременными родами (СПР), группу 2 – 47 женщин с преждевременными родами и преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО), группу 3 – 52 случая угрожающих преждевременных родов с последующим родоразрешением при доношенном сроке беременности. Для выявления более точных референсных значений была дополнительно включена группа из 50 пациенток с физиологическим течением беременности и своевременными родами (СР).

Критериями включения в исследование явились: одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле, информированное согласие на участие в исследовании. Критерии невключения для всех участников исследования – абдоминальное родоразрешение, тяжелая экстрагенитальная патология, акушерские осложнения, требующие экстренного досрочного родоразрешения, задержка роста и врожденные пороки развития плода, многоплодная беременность, ВИЧ-инфекция.

Всем пациенткам был выполнен стандартный набор обследования согласно приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01 ноября 2012 года № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». Было проведено изучение клинко-anamнестических данных, особенностей течения, исходов беременностей, а также изучение состояния плодов и новорожденных. Наряду со стандартными методами в работе применялись: оценка микробиоценоза

влагалища методом «Фемофлор»; исследование локального воспалительного процесса во влагалище по профилю экспрессии мРНК генов цитокинов; определение уровня копийности митохондриальной ДНК в плазме периферической крови (метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)); определение уровня содержания структурно-функционального белка VDAC1, глутатионпероксидазы и каталазы в образцах плаценты (метод вестерн-блот).

Все результаты вносились в специально разработанную тематическую карту и в электронные таблицы с последующим анализом при помощи современных методов статистической обработки.

### Результаты исследования и их обсуждение

Все беременные, включенные в исследование, были сопоставимы по клинико-anamnestической характеристике. Анализ массо-ростовых показателей отклонений от популяционных норм не выявил. В группе ПРПО преобладали женщины старшего репродуктивного возраста (34,0%), что подтверждает представления о связи развития преждевременных родов с возрастом женщины.

Принимая во внимание указание ряда авторов (Серова О.Ф. и соавт., 2015; Кан Н.Е. и соавт., 2017; Buck J.N. et al., 2016) о высокой частоте развития преждевременных родов на фоне соматической патологии, была изучена ее структура в группах преждевременных и своевременных родов. При анализе заболеваний мочевыделительной системы статистически значимо чаще в группе ПРПО отмечался хронический цистит – 27,6%, в группе сравнения – 5,7% ( $p < 0,001$ ). При межгрупповом анализе были получены статистически значимые различия в группе ПРПО – 27,6% в отличие от группы спонтанных ПР – 4,6% ( $p < 0,001$ ). Среди заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, пищеварительной систем, заболеваний ЛОР-органов статистически значимых различий выявлено не было. В структуре гинекологических заболеваний статистически значимых различий выявлено не было, однако в

группе ПРПО преобладали хронический эндометрит – 6,4% и сальпинго-офорит – 23,4% ( $p>0,05$ ).

При анализе акушерского анамнеза в группах спонтанных ПР и ПРПО было выявлено статистически значимое увеличение частоты внутриматочных инструментальных вмешательств в 3,9 % и 36,1% ( $p<0,001$ ), а также частоты преждевременных родов в анамнезе в 32,5% и 34,0% ( $p<0,001$ ) по группам соответственно, что свидетельствует о несомненной роли отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза в развитии преждевременных родов. Принимая во внимание указание большинства исследователей о высокой частоте развития преждевременных родов на фоне осложненной беременности, был проведен анализ ее течения, с учетом ранних неонатальных осложнений. Анализ течения беременности в I триместре у пациенток с ПРПО установил статистически значимые различия в частоте раннего токсикоза тяжелой степени – 17,0% ( $p<0,001$ ), а у пациенток со спонтанными ПР – острой респираторной вирусной инфекции – 11,6% ( $p<0,001$ ). Во II триместре в группе ПРПО была отмечена угроза преждевременных родов – 53,1% относительно группы сравнения – 21,5% ( $p<0,001$ ). В III триместре достоверных различий между исследуемыми группами получено не было. Следует отметить, что у пациенток группы с ПРПО послеродовой период протекал с осложнениями: в 25,5% случаев отмечалась анемия, в 2,1% – эндометрит, однако статистически достоверных различий эти значения не достигали. Согласно критериям невключения, пациентки с абдоминальным родоразрешением не входили в исследование и все роды проходили через естественные родовые пути.

Известно, что преждевременные роды сопряжены с высокой частотой неблагоприятных перинатальных исходов, в связи с чем, особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода. Все дети родились живыми, однако в группах спонтанных ПР и ПРПО отмечались более низкие массо-ростовые показатели, а также низкая оценка по шкале Апгар, что обусловлено более ранними сроками родоразрешения. В структуре неонатальной заболеваемости у детей в группах спонтанных ПР и ПРПО достоверно чаще

встречались респираторный дистресс-синдром 76,7% и 78,7% ( $p < 0,001$ ), врожденная пневмония 13,9% и 19,1%, ( $p < 0,001$ ), внутрижелудочковые кровоизлияния 69,7% и 61,7% ( $p < 0,001$ ) соответственно. Полученные результаты согласуются с данными литературы, о связи преждевременных родов с высокой заболеваемостью новорожденных.

