

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)**

*На правах рукописи*

**КОКОЕВА**

**Диана Николаевна**

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

**14.01.01 – акушерство и гинекология**

**Диссертация**

**на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:**

**доктор медицинских наук, профессор**

**ТЮТЮННИК Виктор Леонидович**

**Москва – 2021**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>Введение</b>	4
<b>Глава 1. Современные представления о факторах риска, этиопатогенезе и диагностике преждевременных родов (обзор литературы)</b>	11
1.1. Преждевременные роды: определение, классификация, факторы риска	11
1.2. Птогенетические аспекты преждевременных родов	15
1.3. Диагностические возможности исследования состояния врожденного иммунитета и факторов антиоксидантной защиты при преждевременных родах	25
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b>	38
2.1. Материалы исследования	38
2.2. Методы исследования	41
<b>Результаты собственных исследований</b>	
<b>Глава 3. Исходная клинико-anamнестическая характеристика у пациенток с преждевременными родами</b>	50
<b>Глава 4. Особенности течения беременности, родов, акушерские и неонатальные исходы, состояние количественного качественного состава микробиоценоза влагалища и факторов антиоксидантной защиты у пациенток при преждевременных родах</b>	58
4.1. Течение беременности, родов, послеродового периода у обследованных женщин	58
4.2. Исход родов для плода, течение периода новорожденности при преждевременных родах	61
4.3. Состояние количественного и качественного состава микробиоценоза влагалища при преждевременных родах	65

4.4. Уровень мтДНК в периферической крови женщин с физиологическим течением беременности и преждевременными родами	70
4.5. Определение содержания антиоксидантных белков и митохондриального маркера в плаценте при преждевременных и своевременных родах	76
<b>Глава 5. Обсуждение полученных результатов</b>	83
<b>Выводы</b>	99
<b>Практические рекомендации</b>	101
<b>Алгоритм диагностики и прогнозирования преждевременных родов</b>	102
<b>Список сокращений</b>	103
<b>Список литературы</b>	106

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Проблема преждевременных родов не теряет своей актуальности и по-прежнему остается в числе важнейших причин перинатальной заболеваемости и смертности [3]. Частота преждевременных родов в развитых странах варьирует в пределах от 7 до 9%, а в развивающихся достигает 20% не имея тенденции к снижению [233]. Дети, рожденные с очень низкой или экстремально низкой массой тела, имеют тяжелые последствия для здоровья, что, несомненно, определяет значимость и необходимость поиска причин, а также методов профилактики данного осложнения беременности [24].

На сегодняшний день патогенез преждевременных родов до конца не изучен, а предрасположенность к их развитию может быть обусловлена различными факторами [8, 27, 36]. 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 [4, 30, 118].

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) [3, 4, 191, 195], одним их механизмов развития которого является активация факторов врожденного иммунитета, в связи с чем их роль в реализации данного осложнения имеет большое значение [22, 76]. 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) [196]. 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 [92, 225]. 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 [6, 197, 200]. 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 [61, 78]. Досрочное родоразрешение является глобальной проблемой современного акушерства, которое сопряжено с высоким уровнем инвалидизации новорожденных, что диктует необходимость пересмотра некоторых аспектов акушерской тактики [6, 175].

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 [7, 157].

В работах Н.Е. Кан и соавт. [28] и М. Arenas-Hernandez et al. [76] отмечена связь активации факторов врожденного иммунитета с реализацией преждевременных родов. В исследованиях R. Romero et al. [199] и A.K. Müller-Rischart et al. [174] 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-anamнестические 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-anamnestических 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: XVII<sup>ом</sup>, XVIII<sup>ом</sup> и XX<sup>ом</sup> Российских форумах «Мать и дитя» (Москва, 2016, 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.

## **Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПАТОГЕНЕЗЕ, ФАКТОРАХ РИСКА И ПРОФИЛАКТИКЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

### **1.1. Преждевременные роды: определение, классификация, факторы риска**

Преждевременные роды (ПР) остаются актуальной и нерешенной проблемой современного акушерства, которая обусловлена высокой частотой неонатальной и перинатальной заболеваемости и смертности [3, 9, 42, 46]. Кроме того, ПР являются наиболее частой причиной госпитализации во время беременности среди осложнений, объединенных общим названием «Great Obstetrical Syndromes» (большие акушерские синдромы) [3, 42, 46].

Согласно критериям Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), а также приказу Минздравсоцразвития РФ №1687н от 27.12.2011 г. «О медицинских критериях рождения, форме документа о рождении и порядке ее выдачи» в России с 01 января 2012 г., ПР принято называть роды, наступившие в сроки беременности 22-36,6 недель, с массой тела плода от 500 до 2500 г [4, 5, 39, 54]. Учитывая данные современной научной литературы, частота ПР в мире варьирует от 5 до 18% и не имеет тенденции к снижению [7]. Показатели в развитых странах достигают 7-9%. В большинстве стран Европы на долю ПР приходится 5-10% [71]. В России количество ПР составляет в среднем 4,1%, для Москвы количество ПР в 2019 г. – 9,2% [9, 39]. Анализ литературных источников показывает, что большая часть в процентном соотношении приходится на ПР при сроке с 35 до 36,6 недель беременности и составляет примерно 50-60% всех ПР, далее с 28 до 33,6 недель 32-42% и с 22-27,6 недель – 5-7% [3].

Как правило, реабилитационный период недоношенных детей происходит в течение длительного времени и требует особых условий для выхаживания, лечения и диспансерного наблюдения, что подтверждает важную социально-экономическую значимость данного осложнения беременности [39, 49, 54].

Существует классификация ВОЗ, согласно которой, преждевременные роды принято делить по гестационному сроку:

- до 28 недель (27 недель 6 дней включительно) – очень ранние ПР, при этом новорожденные являются глубоко недоношенными, имеют экстремально низкую массу тела (до 1000 г);
- 28-30 недель 6 дней – ранние ПР, для новорожденных (тяжелая недоношенность) характерна очень низкая масса тела (до 1500 г);
- 31-33 недели 6 дней – преждевременные роды;
- 34-36 недель 6 дней – поздние преждевременные роды.

Легкие плода практически зрелые и не требуют введения медикаментов для стимуляции созревания (сурфактанта). Инфекционная заболеваемость новорожденных, родившихся в 34-37 недель беременности, значительно ниже, чем родившихся в более ранние сроки. Пролонгирование беременности при этом сроке не оказывает существенного влияния на показатели смертности новорожденных [3, 46].

Также существует классификация ПР в зависимости от триггерного механизма их развития, определяющая ПР как спонтанные или индуцированные. В свою очередь принято выделять спонтанные (СПР) с развитием регулярной родовой деятельности при целом плодном пузыре и отсутствием регулярной родовой деятельности с подтеканием или преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО). Несомненно, что прогнозирование и дальнейшая тактика ведения пациенток, с ПРПО и СПР является важной акушерской проблемой. Согласно данным литературы, при доношенной беременности, на долю родов, осложненных ПРПО, приходится от 8% до 20%, при ПР – от 5 до 35% [6]. В работе J. Poletini et al. [188] было отмечено, что ПРПО имеет тенденцию к повторному развитию в последующих родах с частотой до 20-32% [188]. Согласно публикациям Американского сообщества акушеров-гинекологов (ACOG), разрыв плодных

оболочек до 37 недель встречается в 2-4% беременностей при одноплодной беременности и порядка 7-20% – при многоплодной [71].

Существует многочисленные факторы риска ПР, которые можно разделить на несколько категорий: инфекционно-воспалительные заболевания, молекулярно-генетические, иммунологические, механические нарушения. В структуре экстрагенитальных заболеваний ведущее значение, как фактора риска в реализации ПР отводится наличию у женщины заболеваний сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия), бронхиальной астмы, эндокринным нарушениям (гипертиреоз, нарушение жирового обмена), заболевания системы крови [2, 3, 9, 17, 24, 36, 46]. Немаловажную составляющую играет наследственный фактор. По мнению ряда авторов [29, 100, 197] применение методов экстракорпорального оплодотворения увеличивает риск развития ПР в 2 раза, чем при самопроизвольно наступившей беременности, хотя на сегодняшний день имеются исследования, которые указывают на противоречивость таких данных [58, 68]. Кроме того, считается что оперативные вмешательства на органах брюшной полости до и во время беременности существенно влияют на риск возникновения ПР [9, 17, 24, 37, 46]. Согласно (ACOG) к факторам риска ПР относятся: ПР с ПРПО в анамнезе, истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН), хориоамнионит, инфекционно-воспалительные заболевания органов малого таза, низкий социальный статус, травмы и инструментальные медицинские вмешательства на матке, аномалии развития органов малого таза и многоплодная беременность [71].

Что касается факторов риска ПРПО, то их принято классифицировать на материнские, а также маточно-плацентарные. К материнским факторам риска относятся: наличие заболеваний соединительной ткани, применение глюкокортикоидных препаратов в течение длительного срока, ПРПО в анамнезе (риск возникновения данного осложнения достигает 30%). Маточно-плацентарные факторы связаны с нарушением притока и/или оттока крови в межворсинчатое пространство, а также изменения реологических свойств

крови матери. Данные состояния возникают либо при многоплодии, аномалий развития матки и патологии плаценты (преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты (ПОНРП), хориоамнионит (ХА)) [4, 6, 30].

ПРПО ассоциировано с более тяжелыми последствиями для новорожденных, так как данное состояние ассоциировано с большим процентом неонатальных инфекционных осложнений.

Наряду с нарушениями дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной нервной систем, при ПРПО преобладают такие состояния как сепсис, внутриутробная и интраамниальная инфекции, респираторный дистресс-синдром, а также некротизирующий энтероколит, которые повышают смертность новорожденных в 3-4 раза. Для женщин явление ПРПО также опасно развитием инфекционных осложнений как в родах, так и в послеродовом периоде. Кроме того, ПРПО может являться причиной преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты (ПОНРП), и послеродовых кровотечений [30, 31, 66].

По данным В.Н. Серова и соавт. [47] выявление женщин группы риска может предопределить развитие ПР в 50% случаев, в связи с чем, актуальным направлением, способствующим решению проблем недоношенной беременности, является своевременное определение факторов риска и тщательный мониторинг беременных. Должное внимание в предотвращении различных гестационных осложнений уделяется проведению предгравидарной и прекоцепционной подготовки, что в свою очередь дает возможность корректировать патологическое течение беременности снизить риск осложнений на различных сроках беременности.

Несмотря на важность и значимость клинико-анамнестических данных для выявления групп риска, своевременной диагностики, коррекции патологического состояния и раннего прогнозирования ПР актуальным является поиск специфичных маркеров данной патологии [3, 63, 71]. В связи с вышеизложенным, большое количество научных исследований посвящено изучению патогенетических механизмов развития ПР.