Известно, что причины реализации преждевременных родов различны как по патогенетическому механизму, так и в зависимости от гестационного срока. Принято считать, что ранние преждевременные роды в подавляющем большинстве возникают в результате воздействия инфекционного фактора, тогда как поздние преждевременные роды сопряжены с факторами, связанными с перерастяжением матки. В работах А.Е. Донникова и соавт. (2018); Н. Park et al. (2018) и А. Gilman-Sachs et al. (2018) основная роль в развитии преждевременных родов отводится инфекционному фактору. Однако в последние годы отмечается роль не только патогенной микрофлоры в реализации преждевременных родов, но и нарушения микробиоценоза влагалища, которое может запускать развитие воспалительного ответа путем активации цитокинового каскада (Цахилова С.Г. и соавт. 2017; Brown R.G. et al., 2018; Peelen M.J. et al., 2019).

Работы, посвященные изучению взаимосвязи изменения состояния микробиоты влагалища с развитием воспалительного ответа, немногочисленны. В связи с чем, интерес представляет изучение качественного и количественного состава микробиоценоза вагинального отделяемого, а также сочетание данных параметров с определением локальной воспалительной реакции как при различных патогенетических механизмах преждевременных родов, так и на различных гестационных сроках.

В исследование были включены пациентки с угрожающими преждевременными родами, у которых отсутствовала регулярная родовая деятельность. Всем пациенткам было проведено лечение (согласно приказу МЗ РФ № 572н) в результате которого в 36,6% случаев беременность удалось пролонгировать до доношенного срока, а в 63,4% наблюдений произошли преждевременные

роды, из которых спонтанные преждевременные роды составили 30,1%, а преждевременные роды с ПРПО – 33,3%.

Учитывая различный генез спонтанных ПР и ПРПО, особый интерес представляло изучение возможности пролонгирования беременности на различных сроках на 7 и более дней. Наибольшая эффективность пролонгирования беременности при спонтанных ПР (61,7%) и ПРПО (63,5%) наблюдалась при сроке 28-33,6 нед. При сроке до 28 нед спонтанные ПР были пролонгированы в 32,4%, а при 34-36,6 нед – в 5,9% случаев. Было выявлено, что при ПРПО на сроке менее 28 нед эффективность пролонгирования беременности была минимальной и составила 4,6% (рис 1).

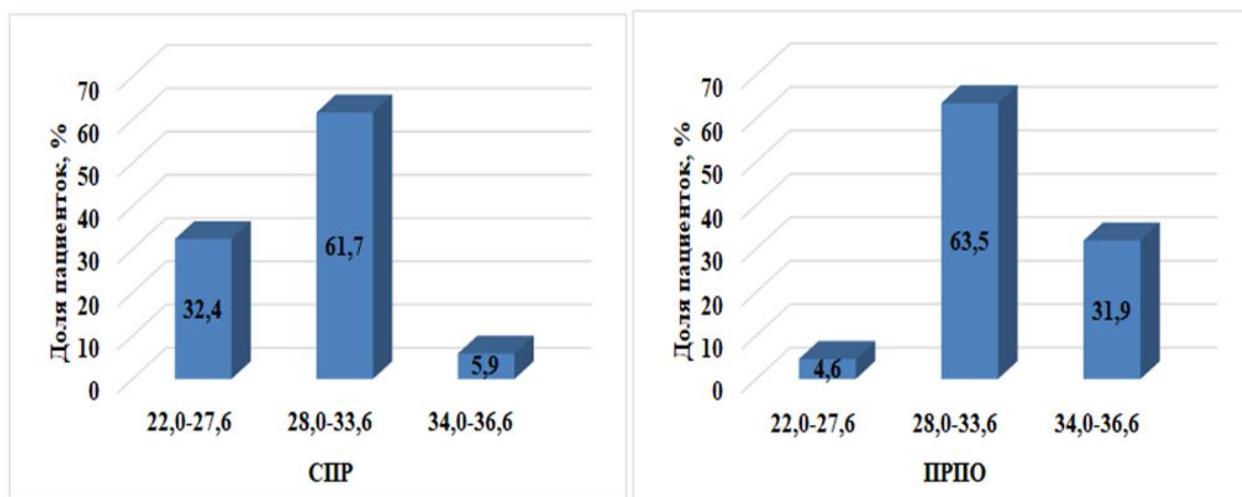


Рис. 1. Вероятность пролонгирования беременности на 7 и более дней в зависимости от срока гестации

Полученные результаты согласуются с данными В.Л. Тютюнника и соавт. (2016) и R. Romero et al. (2018), которые отмечают более низкую вероятность пролонгирования беременности при очень ранних преждевременных родах с ПРПО.