## 1.2. Патогенетические аспекты преждевременных родов

К основным причинам развития ПР принято относить совокупность материнских, отцовских, плодовых факторов [3, 65]. Согласно S. Beck et al. [80] все причины ПР были отнесены к таким как: инфекционные-воспалительные (около 40%), нарушения нейроэндокринной системы (около 30%), кровотечения (около 20%), перерастяжение матки (около 10%) [80]. Согласно данным литературы [117], вышеописанные причины могут сочетаться между собой, что зачастую затрудняет диагностику и определение первопричины ПР [117]. Патогенетические аспекты ПР включают в себя повышенное продуцирование окситоциновых рецепторов, нарушение свертываемости крови с последующим тромбозом, увеличение уровня провоспалительных цитокинов, иммунологически и генетически обусловленные особенности в системе мать-плод, эндокринные нарушения, врожденные анатомические изменения половых органов, а также оперативные вмешательства [24, 31].

Хорошо известно, что инфекция и воспаление представляют собой весьма значительный фактор риска преждевременных родов, однако, несмотря на клиническую значимость, инфекционные агенты, молекулярные триггеры и иммунные пути, лежащие в основе патогенеза ПР, остаются недостаточно изученными и представляют собой серьезный пробел в знаниях. Наличие инфекционных агентов связаны с повышением концентрации провоспалительных цитокинов. Считается, что активация воспалительных реакций, вызванная инфекцией, являются ведущим фактором риска СПР. Кроме того, в ряде работ было показано [79, 94], что повышенная продукция провоспалительных цитокинов связана с активацией маточных сокращений, тогда как продукция противовоспалительных цитокинов играет важную роль в покое матки во время беременности [137, 195]. Однако молекулярные триггеры и механизмы, лежащие в основе активации иммунных путей, связанных с индукцией СПР, остаются плохо изученными. Фактически, несколько важных вопросов, которые остаются без ответа, включают

следующее: идентификация возбудителя инфекции, роль полимикробной инфекции, критический локус инфекции, а также центральные иммунные клетки и иммунные пути [72, 74]. Известно, что инфекционный генез ПР связан с повышенным выбросом цитокинов, тогда как ПРПО может возникать при изменении морфологии околоплодных оболочек, включая заметное набухание и разрушение коллагеновой сети, может быть вызвано бактериальными продуктами и/или провоспалительными цитокинами. также активация матриксных металлопротеиназ (ММП) участвует в механизме развития ПРПО. Выработка цитокинов происходит в клетках хориона, амниона и децидуальных оболочек, при этом они могут иметь токсические свойства. Нарушение целостности плодных оболочек, ремоделирование матки, отслойка плаценты нередко возникает при избыточном образовании утеротонинов в децидуальной оболочке, миометрии. Это характеризуется коротким латентным периодом и худшим неонатальным исходом по сравнению с новорожденными аналогичного гестационного возраста, родившимися без предшествующего нарушения целостности плодных оболочек [4, 6, 30, 115]. Причины перинатальной смертности при ПРПО сопряжены с такими причинами как: незрелостью органов и систем, гипоплазией бронхолегочной ткани, гнойно-септическими осложнениями. При длительном безводном промежутке нередко развивается такое осложнение как хориоамнионит, который представляет собой риск для матери в виде развития гнойно-септических осложнений. Восходящая инфекция генитального тракта, а также мочеполовой системы нередко являются причинами развития ПРПО. В большинстве работ доказана связь возможности проникновения бактериальных агентов через интактные мембраны, о чем свидетельствуют положительные результаты посевов содержимого репродуктивного тракта. Наряду с развитием внутриутробной инфекции у детей, рожденных на фоне колонизации родовых путей патогенными микроорганизмами, открытыми также остаются вопросы не только комплекса профилактическо-терапевтических мер, но и выбор



оптимального срока родоразрешения [51, 93, 216]. Развитие родовой деятельности при ПРПО связано со сроком беременности, при котором в подавляющем большинстве случаев масса плода влияет на продолжительность периода до начала родовой деятельности. При ПРПО в первые сутки при массе плода 500-1000 г роды происходят примерно в 26% случаев, при 1000-2500 г – в 51%, более 2500 г – в 81% [4, 6, 93].

Известно, что физиологическая беременность развивается на фоне иммунологической толлелантности. Также важным аспектом является активация врожденного иммунитета, который в свою очередь обеспечивает защитную функцию от инфекций различной этиологии. Персистенция инфекционных агентов приводит к активации иммунных клеток путем взаимодействия толл-подобных рецепторов с липополисахаридами, пептидогликанами патогенов, в результате чего запускается цитокиновый каскад реакций, что может приводить к развитию воспалительного ответа [185, 214]. Вследствие активации распознающих рецепторов, запускается внутриклеточный сигнальный каскад, приводящих к активации генов провоспалительных цитокинов и интерферонов. Дисбаланс цитокиновой регуляции, приводит к дезорганизации иммунной системы, тем самым происходит повышенный синтез простагландинов и хемокинов, приводящий к запуску механизма системного воспалительного ответа (СВО) [214].

СВО характеризуется рядом биохимических реакций в клетках, в результате которых происходит нарушение тканевого и клеточного дыхания. Также эти процессы отражаются на системе свертывания крови и оказывают повреждающее действие на эндотелий сосудов. Данное состояние нередко приводит к нарушению микроциркуляции в плаценте и развитию в ней участков некроза, это часто приводит к различным осложнениям беременности [118, 120].

Патогенетические аспекты ПР включают в себя повышение количества и активности окситоциновых рецепторов. Окситоцин (ОТ) – самый мощный из известных стимуляторов миометрия. Он вырабатывается в гипоталамусе и

секретируется в кровоток матери. Тем не менее, ОТ также вырабатывается в децидуальной оболочке матки на поздних сроках беременности, и его концентрация повышается во время начала родов. Рецептор ОТ (OTR) представляет собой рецептор, связанный с G-белком, связанный с фосфолипазой С (PLC). Активация PLC вызывает увеличение трифосфата инозита (IP<sub>3</sub>) и диацилглицерина (DAG). IP<sub>3</sub> активирует специфические рецепторы в саркоплазматическом ретикулуме, чтобы высвободить Ca<sup>2+</sup> в цитозоль. Это может вызвать дальнейший приток Ca<sup>2+</sup> из внеклеточного пространства, и повышенный Ca<sup>2+</sup> после связывания с кальмодулином активирует киназу легкой цепи миозина для фосфорилирования легких цепей миозина (MLC) и вызывает сокращение миоцита. DAG активирует протеинкиназу С (PKC), несколько изоформ которой участвуют в сокращении матки, но субстраты для этого фермента в миоците матки практически неизвестны. Окситоцин также может вызывать «Ca<sup>2+</sup>-сенсбилизацию» – процесс, при котором увеличивается сократительная сила, генерируемая заданным увеличением цитозольного Ca<sup>2+</sup>, хотя вклад этого процесса в сокращение миометрия остается предметом дискуссий. Это явление происходит в основном из-за ингибирования фосфатазы легкой цепи миозина (MLCP), фермента, который обращает фосфорилирование MLC. Существует несколько важных потенциальных медиаторов этого пути ингибирования MLCP в миометрии, в том числе небольшой мономерный G-белок RhoA, его нисходящая киназа Rho-ассоциированная киназа (ROK) и 17-кДа-усиленный PKC ингибитор протеинфосфатазы 1с (CPI-17). Роль других недавно идентифицированных взаимодействующих с MLCP молекул в миометрии также требует дальнейшего изучения. Эти пути Ca<sup>2+</sup>-сенсбилизации могут быть важны в механизмах, лежащих в основе преждевременных или срочных родов. Более глубокое понимание сложности множества регуляторных механизмов сократительной способности матки может привести к появлению новых фармакологических агентов для предотвращения маточных

сокращений. Это, в свою очередь, необходимо для содействия в разработке новых и эффективных стратегий снижения частоты преждевременных родов.

Известно, что гормональные нарушения связаны с развитием преждевременных родов. Одним из важных гормонов, который оказывает влияние на развитие родовой деятельности является прогестерон (ПГ). Предполагается, что снижение его уровня, а также активности, может напрямую способствовать повышению риска ПР за счет эндокринных и противовоспалительных механизмов. В настоящее время имеются данные, что коррекция уровня эндогенного ПГ снижает частоту СПР у женщин группы высокого риска с данной патологией в анамнезе. В результате многих исследований [42, 131] сравнивали ежедневное применение суппозиторий с ПГ (для вагинального применения) (по 100 мг) или плацебо в сроке 24–34 недели гестации и еженедельные внутримышечные инъекции 17-гидроксипрогестерона (250 мг) или плацебо, начиная с 16-20-й и до 36-й недель гестации. В обоих случаях была показана высокая эффективность ПГ в отношении женщин групп высокого риска и доказано снижение риска развития ПР, в дальнейшем подтвержденное проведенным мета-анализом [141].

Общеизвестным является то, что существует тесная взаиморегуляция и взаимосвязь между нейроэндокринной и иммунной системами, тем самым обеспечивая этап имплантации эмбриона. Нарушение процессов работы данных систем может приводить к потерям беременности. Ранняя имплантация эмбриона, его рост и развитие в полости матки осуществляется посредством регуляции интракринных, аутокринных, паракринных и эндокринных механизмов действия цитокинов [3, 76]. В результате слаженной работы данной нейроэндокринной цепи, происходит адаптация материнского организма к беременности, а также дальнейшее ее развитие. Под действием гормонов происходит перестройка в организме матери, также происходит стимуляция иммунокомпетентных клеток, тем самым вызывая каскад цитокиновых реакций [83]. Эти реакции совместно с межклеточными

контактами координируют клеточно-молекулярное взаимодействие в эндометрии [94, 137].

В последние годы роли иммунологической составляющей в развитии ПР уделяется немалое внимание. Исследования в области репродуктивной иммунологии свидетельствуют об активации системных иммунных реакций в реализации ПР, однако перспективным направлением также является изучение роли местных защитных факторов на уровне гистологических барьеров при осложнённой беременности, в том числе и при преждевременных родах. Как упоминалось ранее центральными защитными клетками врожденного иммунитета в организме являются фагоциты, моноциты, нейтрофилы. Их ключевая роль заключается в обеспечении элиминации из организма инфекции различного характера, однако функция фагоцитов может быть модулирована (праймирована) бактериальными продуктами и цитокинами. Отличительными признаками нейтрофилов могут служить такие параметры как: уровень как окислительного метаболизма, так и экспрессии тех или иных рецепторов, а также фенотипические особенности [185]. Однако, анализ научной литературы относительно значимости гранулоцитов, а в частности нейтрофилов в патогенезе ПР носит противоречивый характер [71].

В последние годы отмечается тенденция к повышению экстрагенитальной патологии среди первородящих беременных, это обусловлено старшим репродуктивным возрастом и наличием хронических заболеваний, которые приводят к осложнению течения беременности и неуклонный рост неблагоприятных акушерских исходов. Основными среди заболеваний являются такие как: хроническая артериальная гипертензия (ХАГ), гестационный сахарный диабет (ГСД), варикозная болезнь (ВБ), тромботические осложнения (тромбофлебит (ТФ), тромбоз глубоких вен (ТГВ)) и эпилепсия [2, 3, 167]. По данным литературы принято считать, что данные осложнения возникают в результате дисфункции эндотелия (ДЭ) и развивающихся на ее фоне нарушений в системе гемостаза [3, 167].

Перспективным направлением в акушерской практике является изучение ДЭ, а также влияние различных лекарственных препаратов на функциональные характеристики эндотелия [83].

Интересным направлением в патогенезе преждевременных родов является изучение дисбаланса окислительно-восстановительных реакций во время беременности на различных молекулярных уровнях.

Общепринятым является то, что при беременности происходит транспортировка питательных веществ и продукты метаболизма от матери к развивающемуся плоду посредством трансплацентарного переноса. Вследствие чего происходит увеличение обеспечения энергией организма посредством интенсивной работы митохондриального аппарата. С одной стороны, происходит увеличение продукции энергии митохондриями, с другой это состояние характеризуется также и повышенной продукцией активных форм кислорода (АФК) либо активных форм азота (АФА). Это состояние опасно тем, что наличие неспаренных электронов, обладающих высокой реакционной способностью, приводят к дисбалансу между свободными радикалами и антиоксидантами. Данное состояние, характеризуется нарушением окислительно-восстановительного баланса клетки и приводит к развитию оксидативного стресса (ОС), который в свою очередь участвует в повреждении клеток и тканей и в последующем может приводить к дисфункции органов и систем [101, 154]. Контроль над токсическими процессами ОС регулируется антиоксидантной системой, нейтрализующей свободные радикалы.

Глутатионпероксидаза – семейство селеносодержащих ферментов, катализирующих реакции восстановления, тем самым защищающих организм от окислительного повреждения. Данный антиоксидантный фермент участвует в таких реакциях восстановления как: перекиси водорода до воды; органических гидропероксидов, липидов, образующихся в процессах перикисного окисления липидов (ПОЛ) до гидроксипроизводных.

В ряде публикаций в рамках концепции роли асептического воспаления в генезе преждевременных родов особое значение придается так называемым факторам, ассоциированным с повреждением клеточных структур (DAMPs). В связи с высокими энергозатратами, необходимыми для обеспечения успешного развития плода, большое значение имеет состояние энергообразующих аэробных клеточных систем (митохондрий). Эффекторное действие DAMPs в отношении этих систем в сочетании с их противовоспалительным действием выполняет роль триггера, вызывающего индукцию ПР.

Ярким примером такого рода DAMPs служит мтДНК, которая (в отличие от ядерной) находится внутри митохондрий, и имеет кольцевую форму. Ее структура включает 22 гена транспортных белков и 2 рибосомальные РНК, принимающие участие в синтезе белка непосредственно в митохондриях. В результате повреждения мтДНК развивается первичная митохондриальная дисфункция, для которой характерно наличие дисбаланса уровня АТФ в клетке, что приводит к повышенной продукции активных форм кислорода (АФК) и развитию патологических процессов. Механизм активации воспаления является многоэтапным и происходит посредством связывания мтДНК с рецептором TLR-9, вызывая активацию сигнального пути и провоцируя врожденный иммунный ответ. Исследования последних лет показали, что на сегодняшний день перспективным является изучение митохондриальной ДНК в патогенезе больших акушерских синдромов [52, 53].

Имеются данные что к митохондриальным DAMPs также относят: митохондриальный транскрипционный фактор А (TFAM), белок OPA1, локализующийся на внутренней мембране митохондрий, регулирует слияние митохондрий и структуру крист; VDAC1 – это барьерный белок, который находится в толще наружной мембраны митохондрий и образует большие поры (ионный канал).

Функция данного белка состоит в обеспечении транспорта веществ, в частности АТФ в клетку и из нее, из цитоплазмы в органеллы и наоборот. Различают его изоформы VDAC (VDAC2; VDAC3), которые также участвуют в регуляции клеточного обмена веществ. При нарушении регуляции его экспрессии, могут реализовать митохондриальные дисрегуляторные пути апоптоза [109]. Достаточно новым и интересным направлением при изучении патогенеза ПР считается представление и роль микрофлоры организма [1]. На поддержании нормального ее состава как известно, сосредоточено подавляющее большинство исследований в научно-практической сфере. Взаимосвязь изменения состава микрофлоры (качественного и количественного) с различными заболеваниями свидетельствуют многочисленные лабораторные исследования, которые производятся путем изучения и идентификации микроорганизмов в различных биотопах. Проект, который явился одним из центральных в данном направлении – «Микробиом человека» (исследовательская инициатива, проявленная с целью лучшего понимания микрофлоры человека и её значения для человеческого здоровья), реализованный в рамках проекта Национального института здоровья в 2012 г. Исследуемый материал получали из следующих биотопов: полость рта/ротоглотка, кожа, желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), урогенитальный тракт (УГТ). Эти данные послужили поводом для дальнейшего углубленного изучения различных биотопов, о чем свидетельствуют недавние публикации посвященные влиянию микробиоты кишечника на реализацию спонтанных преждевременных родов [96, 101, 161].

Также важным биотопом для исследования, является урогенитальный тракт у женщин, так как это может приводить к различной патологии, приводящей к бесплодию, что подтверждалось данными о представителях условно-патогенной микрофлоры в поддержании гомеостаза УГТ.

Особый вклад в обеспечении колонизационной резистентности и стабильности состава нормофлоры влагалища либо их ассоциации изучение различных видов бактерий рода *Lactobacillus* с развитием комплекса

дисбиотических нарушений. Во время беременности корректная этиологическая терапия нарушения микрофлоры поможет избежать как акушерских осложнений, так и патологии внутриутробного развития, а в постнатальном периоде инфекционных осложнений [20]. В настоящее время имеется множество данных, которые указывают на скрытую микробную инфекцию половых путей как частый фактор, связанный со спонтанными преждевременными родами, особенно если это происходит до 30-32 недель беременности. Поиск маркеров инфекции/воспаления верхних мочевых путей, которые в конечном итоге приведут к преждевременным родам, является важным направлением текущих исследований. R. Romero et al. [199] сообщают, что дисбаланс в ответе на IL-1 и IL-1RA, измеренный в цервикально-вагинальном секрете, у женщин с вагинальной колонизацией анаэробными грамотрицательными палочками или *G. vaginalis* при сроке беременности 18-22 недели связан со СТР. Используя пороговые значения, полученные на основе анализа ROC, повышенная концентрация IL-1 и пониженное соотношение IL-1RA: IL-1 идентифицировали женщин с повышенным риском СТР с чувствительностью 48% и 78%, специфичностью 77% и 51%, положительная прогностическая ценность 21% и 17% и отрицательная прогностическая ценность 92% и 95% соответственно. Такие данные критически важны, поскольку они способствуют нашему пониманию роли иммунного ответа в преждевременных родах, опосредованных инфекцией. Примечательно, однако, что иммунный ответ довольно сложен и, вероятно, включает взаимодействие большего количества факторов, чем IL-1 и IL-1RA. В некоторых исследованиях [152, 171] было показано, что иммунная гипореактивность половых путей, измеряемая по уменьшению, а не по увеличению более низких концентраций в половых путях нескольких цитокинов, включая IL-1, связана с последующим хориоамнионитом. Десятилетие интервенционных испытаний направленные на детекцию преждевременных родов, опосредованных инфекцией/воспалением, дало неоднозначные результаты; большинство даже не имело прогностической



ценности. Давно искали более дискриминационный маркер для выявления женщин из группы риска. Использование цервикальных IL-1 и IL-1RA для выявления женщин для будущих интервенционных испытаний не вызывает доверия из-за низкой положительной прогностической ценности, особенно из-за нескольких сообщений о повышенном риске ПР у некоторых женщин, получавших антибиотики. Тем не менее, исследования иммунного воспалительного ответа на бактериальную инфекцию и генетической основы этого ответа, вероятно, будут чрезвычайно важны в стремлении снизить перинатальную заболеваемость и смертность в результате преждевременных родов.

### **1.3. Диагностические возможности исследования состояния врожденного иммунитета и факторов антиоксидантной защиты при преждевременных родах**

Терапевтические мероприятия, направленные на детекцию угрожающих преждевременных родов, порой неэффективны. Достижения акушеров-гинекологов в отношении решения данной проблемы значимы, однако частота неблагоприятных перинатальных исходов остается стабильно высокой [34].

Основным клиническим проявлением угрожающих преждевременных родов (УПР) являются боли внизу живота различного характера, повышение тонуса матки, а также структурные изменения родовых путей. Следует отметить, что эти проявления могут иметь также латентный характер и нередко эти данные достаточно субъективны и зависят от индивидуальной чувствительности женщин. По мнению С. Urquhart et al. [222], перспективным диагностическим методом может служить использование домашнего мониторинга маточной активности в сочетании с другими факторами риска [222]. F. Wang et al. [229] считают, что современные мониторы обладают высокой способностью распознавания маточных сокращений, что позволяет идентифицировать начало родовой деятельности с ранних этапов и способствует своевременному назначению токолитических средств.

Определение динамических изменений длины шейки матки (ДШМ) на сегодняшний день остается одним из наиболее важных прогностических критериев диагностики ПР. Также на основании таких параметров как раскрытие маточного зева, консистенции, положения относительно проводной оси таза, расположения предлежащей части относительно седалищных остей (см) была основана бальная шкала оценки степени зрелости E. Bishop [84]. На основании изменения консистенции шейки матки, а также динамического ее укорочения вероятность наступления преждевременных родов возрастала. Широкое применение на сегодняшний день получил метод цервикометрии основанный на трансвагинальной ультразвуковой оценке состояния шейки матки, ее длина менее 2,5 см по данным цервикометрии, расценивается как угроза преждевременных родов. При физиологическом течении беременности тонус миометрия, как правило отсутствует, шейка матки имеет плотную консистенцию, а ее длина составляет около 3-3,5 см. Тогда как под влиянием простагландинов и гормонов к моменту родоразрешения происходит ее структурные изменения, в частности размягчение и укорочение. Цервикометрия широко применяется после 20 недель беременности, так как до этого времени критерии не являются однозначными наряду с анатомическими ее особенностями [69].