На следующем этапе проведено изучение состояния микробиоценоза влагалища с оценкой локальной воспалительной реакции в зависимости от срока беременности и исхода преждевременных родов. Нами установлено, что высокий риск реализации как спонтанных ПР, так и преждевременных родов с ПРПО отмечался при сочетании дисбиотических нарушений и локальной

воспалительной реакции при спонтанных ПР на сроке 34-36,6 нед, а при ПРПО – менее 28 нед (рис 2).

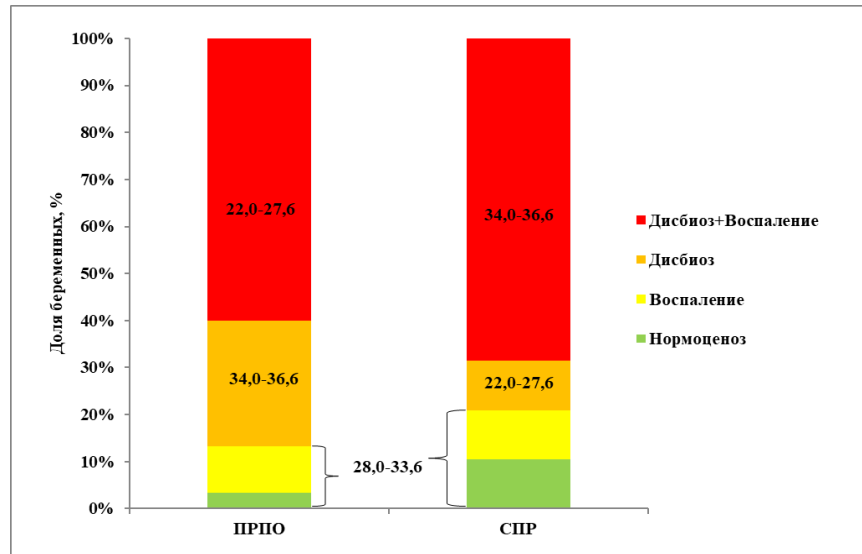


Рис. 2. Состояние микробиоценоза влагалища пациенток с преждевременными родами с учетом исходов и сроков беременности

Следует отметить, что при нормальных показателях микробиоценоза влагалища вероятность пролонгирования беременности при сроке 28-33,6 нед, как при спонтанных ПР, так и при ПРПО значительно выше. В группе ПРПО также были выявлены изолированные дисбиотические нарушения в 26,7% случаев при сроке 34-36,6 нед, что согласуется с данными литературы о связи нарушения целостности плодных оболочек вследствие действия инфекционного агента (Ходжаева З.С. и соавт., 2018; Park CW. et al., 2016; Wang F. et al., 2016).

В связи с вышеизложенным на следующем этапе исследования была оценена вероятность пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища в сочетании с локальной воспалительной реакцией. Прогностически благоприятным в отношении пролонгирования беременности было сочетание нормоценоза влагалища без локального воспаления, выявленное в 81,8% случаев, при дисбиотических нарушениях и отсутствии локального воспаления – в 63,6% наблюдений, а при сочетании нормоценоза с локальным воспалением – в 22,2% случаев (рис. 3).

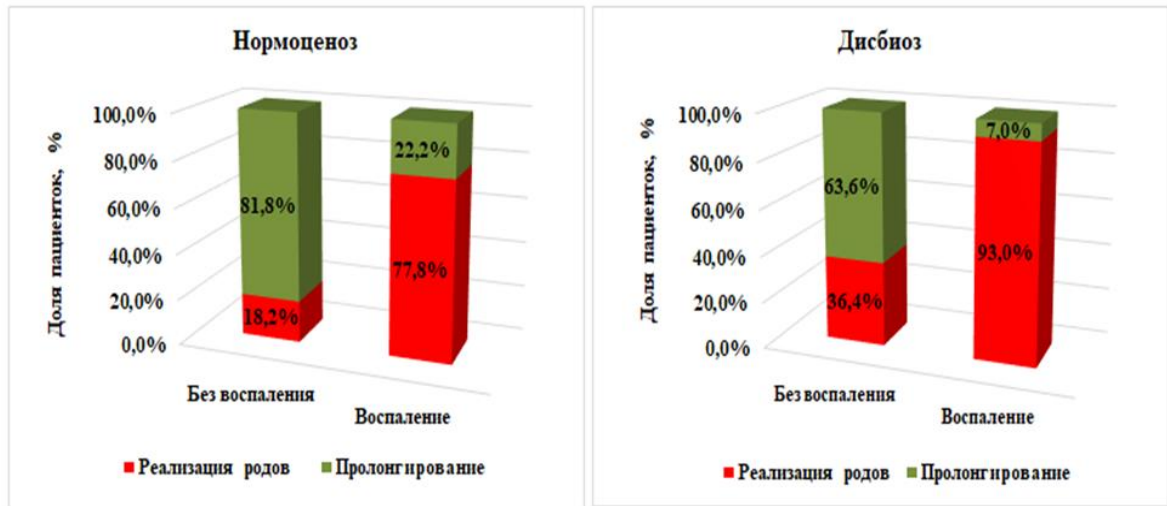


Рис. 3. Вероятность пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища

Обращает на себя внимание тот факт, что прогностически неблагоприятным в отношении пролонгирования беременности было сочетание дисбиотических нарушений с локальным воспалением, отмеченное в 7,0% наблюдений. Полученные данные свидетельствуют о том, что дисбиотические нарушения без локального воспаления имеют более благоприятный прогноз по сравнению с наличием последнего.

Общеизвестно, что значимый вклад в патогенез преждевременных родов может вносить оксидативный стресс, основным показателем которого является накопление избыточного количества активных форм кислорода (АФК) (Красный А.М. и соавт., 2017; Кан Н.Е. и соавт. 2019; Moore T.A. et al., 2018). Дисбаланс между продукцией АФК и удаляющими их антиоксидантами может происходить вследствие увеличения митохондриальной активности в плаценте. Преждевременные роды часто сопровождаются типичным для оксидативного стресса – накоплением продуктов перекисного окисления липидов, аддуктов ковалентной модификации белков, падением эффективности энергопреобразующих мембран митохондрий и ростом числа повреждений ядерной и митохондриальной ДНК (Высоких М.Ю. и соавт., 2016, Abdel Ghany E.A. et al., 2016). Принимая во внимание дисбаланс про- и антиоксидантных систем при развитии оксидативного стресса были изучены ряд ферментов, относя-



щихся к факторам антиоксидантной защиты. Статистически значимых различий в содержания каталазы во всех группах получено не было. Уровень глутатионпероксидазы в плаценте при спонтанных ПР не выявил достоверных отличий по сравнению со своевременными родами, в то время как при ПРПО было отмечено достоверное его снижение при сроке 22-27,6 нед беременности.

Учитывая полученные результаты, а также данные о том, что нарушение баланса окислительно-восстановительных реакций в клетках и тканях может приводить к митохондриальной дисфункции, было изучено содержание митохондриального мембранного белка VDAC1, являющегося маркером внешних мембран митохондрий. При анализе содержания белка внешней мембраны митохондрий VDAC1 в плаценте были получены статистически значимые различия при спонтанных ПР и преждевременных родах с ПРПО при сроке 22-27,6 нед беременности относительно группы своевременных родов (рис. 4).

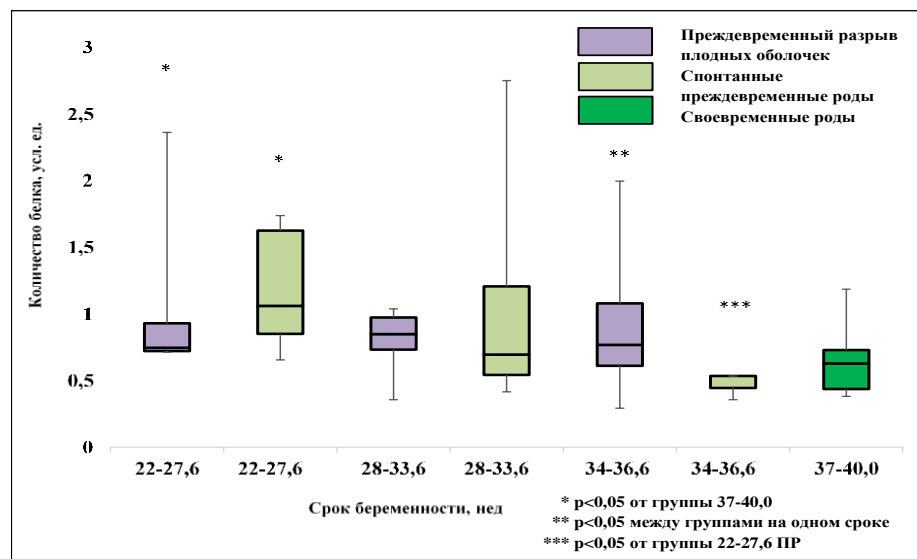


Рис. 4. Относительное содержание VDAC1/Act при преждевременных и своевременных родах в плаценте

Известно, что повреждение митохондрий приводит к повышению циркуляции в материнской плазме множественных провоспалительных факторов плацентарного происхождения, фрагментов митохондрий – DAMPs одними из которых являются мтДНК. По мнению R. Menon et al. (2016) и R. Romero et al. (2018) изменения количества копий мтДНК в крови беременной могут слу-

жить биологическим маркером степени индукции оксидативного стресса. Исходя из вышеизложенного нами был проведен анализ копий мтДНК в плазме периферической крови у пациенток как при спонтанных ПР (рис. 5), так и при преждевременных родах с ПРПО (рис. 6). Для выявления референсных значений была дополнительно включена группа пациенток с физиологическим течением беременности.