Проспективное исследование S. Moeun et al. [231] установило, что трансвагинальное укорочение шейки матки является прогностическим фактором преждевременных родов и, в сочетании с соответствующими стратегиями профилактики преждевременных родов, было связано со снижением СПР у бессимптомных женщин с одноплодной беременностью [77]. Согласно результатам исследования W.A. Grobman et al. [122], статистически значимым была выявлена короткая шейки матки у первобеременных женщин, а у повторнобеременных в отношении данного параметра достоверных различий выявлено не было [181]. Несмотря на то, что метод трансвагинального измерения длины шейки матки является клинически значимым с точки зрения прогноза наступления ПР, имеются данные,

свидетельствующие в пользу своевременных родов даже при укорочении данного показателя, что диктует необходимость дальнейшего исследования [36, 66, 117].

На сегодняшний день имеются данные рекомендующие проводить скрининг длины шейки матки всем беременным высокой группы риска, у которых в анамнезе наблюдались неблагоприятные акушерские исходы. Доказан высокий риск реализации ПР при укорочении данного параметра (Society for Maternal-Fetal Medicine, 2016) [3, 107].

Одним из доступных методов считается определения уровня фибронектина (ФН) в цервикальной слизи [88, 99, 159]. Фибронектин является одним из ключевых белков внеклеточного матрикса, структурный гликопротеин, синтезируемый и продуцируемый в межклеточное пространство многими клетками. Прогностическая ценность данного белка характеризуется тем, что он присутствует как в клетках трофобласта, так и в децидуальной оболочке, а также в амниотической жидкости. В норме его измерение осуществляется в цервикальной слизи, а при его определении его после 20 недель беременности является важным предиктором развития ПР [88, 99, 159].

Значимости фибронектина в цервикальной слизи было посвящено проведение мета-анализа, в результате которого выявлена прямая корреляционная зависимость между повышением его уровня с риском развития ПР, а также выявлена предельная концентрация, равная 60 нг/мл, при которой ПР могут реализоваться в ближайшие 7 дней. P. Rosenberg et al. [178] опубликовали результаты проспективного обследования пациенток, с угрожающими преждевременными родами на различных гестационных сроках, было установлено, что частота ПР составила 26%. Однако по мнению авторов определение фетального фибронектина является дополнительным методом наряду с другими биохимическими методами.

Одним из таких достаточно технически простых методов является тест на определение плацентарного I-микроглобулина (ПАМГ-1), основанный на

определении  $\alpha$ -микроглобулин-1 в амниотической жидкости. ПАМГ-1 – является низкомолекулярным белком, который был впервые выделен из околоплодных вод, в дальнейшем его содержание было обнаружено в ворсинчатой и децидуальной ткани, в эндометрии.

Известно, что концентрация ПАМГ-1 в околоплодных водах беременных женщин на несколько тысяч значений выше, чем в фоновых выделениях из влагалищного отдела при интактных плодных оболочках. При проведении мета-анализа, основанного на 20 клинических исследованиях, было установлено, что положительный результат теста был ассоциирован с преждевременным разрывом плодных оболочек и с повышенным риском реализации ПР в ближайшее время. Высокая чувствительность, определяет возможность применения данного метода также на ранних сроках беременности. Однако положительный результат теста необходимо комбинировать с другими методами, а также подкреплять клиническими проявлениями [6, 19].

Наряду с исследованием биохимических маркеров огромный интерес среди многих исследователей вызывает изучение гормонального дисбаланса на фоне беременности [131]. Одним из которых является эстроген, его продукция осуществляется плацентой, а к моменту родоразрешения его суточная секреция увеличивается примерно в 30 раз по сравнению с исходным уровнем. Эстроген в организме представлен эстрадиолом, эстроном и эстриолом. Прогностическую важность в отношении реализации родов представляет эстриол, который продуцируется в основном трофобластом, получаемый из печени плода. Имеются данные о том, что его уровень за 2-3 недели до момента начала родов достигает максимальных значений, это позволяет рассматривать данный маркер, как прогностический, в отношении развития ПР. Также доказано примерная одинаковая концентрация эстриола как в плазме крови, так и в слюне. Этот метод является более доступным, в связи с чем получил широкое применение [141, 153].

Кроме того, при нормальном течении беременности известен механизм влияния эндогенного прогестерона на снижение риска развития ПР. По результатам многочисленных исследований доказана связь снижения уровня прогестерона с началом родовой деятельности. В результате регулирования эндокринных и противовоспалительных механизмов оправданы исследования, направленные на оценку эффективности применения экзогенного прогестерона для профилактики преждевременных родов [28]. В целом имеющиеся данные убедительно свидетельствуют о том, что прогестерон играет важную роль в реализации ПР. Эта точка зрения подтверждается результатами недавнего метаанализа группы авторов под руководством Роберто Ромеро, который предоставил убедительные доказательства преимуществ использования вагинального прогестерона для предотвращения преждевременных родов и заболеваемости новорожденными у женщин с укороченной шейкой матки после УЗИ [203].

Исследование R. Rzepka et al. [208] было направлено на оценку диагностической ценности SDF-1 $\alpha$ , резистина, секреторного RAGE (sRAGE) и эндогенного секреторного RAGE (esRAGE) при ПР. У женщин в группе преждевременных родов уровни SDF-1 $\alpha$  и sRAGE были ниже, чем при своевременных родах. Более того, в группе ПР уровни SDF-1 $\alpha$  и sRAGE коррелировали с латентным периодом от появления симптомов преждевременных родов до начала родовой деятельности. Была отмечена высокая прогностическая ценность уровней SDF-1 и sRAGE в плазме была сравнима с таковой при ультразвуковом измерении длины шейки матки и уровнях С-реактивного белка в сыворотке. Авторы пришли к выводу, что SDF-1 и sRAGE в сочетании с ультразвуковым исследованием и измерением С-реактивного белка в сыворотке, играют важную роль в диагностике преждевременных родов, и их комплексная оценка может быть полезной для прогнозирования преждевременных родов.

По мнению Т.К. Morgan et al. [173] патология плаценты, дает важную диагностическую информацию, для установления причин ПР.

Неблагоприятным фактором риска принято считать наличие внутриамниотической инфекции однако накопление доказательств на основе патологии плаценты, посевов околоплодных вод и исследований полимеразной цепной реакции (ПЦР) предполагает, что инфекция может быть менее частой причиной преждевременных родов, чем предполагалось ранее, особенно после 32 недель беременности [173]. Напротив, многие случаи ПР, по-видимому, вызваны плацентарной недостаточностью, подобно преэклампсии и/или задержке роста плода. Другие причины ПР, включая ретроплацентарную отслойку, хронический виллит и многоплодную беременность, также имеют специфическую патологию плаценты, связанную с плацентарной недостаточностью. Новое понимание основных механизмов, регулирующих маточно-плацентарный кровоток, и влияние плацентарной мальперфузии на состояние плаценты может привести к улучшению диагностики на ранних сроках беременности и своевременной профилактики [181, 191].

Эндотелиальный фактор роста сосудов (VEGF-A) представляет собой фактор роста с важной проангиогенной активностью, обладающий митогенным и антиапоптотическим действием на эндотелиальные клетки, увеличивая проницаемость сосудов, а также способствуя миграции клеток. Благодаря этим эффектам он вместе с другими факторами активно способствует в регуляции нормальных и патологических ангиогенных процессов. К ним относятся: плацентарный фактор роста (PlGF) и фактор роста фибробластов (bFGF) [83]. Являются ли прогностическими факторами преждевременных родов повышенные уровни VEGF и PlGF, указывающие на нарушение ангиогенеза и склонность к воспалительной реакции в середине II триместра, оценивали в своей работе S. Lee et al. [156]. Имеют ли уровни фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), фактора роста плаценты (PlGF) и растворимого рецептора VEGF-1 (sFlt-1) в околоплодных водах во II триместре преждевременных родов разные значения по сравнению с своевременными родами. Уровни VEGF, PlGF и sFlt-1 измеряли с помощью

иммуноферментного анализа и вестерн-блоттинга. Уровни VEGF и PlGF в группе ПР были значительно выше, чем в контрольной группе, что позволяет рассматривать данные показатели как перспективные, однако необходимы дальнейшие исследования для более лучшего понимания патогенетической роли сосудистых факторов в развитии ПР [157].

Амниоцентез в середине II триместра продолжает использоваться для пренатальной диагностики хромосомных аномалий и других генетических нарушений. В своем исследовании S.M. Kim et al. [144, 145] провел анализ околоплодных вод, полученных во время генетического амниоцентеза в середине триместра. Это основано на убедительных доказательствах того, что субклиническое внутриамниотическое воспаление/инфекция причинно связана с ранними спонтанными преждевременными родами. Хотя для идентификации внутриамниотического воспаления было предложено несколько биомаркеров, накопленные данные позволяют предположить, что определение металлопротеиназы-8 матрикса околоплодных вод (ММР-8) или коллагеназы нейтрофилов является мощным предиктором спонтанных преждевременных родов. ММР-8 высвобождается воспалительными клетками в ответ на микробные продукты или «сигналы опасности». Был разработан экспресс-тест для определения ММР-8 у постели больного в течение 20 минут без использования лабораторного оборудования.

Широкое применение получили исследования, в которых описывается роль не только этнической принадлежности в развитие ПР, так и генетическая предрасположенность к данному осложнению беременности [226, 234]. Исследование I. Christiaens et al. [95] доказало связь между полиморфизмом гена рецептора минералокортикоидов и преждевременными родами, подтверждая тем самым роль генетической предрасположенности к оксидативному стрессу их развития. Подтверждение данной гипотезы было получено в работе О.И. Федотовской [60] была изучена и доказана роль полиморфизма генов цитокинов различных генотипов в зависимости от срока

беременности. Полученные данные свидетельствовали о вкладе индивидуальной генетической предрасположенности реализации ПР.

На сегодняшний день имеются работы, связанные с уровнем экспрессии исследованных генов в эпителии влагалища в зависимости от состояния микробиоценоза [1, 18]. В работе Т.А. Курчаковой [33] были получены результаты о вероятности реализации преждевременных родов на разных сроках гестации у женщин с угрожающими преждевременными родами на основании анализа микробиоциноза влагалища. Показано что как на ранних и так на поздних сроках гестации вероятность реализации преждевременных родов была выше у женщин с дисбиотическими нарушениями, по сравнению с нормоценозом. Оценка про- и противовоспалительного статуса в цервикальном канале выявила экспрессию генов IL18 и достоверное увеличение экспрессии генов GATA3 при дисбиотических нарушениях. Также было показано, что содержание малонового диальдегида (МДА) в плазме крови достоверно увеличивается по мере прогрессирования беременности, что свидетельствует о развитии выраженного окислительного стресса при ПР [33]. Кроме того, о важности состояния микробиоценоза влагалища упоминалось в работе З.А. Абусуевой [1], целью исследования являлось выявление особенностей акушерско-гинекологического анамнеза у женщин с ПР и выявления наиболее значимых факторов, также было проанализировано состояние микробиоты вагинального тракта у данных пациенток. В группе с ПР статистически значимо чаще встречались женщины с невынашиванием беременности в анамнезе, с высоким паритетом родов (более 3), с избыточной массой тела и ожирением различной степени тяжести, с анемией, с заболеваниями шейки с их оперативным лечением, с неспецифическим вагинитом, с бактериальным вагинозом. Дисбиоз вагинального тракта различной степени выраженности был выявлен у 67% пациенток.

В последнее время в рамках концепции роли асептического воспаления в генезе преждевременных родов особое значение придается так называемым факторам, ассоциированным с повреждением клеточных структур (DAMPs)



[196]. Были получены данные о том, что данные повреждения наблюдались при таких патологиях беременности как преэклампсия и задержка роста плода [52]. Механизм этого явления остается неизученным, в связи с чем актуальным является исследование корреляционных зависимостей между уровнями DAMPs митохондриального происхождения, выраженностью окислительного стресса, на фоне дисбиотических нарушений и вероятностью реализации преждевременных родов [106, 225]. Многие медиаторы воспаления (и иммунные клетки) участвуют в ранних событиях беременности, прежде всего в имплантации эмбриона. Для правильной инвазии и ремоделирования спиральных артерий трофобластами плода требуется жесткая регуляция иммунной системы, что недавно было рассмотрено [79]. Также в работе M. Vaumbusch et al. [79], были отмечены повышенные уровни HMGB1 в околоплодных жидкостях и связаны с прерыванием беременности у крыс и меньшим содержанием HMGB1, наблюдаемым в рецептивной фазе имплантации у людей. Кроме того, генетический полиморфизм HMGB1, характеризующийся более высокой экспрессией HMGB1 в плаценте, был связан с RPL. Кроме того, было показано, что HMGB1 вызывает воспаление, характеризующееся повышенной секрецией IL-6, IL-8 и CCL2 в трофобласте первого триместра в зависимости от NF-κB и активных форм кислорода. Было обнаружено, что количество других алларминов, и микрочастицы клеточного происхождения, также повышается при выкидышах на ранних сроках [92]. Эти данные указывают на потенциальную роль DAMPs в ранних потерях беременности, хотя остается еще много нерешенных вопросов. Несмотря на достаточно большое количество проведенных исследований, направленных на изучение патогенетических механизмов ПР и поиск диагностических маркеров, отсутствуют эффективные профилактические мероприятия данного осложнения беременности.

Методы профилактики, включающие динамическую оценку состояния беременной, оценка состояния родовых путей, при различных патогенетических вариантах развития ПР имеют сугубо индивидуальный

характер, а также зависят от состояния интактности плодных оболочек. Тактика ведения пациенток с ПРПО представляет собой сложную задачу, и зависит не только от совокупности клинических проявлений, данных клинико-лабораторных обследований, но и важным аспектом является гестационный срок. При ПРПО в сроке 34 недель выжидательная тактика не показана более 24 ч, так как повышает риск акушерских осложнений без улучшения неонатальных исходов. При 28-32 неделях беременности ведение данных пациенток решается индивидуально, которое зависит от совокупности клинических и лабораторных показателей, и в свою очередь направлено на повышение жизнеспособности плода.

На сегодняшний день существует необходимость проведения исследований направленных на уточнение более четких механизмов патогенеза развития ПРПО для оптимизации тактики ведения данных пациенток (профилактика РДС плода), профилактики и лечения инфекционных осложнений.

Важным направлением профилактики преждевременных родов является коррекция состояния истмико-цервикальной недостаточности. Цервикальная недостаточность является патофизиологическим понятием и на сегодняшний день не существует единого определения: диагноз является клиническим и обсуждается ретроспективно в случае пациентов с поздними выкидышами и / или спонтанными преждевременными родами в анамнезе с латентным раскрытием шейки матки. Риск преждевременных родов выше в случае хирургической конизации холодным ножом по сравнению с петлевым электрохирургическим иссечением (LE3), а лазерная вапоризация оказывает незначительное влияние (LE3). Пациентам с поздним невынашиванием беременности или преждевременными родами в анамнезе рекомендуется обследование для диагностики пороков развития матки. Серкляж с указанием анамнеза не рекомендуется только в случае наличия в анамнезе конизации, порока развития матки, наличия преждевременных родов или многоплодных беременностей при первичной профилактике преждевременных родов.

Серкляж по показаниям в анамнезе рекомендуется при одноплодной беременности при наличии не менее трех поздних выкидышей или преждевременных родов в анамнезе. В случае одного или двух поздних выкидышей или преждевременных родов в анамнезе нет достаточных аргументов, чтобы рекомендовать серкляж. Необходимы дальнейшие исследования. Серкляж по показаниям УЗИ не рекомендуется в случае короткой длины шейки матки во 2 триместре одноплодной беременности без гинекологических или акушерских событий в анамнезе. В случае одноплодной беременности в анамнезе до 34 недель беременности рекомендуется ультразвуковое исследование длины шейки матки между 16 и 22 неделями чтобы предложить серкляж в случае длины <25 мм до 24 недели беременности. Серкляж по показаниям УЗИ не рекомендуется при многоплодной беременности с короткой шейкой матки. Экстренный серкляж по методу Макдональда рекомендуется во втором триместре беременности в случае серьезных изменений шейки матки, с выпячиванием плодных оболочек или без него, но без преждевременного разрыва плодных оболочек или хориоамнионита. Применение токолитической и антибактериальной терапии во время серкляжа следует рассматривать индивидуально. Не может быть рекомендован максимальный срок беременности для проведения серкляжа. Научных данных недостаточно, чтобы рекомендовать или не рекомендовать вагинальный бактериологический анализ перед выполнением серкляжа, однако имеется накопленный положительный опыт свидетельствует о более благоприятных исходах при предварительной санации родовых путей. Использование двойного серкляжа не улучшает перинатальный исход (NP3) и не рекомендуется. Нет достаточных научных аргументов, чтобы рекомендовать один тип шва по сравнению с другим. Имеющиеся данные не говорят в пользу превосходства серкляжа. В целом осложнения серкляжа редки, но потенциально опасны. Возникновение осложнений не различается между серкляжем, проведенном в анамнезе, и ЭХО-показателем (LE4). Нет научных данных о пользе постельного режима и адьювантного лечения

(антибиотики или индометацин) в анамнезе или серкляже. Хирургическая коррекция у беременных высокой группы риска по данным Кохрейновского обзора снижает частоту преждевременных родов, не оказывая существенного влияния на частоту перинатальной заболеваемости. Однако авторы обращают внимание на персонализированный подход в каждом отдельном клиническом случае.

Неоспоримым как при СПР, так и при ПРПО является сложность выбора акушерской тактики наряду с отсутствием единого мнения, также важным аспектом остается ранняя диагностика и прогнозирование данных состояний. Выявление женщин повышенного риска развития ПР поможет осуществить своевременную транспортировку беременных в стационары соответствующего уровня, и применить соответствующий комплекс профилактических и терапевтических мероприятий. Терапевтическую тактику при угрожающих преждевременных родах определяют, разделяя сроки беременности: менее 23, 23-31, 32-33, 34-36 недель. Также важно предотвратить гнойные осложнения при разрыве плодных оболочек. Для беременной в большей степени риск связан с развитием хориоамнионита в некоторых случаях достигая 60%. Существует зависимость между увеличением числа инфекций, передаваемых половым путем, и дородовым излитием околоплодных вод. Более чем в 30% случаев у пациенток с ПРПО наблюдаются положительные культуральные посевы, что свидетельствует о проникновении бактериальных агентов через интактные мембраны. В случае клинических проявлений симптомов хориоамнионита, назначается антибактериальное лечение [82, 88, 100, 182].

Вышеизложенное, подтверждают тот факт, что преждевременные роды являются распространенной проблемой во всем мире, частота которой не имеет тенденции к снижению. Данное осложнение характеризуется высокой инвалидизацией, заболеваемостью и смертностью недоношенных детей. Существующие на сегодня методы диагностики преждевременных родов недостаточно чувствительны и специфичны, сложны в практическом

применении, что делает данную проблему актуальной. Кроме того, не выделены четкие диагностические критерии не определена рациональная тактика ведения как спонтанных преждевременных родов, так и преждевременных родов с преждевременным разрывом плодных оболочек, необоснованы основные принципы их дифференциальной диагностики.

Представленный выше обзор литературы показывает пробелы в знаниях этиопатогенеза преждевременных родов. Несмотря на изученность инфекционного фактора данной проблемы, остается много нерешенных вопросов, связанных с локальной системой защитных механизмов. При достаточно большом количестве исследований направленных на выявление точных диагностических маркеров, вопрос о предикции данного осложнения беременности остается открытым. Наряду с этим поиск дополнительных методов исследования поможет оптимизировать алгоритм ведения пациенток высокой группы риска, разработать комплекс профилактических и лечебных мероприятий при преждевременных родах для снижения акушерских осложнений и улучшения неонатальных исходов.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **2.1. Материалы исследования**

Настоящая диссертационная работа была выполнена в период с октября 2014 по август 2018 гг. В результате проведенного проспективного исследования были проанализированы такие данные, как: исходная клиническая характеристика, особенности течения беременности, а также ее исходы у 142 пациенток, которые были родоразрешены 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.

Пациентки были включены в исследование по мере обращаемости. Согласно данным как клинико-лабораторных и функциональных методов обследования, так и поставленному диагнозу, а также в соответствии с разработанными критериями включения в исследование, все беременные были разделены на 3 группы.

**Группа 1** – Спонтанные преждевременные роды (СПР) (43 женщины);

**Группа 2** – Преждевременные роды с преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) (47 пациенток);

**Группа 3** – Беременные с угрозой преждевременных родов с последующим родоразрешением при доношенном сроке беременности – своевременные роды (группа сравнения) (52 случая).

Кроме того, для выявления более точных референсных значений по некоторым показателям была дополнительно включена группа из 50 пациенток с физиологическим течением беременности и своевременными родами (СР).

Кроме того, женщины со спонтанными преждевременными родами и преждевременными родами с преждевременным разрывом плодных оболочек были разделены на 3 группы в зависимости от срока родоразрешения – очень

ранние преждевременные роды – 22-27,6 недель, ранние преждевременные роды – 28-33,6 недель и поздние преждевременные роды – 34-36,6 недель (рисунок 2).