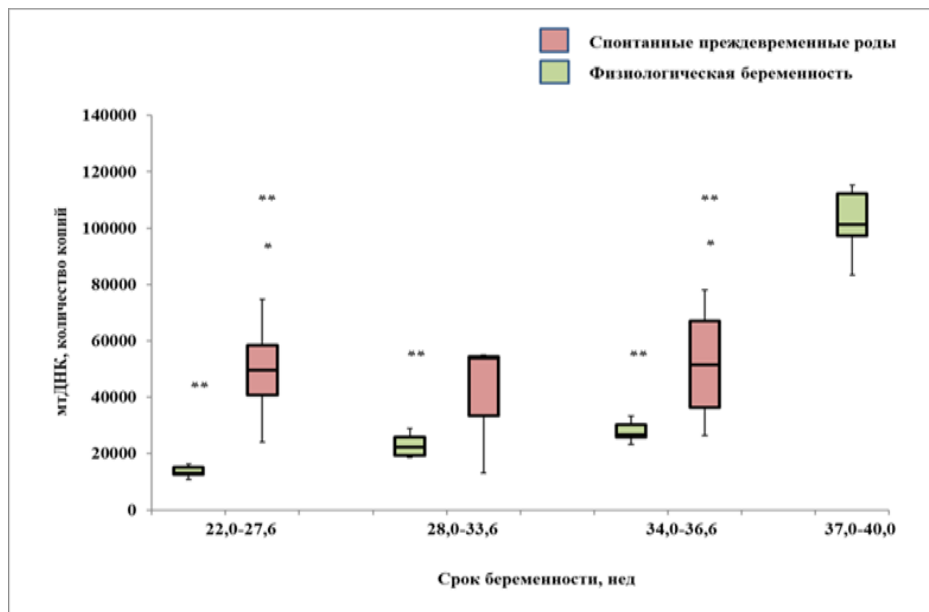


Рис. 5. Уровень относительной копийности мтДНК в периферической крови при спонтанных преждевременных и своевременных родах.

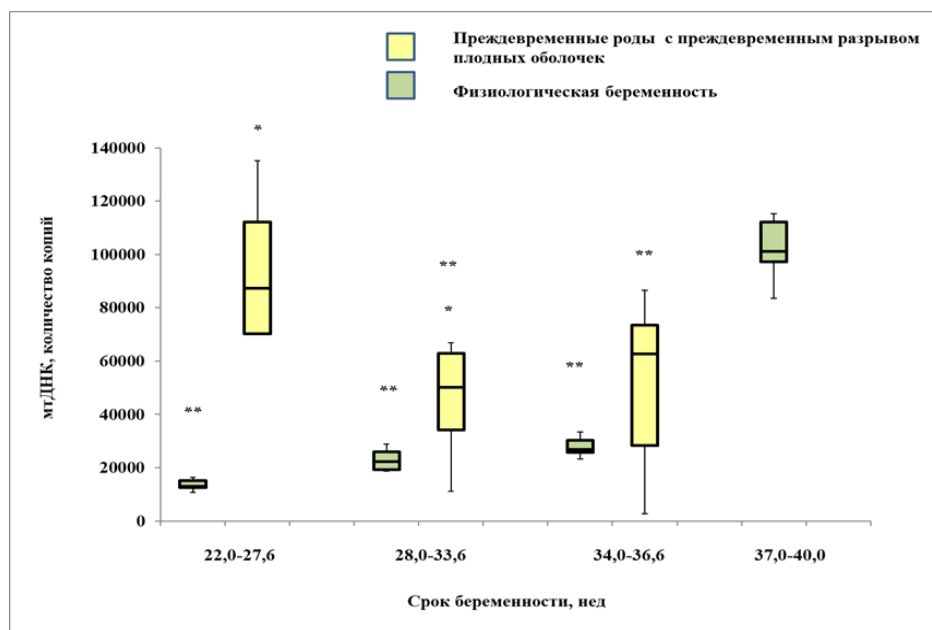


Рис. 6. Уровень относительной копийности мтДНК в периферической крови при преждевременных родах с преждевременным разрывом плодных оболочек и своевременных родах.

Сравнительный анализ относительного содержания мтДНК показал его более низкий уровень при физиологической беременности в отличие от спонтанных ПР, при этом на протяжении беременности наблюдалось повышение уровня мтДНК пропорционально сроку, достигая максимальных значений к 37 нед. Кроме того, было выявлено статистически значимое повышение уровня мтДНК при спонтанных ПР на сроках беременности 22-27,6 и 34-36,6 нед ( $p < 0,05$ ). Уровень мтДНК при спонтанных ПР превышал таковые значения при физиологически протекающей беременности, но не достигал значений при сроке 37 нед.