### Дизайн исследования

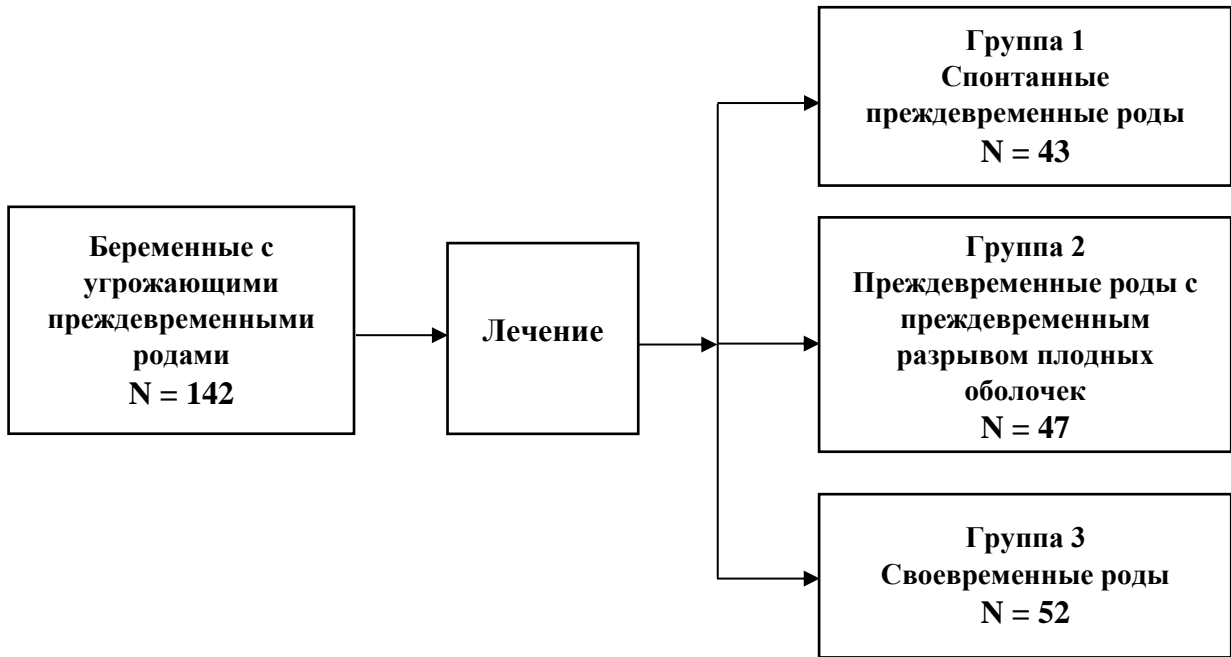


Рис. 1. Дизайн проспективного исследования.

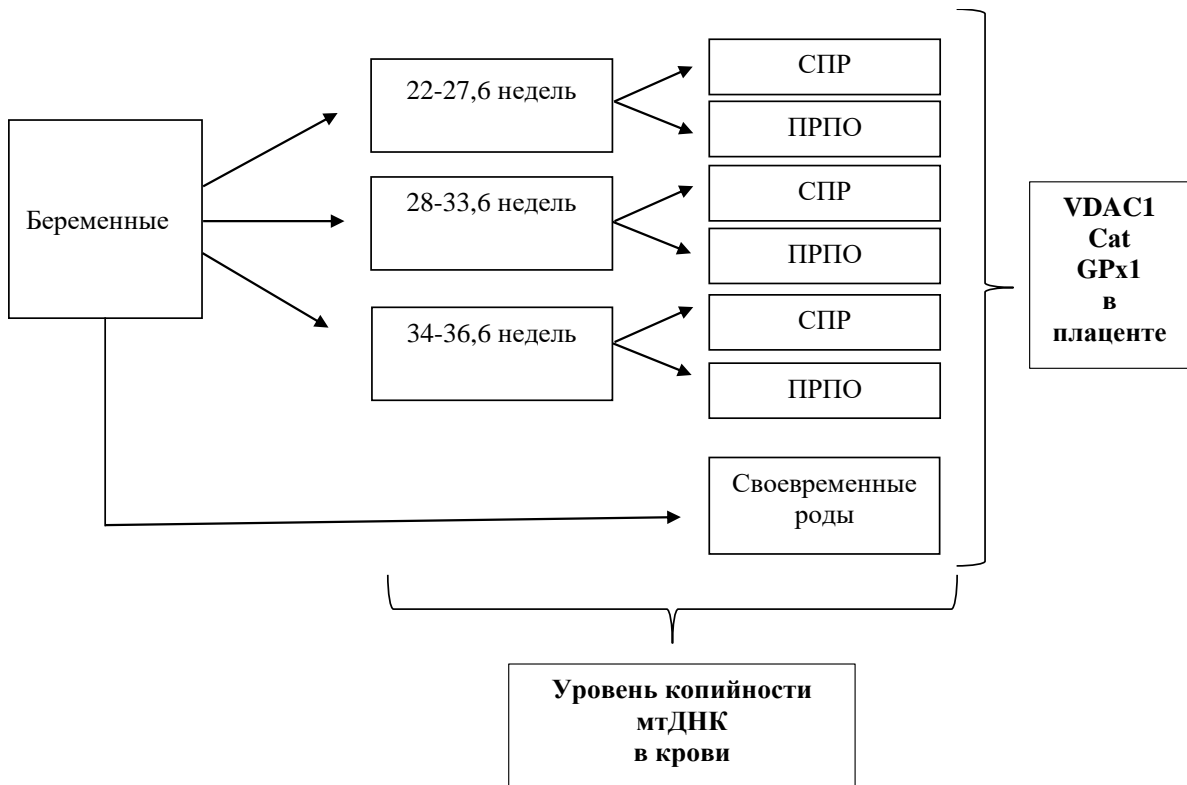


Рис. 2. Распределение пациенток с преждевременными родами по группам

**Критериями включения являлись:**

1. Одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле;
2. Беременные с преждевременными (22-36,6 недель) и своевременными родами через естественные родовые пути;
3. Информированное согласие на участие в исследовании;

**Критерии невключения:**

1. **Абдоминальное родоразрешение;**
2. Беременные с тяжелой экстрагенитальной патологией;
3. Тяжелая акушерская патология, требующая elective досрочного родоразрешения;
4. Плацентарная недостаточность;
5. Врожденные пороки развития плода;
6. Многоплодная беременность;
7. ВИЧ инфицированные беременные;

Всем пациенткам, включенным в исследование, 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)».

Каждая женщина была проинформирована с целью и методами проводимого исследования, все пациентки подписали добровольное информированное согласие на их участие в научном исследовании.

Согласно поставленным задачам, проводился сбор следующего биологического материала: цельная кровь, плазма, сыворотка крови, отделяемое из заднего свода влагалища.

Лечение у пациенток с угрозой преждевременных родов, направленное на пролонгирование беременности, выполнялось в соответствии с



клиническими рекомендациями Минздрава России «Преждевременные роды».

Тактика ведения и родоразрешение беременных определялись по совокупности клинических и функциональных данных, а также по эффективности лечения в каждом конкретном случае.

## **2.2. Методы исследования**

Было применено использование передовых методов исследования, реактивов и лабораторного оборудования ведущих производителей. Основные принципы при проведении исследований были следующие:

### **Общие методы исследования**

Все пациентки, включенные в исследование, проанализировали данные наследственного, соматического и акушерско-гинекологического анамнеза. Особое внимание уделялось изучению последствий заболеваний различной этиологии, а также особенностей паритета, более тщательно проводился анализ исходов предыдущих беременностей особенно случаев ранних потерь беременности, преждевременных родов, рождения детей с пороками развития, перинатальных потерь.

Во время амбулаторного приема пациенток проводилась функциональная оценка органов и систем, а также динамическое наблюдение за беременностью при помощи общего осмотра.

Определение положения, предлежание и позиции плода, а также состояние активности маточной мускулатуры проводилось при наружном акушерском осмотре, специфической двигательной активности, частоты сердечных сокращений плода, соответствия измерения матки надлежащей беременности.

Бали применены и общепринятые характеристики измерения окружности живота, высоту стояния дна матки, соответствие размеров матки надлежащему сроку. Данные сравнивали с нормативными значениями, принятыми для этих показателей. Вычисление предполагаемой массы плода

произведены согласно классическим формулам Жордания, Джонсона, Якубовой.

Дополнительно был проведен анализ следующих показателей: группа крови и резус-фактор, общий и биохимический анализы крови, гемостазиограмма, общий анализ мочи, мазок из влагалища и цервикального канала на микрофлору. При наличии воспалительных заболеваний органов мочевыделительной системы в план обследования дополнительно включали анализ мочи по Нечипоренко, пробы Зимницкого и Реберга, бактериологическое исследование мочи и содержимого влагалища, УЗИ почек.

## **Функциональные методы исследования**

### **Ультразвуковое исследование**

Всем женщинам проводился ультразвуковой скрининг согласно сроку гестации. Ультразвуковое исследование проводили на приборах Hitachi HI VISION Preirus (Япония), GE Voluson E8 (США), Mindray DC-8 (КНР). Использовали стандартные протоколы (оценка фетометрических параметров, анатомия плода, локализации плаценты, количество и характер околоплодных вод, цервикометрия). Полученные результаты биометрии плода сравнивали с нормативными значениями, рассчитывали предполагаемую массу тела и длину плода. Зрелость плаценты определяли по критериям P.A. Grannum, которые предполагают 4 степени: 0, I, II, III.

### **Допплерометрическое исследование кровотока в системе «мать-плацента-плод»**

Допплерометрическое исследование было проведено при помощи приборов Hitachi HI VISION Preirus (Япония), GE Voluson E8 (США), Mindray DC-8 (КНР). Оценивали параметры плодово-плацентарного и маточно-плацентарного кровотоков.

### **Аntenатальная кардиотокография**

Аntenатальная и интранатальная кардиотокография была выполнена с помощью «УНИКОС-01» и «Sonicaid Team» (Великобритания). Был изучен

базальный ритм, вариабельность, количество, амплитуда и характер акцелераций и децелераций. Исследовали сократительную активность матки.

### **Специальные методы исследования**

#### **Молекулярно-биологические методы**

Взятие биоматериала для определения микробиоценоза влагалища и экспрессии генов цитокинов осуществляли цитологическими щетками отдельно из влагалища. Во избежание деградации мРНК материал помещали в пластиковую пробирку, содержащую 500 мкл среды для стабилизации РНК (набор реагентов для выделения ПРОБА-НК, ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Всем пациенткам было проведено исследование структуры микробиоценоза влагалища методом Фемофлор (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) и измерение уровней мРНК генов TLR4, CD68, TNF, GATA3, IL1 $\beta$ , IL10, IL18, TNF $\alpha$ , TLR4 в клетках заднего свода влагалища определяли методом количественной ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

Нуклеиновые кислоты выделяли с использованием набора реагентов ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Метод выделения, применяемый в наборе, включает в себя лизис клеток и депротеинизацию полученной смеси с последующим осаждением нуклеиновых кислот. Объем образцов после выделения составил 100 мкл.

Измерение уровней экспрессии целевых генов проводили в сравнении с 4 референсными генами B2M, TBP, GUSB, HPRT1 с применением коммерческих реактивов для количественного ОТ-ПЦР (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) согласно инструкции производителя. Праймеры и зонды для ПЦР были подобраны с учетом структуры генов таким образом, чтобы исключить их отжиг на матрице геномной ДНК исследуемых и референсных генов, что позволило исключить дополнительный этап обработки нуклеиновых кислот ДНК-азой.

Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили в объеме 40 мкл (из них 33 мкл составил образец, содержащий РНК) в течение 30 минут при температуре 40°C с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95° С в течение 5 минут.

Реакции амплификации целевых и референсных генов ставили в двух повторах. Результаты амплификации регистрировали с помощью детектирующего амплификатора ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Сигнал флуоресценции во время амплификации детектировался прибором по каналу FAM в автоматическом режиме. Для вычисления уровня экспрессии использовали значения пороговых циклов (Cp). Нормирование на уровень экспрессии референсных генов производили методом сравнения пороговых циклов (метод  $\Delta\Delta Cq$ ). В качестве меры центральной тенденции всех количественных показателей использовали медиану (Me), в качестве интервальной оценки – нижний (0,25) и верхний (0,75) квартили. Результаты представлены в виде Me (0,25-0,75).

Определение локальной воспалительной реакции было выполнено согласно патенту на изобретение О.В. Бурменской № 2552310 «Способ диагностики вагинитов у беременных женщин по уровню экспрессии мРНК генов интерлейкинов во влагалищных мазках» [11]. Данный способ, основан на измерении в вагинальных оскобах уровня экспрессии мРНК генов интерлейкинов IL1B, IL8, IL10 и IL18 относительно представленности мРНК референсных генов B2M, GUS, TBP или HPRT.

### **Выделение ДНК**

Выделение ДНК проводили по методу Higuchi (1989) с некоторыми модификациями. 0,5 мл крови, с EDTA в качестве антикоагулянта, смешивали в 1,5 мл микроцентрифужных пробирках типа Эппендорф с 0,5 мл лизирующего раствора, состоящего из 0,32М сахарозы, 10 мМ Трис-HCl pH 7,5, 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 1% Тритона X-100, центрифугировали в течение 1 мин. при 10000 об/мин, супернатант удаляли, а осадки клеточных ядер два раза отмывали указанным буфером. Последующий протеолиз проводили в 50 мкл

буферного раствора, содержащего 50мМ КСl, 10 мМ Трис-НСl рН 8,3, 2,5мМ MgCl, 0,45% NP40, 045% Твина 20 и 250 мкг/мл протеиназы К при 37°С в течение 20 мин. Инактивировали протеиназу К при 98°С в течение 20 мин. Полученные образцы ДНК до типирования хранили при -20°С. Концентрация ДНК, определенная на ДНК-минифлуориметре (Hoefler, США), составляла в среднем 50-100 мкг/мл.

### **Иммуноквантэкс**

Измерение уровней экспрессии мРНК генов проводилось коммерческими реактивами («Набор реагентов для определения профиля экспрессии мРНК генов врожденного иммунитета с целью оценки локального воспаления нижних отделов женского репродуктивного тракта методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (ИммуноКвантэкс С/У)» ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) методом количественной полимеразной цепной реакции с детекцией в режиме реального времени с предварительной стадией обратной транскрипции (ОТ-ПЦР) согласно инструкции производителя. Праймеры и зонды для полимеразной цепной реакции (ПЦР) были подобраны с учетом структуры генов таким образом, чтобы исключить отжиг на матрице геномной ДНК исследуемых и референсных генов. Это позволило не использовать дополнительный этап обработки нуклеиновых кислот ДНК-азой. Во избежание деградации сразу после взятия материал помещали в пластиковую пробирку объемом 1,5 мл, в которую предварительно внесено 500 мкл транспортной среды для стабилизации РНК (лизирующий раствор из комплекта реагентов для выделения нуклеиновых кислот ПРОБА–НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)). Выделение нуклеиновых кислот для определения экспрессии мРНК проводили с использованием комплекта реагентов ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Метод использует лизис клеток с последующей депротеинизацией и осаждением нуклеиновых. Объем образцов после выделения составил 100 мкл. Реакцию обратной транскрипции (ОТ) ставили в объеме 40 мкл (для реакции брали 33

мкл образца РНК) в течение 30 минут при температуре 40°C с последующей инактивацией обратной транскриптазы при 95°C в течение 5 минут.

### **Определение уровня копийности мтДНК в крови беременных**

Для измерения содержания мтДНК субстратом служила сыворотка крови, взятая в пробирки с ЭДТА. Выделение ДНК производилось с использованием набора ПРОБА-НК (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия). Количество измеряли с помощью спектрофотометра DS-11 (Novex, США). Содержание мтДНК мы измеряли с помощью метода ПЦР в реальном времени, нормируя количество ПЦР-продукта не-полиморфной области D-петли мтДНК на количество ПЦР-продукта фрагмента ядерного гена ( $\beta$ -2-микроглобулина). В реакцию брали 100 нг ДНК и анализировали в трех повторах. Относительные значения количества мтДНК определяли по формуле  $2^{-\Delta Ct}$  [111, 154].

### **Определение уровня содержания структурно-функционального белка VDAC1 и глутатионпероксидазы, каталазы в образцах плаценты методом вестерн блот**

Образец ткани плаценты гомогенизировали в жидком азоте, проводили экстракцию белков в лизирующем буфере RIPA (Abcam). Полученный порошкообразный гомогенат суспендировали в 2кратном денатурирующем восстанавливающем буфере для нанесения образцов 4% додецилсульфат натрия, 10%  $\beta$ -меркаптоэтанол, 20% глицерин, 0,004% бромфеноловый синий, 0,125 М трис-HCl, pH 6,8.

Разделение белков проводили методом электрофореза по Лэммли в 10% полиакриламидном геле в буфере 0,025М трис-HCl, 0,192М глицин, pH 8,3, содержащем 0.2% додецилсульфат натрия при напряжении 200В в камере «Mini Protean II» (Biorad, США) с дальнейшим переносом белков на поливинилиден-дифлуоридную. Для блокировки сайтов неспецифического связывания антител проводили инкубацию мембраны в 5% растворе обезжиренного молока (Biorad, США), приготовленном на основе трис-солевого буфера с pH 7,6. Окрашивание мембран белок-специфичными и

антивидовыми антителами (Abcam, Invitrogen) проводили в тех же условиях. Проявку мембраны осуществляли набором Novex ECL (Invitrogen) в гель-документирующей системе ChemiDoc (Biorad). Анализ интенсивности хемиллюминесценции проводили в программном обеспечении ImageLab. Определение содержания белка в пробах осуществляли по методу Лоури.

Список лабораторных, функциональных и специальных исследований и график их выполнения, а также сроки сбора биологических материалов представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Лабораторные исследования и сроки забора материала для их проведения у обследованных пациенток**

Данные/Время обследования	До родов	После родов	
	22-40 недель	1-е сутки	3-и сутки
Клинический анализ крови	+		+
Биохимический анализ крови	+		+
Гемостазиограмма	+		+
RW, ВИЧ, гепатиты	+		
Определение уровня копийности мтДНК в плазме крови	+		
УЗИ плода	+		
УЗИ матки	+		+
КТГ плода	+		
Оценка микробиоты влагалища методом «Фемофлор»	+		
ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР)	+		
Определение уровня содержания структурно-функциональных белков в образцах плаценты методом вестерн блот		+	

### **Изучение здоровья новорожденных (перинатальные исходы)**

Одним из критериев эффективности проводимых профилактических и лечебных мероприятий является характеристика перинатальных исходов, в том числе оценка состояния детей при рождении. Изучение антропометрических параметров позволяет ретроспективно оценить условия развития внутриутробного «пациента». Течение раннего неонатального

периода было оценено у 142 новорожденных. Все дети сразу после рождения осматривались неонатологом, определялись оценка их состояния по шкале Апгар, масса, рост, окружности головки и грудной клетки. При оценке показателей физического развития новорожденных пользовались популяционными региональными нормативами. В соответствии с общепринятыми критериями, в качестве нормативов принимали показатели в пределах 10-90 перцентилей, вне этих пределов – за отклонение от нее. Постнатальным критерием задержки роста плода является снижение массы тела ниже 10 перцентилей для соответствующего гестационного возраста.

При оценке перинатальных исходов нами наряду с абсолютными значениями, использовались специальные оценочные индексы массоростовых соотношений. В дальнейшем изучалась динамика массы новорожденных, срок отпадения пуповинного остатка, течение раннего адаптационного периода, структура неонатальной заболеваемости. По показаниям дети госпитализировались в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, далее переводились на второй этап выхаживания.

### **Статистические методы**

Полученные данные в ходе проведенного исследования были внесены в разработанные электронные таблицы MS Excel.

Для статистического анализа данных использовали программы «SPSS Statistics 17.0 for Windows». На первом этапе изучаемые переменные распределяли относительно статистической шкалы (номинальной, порядковой или интервальной). Количественные данные были представлены в виде: среднее значение ( $M$ ), среднеквадратическое отклонение ( $\delta$ ), ошибка среднего ( $t$ ), медиана ( $Me$ ), 95%-доверительный интервал, для бинарных данных определяли частоту (%), отношение шансов (OR) и его доверительный интервал (CI). Для сравнения средних величин использовали тест U-тест по методу Манна-Уитни. Для выявления корреляции между переменными рассчитывали ранговый коэффициент корреляции по Спирману. При оценке достоверности различий между средними значениями и достоверности



выявленной корреляции рассчитывали вероятность ошибки  $p$ . Достоверность полученных данных определяли при уровне  $p < 0,05$ . По общепринятой терминологии утверждения, имеющие вероятность ошибки  $p \leq 0,05$ , называют значимыми, утверждения с вероятностью ошибки  $p \leq 0,01$  – очень значимыми, а с вероятностью ошибки  $p \leq 0,001$  – максимально значимыми.

---

В следующих разделах диссертации представлены результаты проведенных исследований и их обсуждение.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### **Глава 3. ИСХОДНАЯ КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА, АКУШЕРСКИЕ ИСХОДЫ У ПАЦИЕНТОК С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ**

В проведенное исследование было включено 142 беременные женщины, которые согласно критериям включения и невключения были разделены на 3 группы.

Группу 1 – составили 43 женщины, родившие в сроках от 22-36,6 недель со спонтанным началом родовой деятельности.

Группу 2 – 47 беременных преждевременными родами с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Группу 3 – 52 случая с родоразрешением в 37-41 неделю – своевременные роды.

#### **Анализ соматического и акушерско-гинекологического анамнеза**

Все беременные женщины, включенные в исследование, были сопоставимы по клинико-анамнестической характеристике. Возраст беременных, включенных в исследование варьировал от 18 до 41 года и составил 29 (27;34), 30 (27;36), 30 (27;32) лет соответственно по группам.