При сравнительной характеристике уровня мтДНК в периферической крови при физиологической беременности и преждевременных родах с ПРПО было установлено статистически значимое повышение уровня мтДНК на сроке 22-27,6 нед соответствующего уровню при сроке 37 нед.

Следует отметить, что динамика повышения уровня мтДНК при преждевременных родах различного генеза также имела различный характер. Это свидетельствует о том, что механизм развития процесса индукции родов имеет общие принципы как при спонтанных ПР, так и при преждевременных родах с ПРПО и подтверждает мнение о том, что митохондриальные DAMPs являются предикторами возникновения как спонтанных преждевременных родов, так и преждевременных родов с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Для оценки диагностической эффективности определения уровня копийности мтДНК при преждевременных родах был проведен ROC-анализ. Полученная модель согласно экспертной шкале оценена как отличная. Оптимальный порог отсечки (cut off) составил 0,87 при котором чувствительность составила 77%, а специфичность – 93%. Прогностическая ценность положительного результата (PPV) составила 90,9 (70,8-98,9), а отрицательного (NPV) – 82,4 (65,5-93,2) (рис. 7). Определение данного маркера может способствовать

диагностике и своевременному началу персонифицированной комплексной терапии, направленной на пролонгирование беременности.

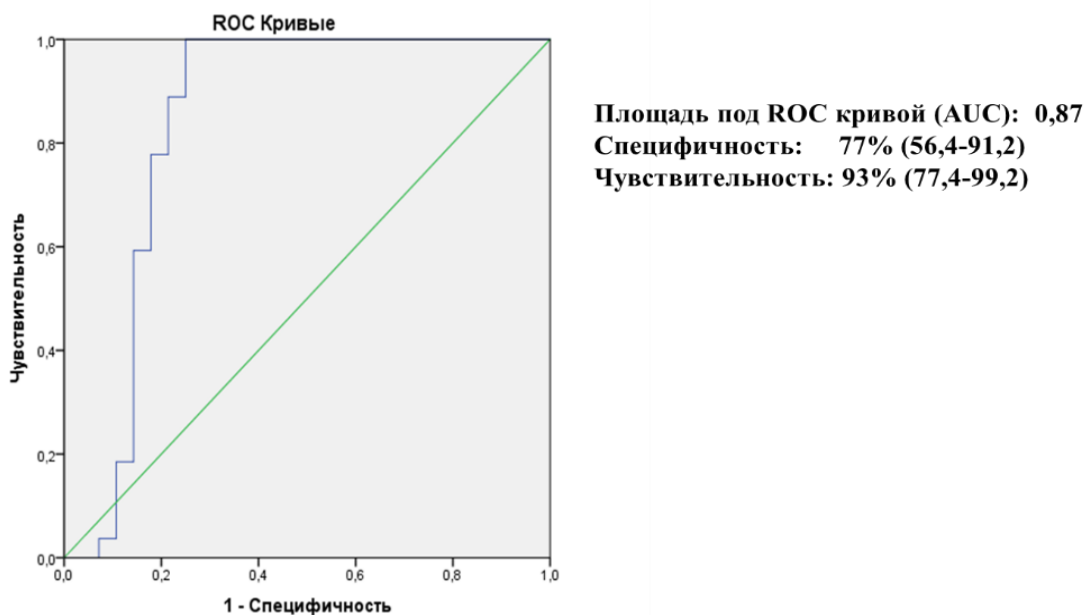


Рис. 7. ROC кривая диагностика преждевременных родов на основании определения уровня копийности мтДНК

Таким образом, проведенное исследование позволило уточнить клинико-анамнестические факторы риска развития преждевременных родов. Полученные данные о роли локального воспаления и нарушения микробиоценоза влагалища в вероятности пролонгирования беременности имеют практическую значимость, так как позволяют оптимизировать тактику ведения при угрозе прерывания беременности. Выявленные изменения уровня копийности мтДНК, с одной стороны подтверждают роль DAMPs, с другой – обосновывают целесообразность их определения в качестве неинвазивного маркера, как спонтанных преждевременных родов, так и преждевременных родов с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Разработанный алгоритм, направленный на персонифицированный подход к прогнозированию и диагностике преждевременных родов, обеспечивает возможность своевременного проведения комплекса профилактических и лечебных мероприятий для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

## Выводы

1. К значимым факторам риска преждевременных родов следует отнести: хронический цистит (27,6%), внутриматочные инструментальные вмешательства (36,1%), ранние потери беременности (30,2%) и преждевременные роды в анамнезе (34,0%).

2. Риск развития преждевременных родов обусловлен наличием следующих осложнений беременности: ранний токсикоз (17,0%), острая респираторная вирусная инфекция в I триместре (11,6%) и угроза прерывания во II триместре (53,1%) ( $p < 0,05$ ).

3. Разрыв плодных оболочек при преждевременных родах сочетается с достоверно более высокой частотой перинатальной заболеваемости среди новорожденных таких как, респираторный дистресс-синдром (78,7%), врожденная пневмония (19,1%), и внутрижелудочковые кровоизлияния (61,7%) ( $p < 0,05$ ).

4. Сочетание дисбиотических нарушений и локальной воспалительной реакции является фактором высокого риска развития преждевременных родов (спонтанных и преждевременных родов с разрывом плодных оболочек).

5. Вероятность пролонгирования беременности при сочетании нормоценоза влагалища без локального воспаления составляет 81,8%, при дисбиотических нарушениях и отсутствии локального воспаления – 63,6%, при сочетании нормоценоза с локальным воспалением – 22,2%.

6. При преждевременных родах (спонтанных и преждевременном разрыве плодных оболочек) отмечается высокий уровень содержания структурно-функционального белка митохондрий (VDAC1) и антиоксидантных ферментов (глутатионпероксидаза, каталаза) в плаценте, что указывает на выраженность оксидативного стресса и нарушение баланса про- и антиоксидантных систем.

7. Определение уровня копийности митохондриальной ДНК в периферической крови, отражающее наличие оксидативного стресса, может быть использовано в качестве предиктора преждевременных родов.

8. Разработанный алгоритм прогнозирования и диагностики преждевременных родов позволяет своевременно выделить группу риска для более тщательного динамического наблюдения и определения дальнейшей тактики ведения пациенток с целью снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

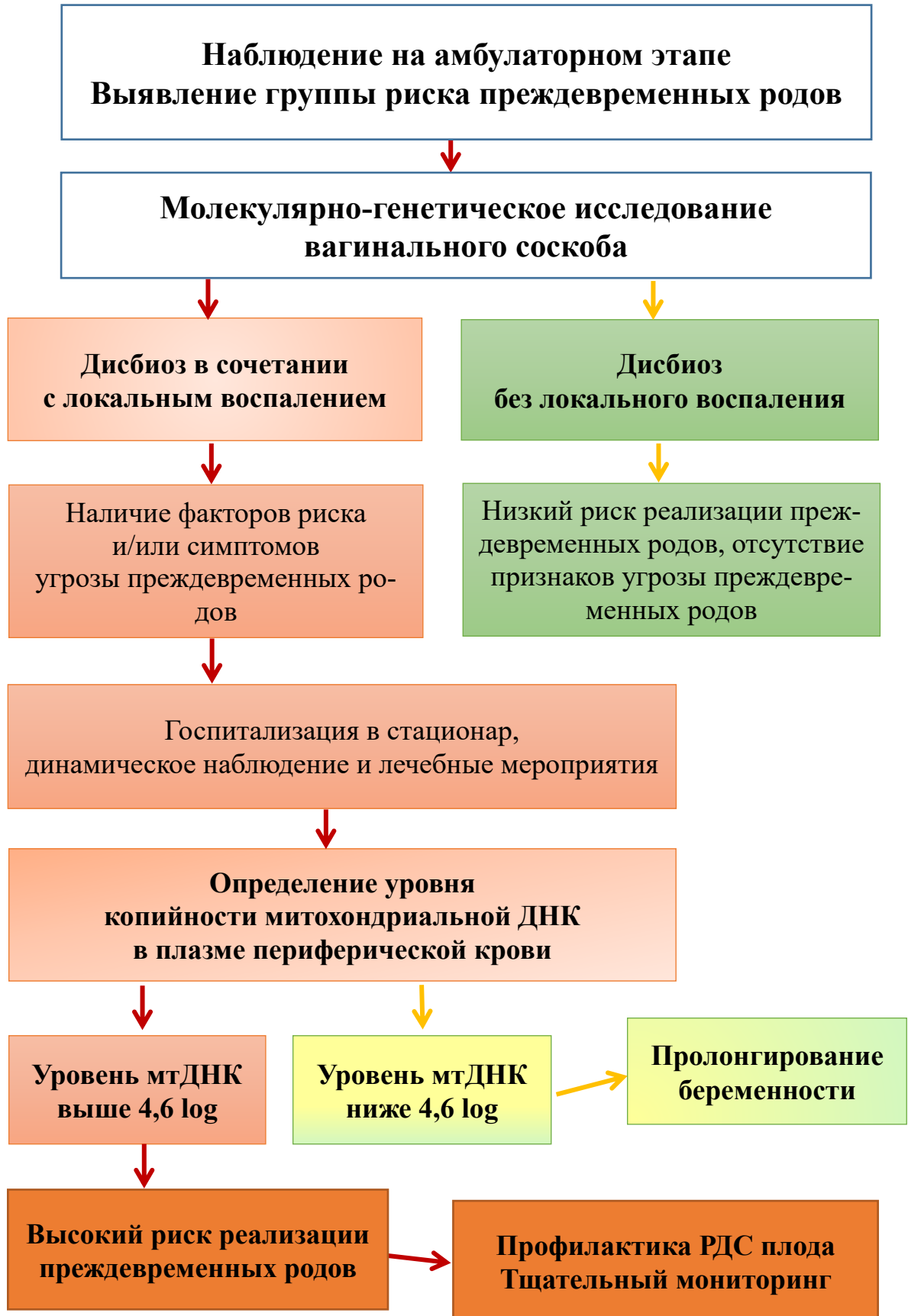
### Практические рекомендации

1. В группу риска по реализации преждевременных родов следует включать беременных женщин с заболеваниями мочеполовой системы (хронический цистит) с внутриматочными инструментальными вмешательствами, ранними потерями беременности и преждевременными родами в анамнезе.

2. При планировании беременности у женщин с риском развития преждевременных родов целесообразно включать в программу обследования на амбулаторном этапе определение микробиоценоза и локального иммунитета влагалища с целью коррекции данного состояния на предгравидарном уровне.

3. При поступлении в стационар пациенток с угрожающими преждевременными родами для персонализированного подхода и возможности выбора тактики ведения данных пациенток, помимо стандартного перечня исследований показано проведение определения уровня копийности митохондриальной ДНК. При выявлении повышения уровня данного показателя, а также сочетании дисбиотических нарушений с локальным воспалением показано тщательное динамическое наблюдение в высококвалифицированных лечебных учреждениях.

## АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ И ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ



Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Курчакова Т.А., Донников А.Е., Непша О.С., Меджидова М.К., **Кокоева Д.Н.**, Тютюнник В.Л. Локальные факторы врожденного иммунитета при преждевременных родах. // Всероссийский конгресс с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика» – Москва, 4-7 апреля. – 2016. – С.183-184.
2. Меджидова М.К., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Курчакова Т.А., **Кокоева Д.Н.** Роль синдрома системного воспалительного ответа в развитии преждевременных родов. // **Проблемы репродукции.** – 2016. – Т. 22, № 2. – С.116-120.
3. Тютюнник В.Л., Курчакова Т.А., Кан Н.Е., Непша О.С., Донников А.Е., Меджидова М.К., **Кокоева Д.Н.** Локальные факторы врожденного иммунитета в прогнозировании преждевременных родов. // **Акушерство и гинекология.** – 2016. – № 10. – С.59-63.
4. Арушанова А.Г., Курчакова Т.А., Меджидова М.К., **Кокоева Д.Н.**, Тютюнник В.Л. Факторы врожденного иммунитета при преждевременных родах. // X Юбилейный региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя» – Геленджик, 28-30 июня. – 2017. – С.63-64.
5. Тютюнник В.Л., Арушанова А.Г., Михайлова О.И., **Кокоева Д.Н.**, Меджидова М.К., Салпагарова З.Х. Вагинальные инфекции как фактор риска преждевременных родов. // **Эффективная фармакотерапия. Эпидемиология и инфекции.** – 2017. – № 1 (10). – С.20-23.
6. Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Ломова Н.А., **Кокоева Д.Н.** Эффективность и комплаентность терапии вульвовагинального кандидоза при беременности. // **Русский медицинский журнал.** – 2018. – № 2 (I). – С.54-58.
7. Сарибекова А.Г., **Кокоева Д.Н.**, Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Тютюнник В.Л., Донников А.Е. Особенности врожденного иммунитета в ранней диагностике преждевременных родов. // XII международный конгресс по репродуктивной медицине. – Москва, 16-19 января. – 2018. – С.336-337.



8. Красный А.М., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Садекова А.А., Сарибекова А.Г., **Кокоева Д.Н.**, Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Вторушина В.В., Кречетова Л.В. Прогнозирование преждевременных родов путем комбинированного определения цитокинов и внеклеточной ДНК. // **Акушерство и гинекология.** – 2019. – № 1. – С.86-91.

9. **Кокоева Д.Н.**, Меджидова М.К., Ломова Н.А., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. Профилактика преждевременных родов у беременных с вагинальным кандидозом. // **Медицинский совет.** – 2019. – № 7. – С.52-56.

10. Балущкина А.А., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., **Кокоева Д.Н.** Современные возможности терапии вагинальных инфекций при беременности. // **Медицинский совет.** – 2019. – № 13. – С.74-79.

11. Тютюнник В.Л., Красный А.М., Кан Н.Е., Сарибекова А.Г., Садекова А.А., **Кокоева Д.Н.**, Салпагарова З.Х., Меджидова М.К. Прогнозирование преждевременных родов путем совместного определения внеклеточной ДНК и интерлейкина-8 в плазме периферической крови. Патент на изобретение № 2682713 от 21 марта 2019 г. (заявка 2018108827 от 13 марта 2018 г.).

12. Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Высоких М.Ю., **Кокоева Д.Н.**, Сарибекова А.Г., Меджидова М.К. Возможности прогнозирования преждевременных родов путем определения содержания митохондриальной ДНК и структурно-функционального белка VDAC1. // **Акушерство и гинекология.** – 2021. – № 3. – С.58-65.