Анализ массо-ростовых соотношений у обследованных беременных отклонений от популяционных норм не выявил. Средняя масса тела в группе 1 составила  $70,4 \pm 12,2$  кг, в группе 2 –  $68,8 \pm 10,2$  кг, в группе 3 –  $65,3 \pm 8,6$  кг, средний рост –  $164,6 \pm 7,0$  см,  $164,3 \pm 7,6$  см,  $165,5 \pm 4,5$  см, ИМТ –  $26,1 \pm 4,5$ ,  $24,8 \pm 5,3$ ,  $23,8 \pm 2,7$  по группам соответственно.

Распределение женщин по возрастным градациям и антропометрическим показателям представлено в таблице 2.

При изучении наследственного анамнеза пациенток (сердечно-сосудистые, эндокринные, онкологические заболевания), статистически значимых различий обнаружить не удалось.

Таблица 2. **Возраст и антропометрические данные обследуемых пациенток**

Показатели	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Возраст*	29 (27;34)	30 (27;36)	30 (27;32)	p <sup>1</sup> =0,5611 p <sup>2</sup> =0,0871 p <sup>3</sup> =0,3151
Рост, см**	164,6±7,0	164,3±7,6	165,5± 4,5	p <sup>1</sup> =0,9641 p <sup>2</sup> =0,5023 p <sup>3</sup> =0,8628
Масса тела, кг**	70,4±12,2	68,8±10,2	65,3±8,6	p <sup>1</sup> =0,9641 p <sup>2</sup> =0,5023 p <sup>3</sup> =0,8628
ИМТ, кг/м2**	26,1±4,5	24,8±5,3	23,8±2,7	p <sup>1</sup> =0,6133 p <sup>2</sup> =0,3381 p <sup>3</sup> =0,6152

\*Данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом, тест Манна-Уитни

\*\*Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест.

Анализ детских инфекционных заболеваний выявил примерно равную частоту встречаемости у обследованных женщин. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3. **Перенесенные инфекционные заболевания у обследуемых пациенток (n, %)**

Нозология	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
ОРВИ	43 (100%)	45 (95,7%)	46 (88,4%)	p <sup>1</sup> =0,030 p <sup>2</sup> =0,274 p <sup>3</sup> =0,495
Ветряная оспа	29 (67,4%)	35 (74,4%)	36 (69,2%)	p <sup>1</sup> =1,000 p <sup>2</sup> =0,657 p <sup>3</sup> =0,493
Краснуха	12 (27,9%)	18 (38,2%)	21 (40,3%)	p <sup>1</sup> =0,279 p <sup>2</sup> =0,840 p <sup>3</sup> =0,372
Корь	2 (4,6%)	4 (8,5%)	7 (13,4%)	p <sup>1</sup> =0,177 p <sup>2</sup> =0,531 p <sup>3</sup> =0,679
Гепатит А	0 (0%)	0 (0%)	1 (1,92%)	p <sup>1</sup> =1,000 p <sup>2</sup> =1,000
<b>Примечание:</b> p <sup>1</sup> – сравнение 1 и 3 групп, p <sup>2</sup> – сравнение 2 и 3 групп, p <sup>3</sup> – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

Важность изучения исходного состояния здоровья беременных при преждевременных родах обуславливает необходимость анализа особенностей соматического анамнеза.

В результате анализа заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной, эндокринной, пищеварительной, нервной систем были получены сопоставимые данные между группами обследуемых женщин, которые не имели статистически значимых различий. Однако, стоит отметить, что у пациенток с ПРПО (группа 2) отмечалось статистически значимое увеличение частоты хронического цистита ( $p < 0,05$ ).

Таблица 4. Соматические заболевания у обследуемых пациенток (n, %)

Нозологическая форма	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Миопия	8 (18,6%)	6 (12,7%)	5 (9,6%)	$p^1=0,2406$ $p^2=0,7523$ $p^3=0,5637$
Гипотиреоз	5 (11,6%)	4 (8,5%)	3 (5,7%)	$p^1=0,4613$ $p^2=0,7051$ $p^3=0,7320$
Хронический цистит	2 (4,6%)	13 (27,6%) * **	3 (5,7%)	$P^1=1,0000$ $p^2=0,0051^*$ $p^3=0,0041^{**}$
Хронический пиелонефрит	6 (13,9%)	9 (19,1%)	5 (9,6%)	$p^1=0,5376$ $p^2=0,2490$ $p^3=0,5796$
Варикозное расширение вен нижних конечностей	7 (16,2%)	7 (14,8%)	6 (11,5%)	$p^1=0,5587$ $p^2=0,7678$ $p^3=1,0000$
Нарушение жирового обмена	2 (4,6%)	0 (0%)	2 (3,8%)	$p^1=1,0000$ $p^2=0,4962$ $p^3=0,2255$
<b>Примечание:</b> * $p < 0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p < 0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

Известно, что репродуктивное и соматическое здоровье женщины зависит от нормального функционирования менструального цикла. Сравнительный анализ характера менструальной функции не выявил

статистически значимых различий по периоду становления, продолжительности менструации, а также длительности менструального цикла между исследуемыми группами. Данные, характеризующие менструальную функцию обследованных женщин, представлены в таблице 5.

**Таблица 5. Характеристика менструальной функции обследуемых пациенток (n, %)**

Показатели		Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Возраст менархе, годы	<11 лет	4 (9,3%)	6 (12,7%)	6 (11,5%)	$p^1=1,0000$ $p^2=1,0000$ $p^3=0,7421$
	12-14 лет	35 (81,3%)	34 (72,3%)	35 (67,3%)	$p^1=0,1611$ $p^2=0,6642$ $p^3=0,3328$
	$\geq 15$ лет	4 (9,3%)	7 (9,4%)	11 (21,1%)	$p^1=0,1593$ $p^2=0,4482$ $p^3=0,5276$
Продолжительность менструации, дни	<4	6 (18,6%)	8 (21,2%)	8 (15,3%)	$p^1=1,0000$ $p^2=1,0000$ $p^3=0,7765$
	5-7	35 (81,3%)	37 (78,7%)	44 (84,6%)	$p^1=0,7856$ $p^2=0,6032$ $p^3=0,7976$
	8-25	2 (4,6%)	2 (4,2%)	0 (0%)	$p^1=0,2022$ $p^2=0,2228$ $p^3=1,0000$
Характер менструальных выделений	Умеренный	33 (76,4%)	36 (76,5%)	51 (98%) *	$p^1=0,0021^*$ $p^2=0,0013^*$ $p^3=1,0000$
	Обильный	8 (18,6%) *	11 (23,4%) *	1 (1,9%)	$p^1=0,0100^*$ $p^2=0,0013^*$ $p^3=0,6147$
	Скудный	2 (4,6%)	0 (0%)	0 (0%)	$p^1=0,2022$ $p^3=0,2255$
Характер цикла	Регулярный	38 (88,3%)	43 (91,4%)	51 (98%)	$p^1=0,2760$ $p^2=0,0974$ $p^3=0,7320$
	Нерегулярный	5 (11,6%)	4 (8,5%)	1 (1,9%)	$p^1=0,2760$ $p^2=0,0974$ $p^3=0,7320$
<b>Примечание:</b> * $p<0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p<0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп					

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера

Однако, следует отметить, что для женщин, родивших своевременно, статистически чаще встречался умеренный характер менструального кровотечения, тогда как для групп 1 и 2 статистически значимо встречался обильный характер менструального кровотечения.

При изучении особенностей гинекологического анамнеза оказалось, что все нозологии распределены примерно с равной частотой во всех группах без статистически значимых различий между исследуемыми группами. Стоит отметить, что хронический сальпингоофорит превалировал в группах 1 и 2 (20,9% и 23,4%) относительно группы сравнения (7,7%), однако статистически значимых различий выявлено не было. Анализ частоты гинекологических заболеваний в изучаемых группах представлен в таблице 6.

Таблица 6. Гинекологические заболевания у обследуемых пациенток (n, %)

Нозологическая форма	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Эктопия шейки матки	17 (39,5%)	19 (40,4%)	22 (42,3%)	p1=0,8360 p2=1,0000 p3=1,0000
Миома матки	6 (13,9%)	6 (12,8%)	5 (9,6%)	p <sup>1</sup> =0,5376 p <sup>2</sup> =0,7523 p <sup>3</sup> =1,0000
Хронический эндометрит	1 (2,3%)	3 (6,4%)	0 (0%)	p <sup>1</sup> =0,4526 p <sup>2</sup> =0,1034 p <sup>3</sup> =0,6180
Хронический сальпингоофорит	9 (20,9%)	11 (23,4%)	4 (7,7%)	p <sup>1</sup> =0,0767 p <sup>2</sup> =0,0473 p <sup>3</sup> =0,8053
СПКЯ	5 (11,6%)	6 (12,8%)	8 (15,4%)	p <sup>1</sup> =0,7663 p <sup>2</sup> =0,7786 p <sup>3</sup> =1,0000

**Примечание:** \*p<0,01 по отношению к группе сравнения (3 группа), \*\*p<0,01 по отношению к группе 1, p<sup>1</sup> – сравнение 1 и 3 групп, p<sup>2</sup> – сравнение 2 и 3 групп

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

Известно, что инфекционный фактор является одной из главных причин реализации преждевременных родов, в связи с чем в работе была проанализирована частота встречаемости инфекционно-воспалительных заболеваний и определен спектр возможных возбудителей. Бактериальный вагиноз, как и вульвовагинальный кандидоз чаще встречался в группе 2, тогда как уреоплазменная инфекция чаще встречалась в группе 1, однако статистических различий между группами получено не было. Частота других проанализированных инфекционно-воспалительных заболеваний так же не различалась во всех обследованных группах. Данные представлены в таблице 7.

Таблица 7. Структура инфекционно-воспалительных заболеваний у обследуемых пациенток (n, %)

Нозологическая форма	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	p value
Бактериальный вагиноз	2 (4,7%)	6 (12,8%)	1 (1,9%)	$p^1=0,5881$ $p^2=0,0507$ $p^3=0,2705$
Вульвовагинальный кандидоз	6 (13,9%)	13 (27,7%)	6 (11,5%)	$p^1=0,7644$ $p^2=0,0718$ $p^3=0,1285$
Хламидийная инфекция	0 (0%)	0 (0%)	2 (3,8%)	$p^1=0,4992$ $p^2=0,4962$
Микоплазменная инфекция	8 (16,3%)*	6 (12,8%)*	0 (0%)	$p^1=0,0013^*$ $p^2=0,0096^*$ $p^3=0,5666$
Уреоплазменная инфекция	11 (25,6%)	7 (14,9%)	6 (11,5%)	$p^1=0,1067$ $p^2=0,7678$ $p^3=0,2919$
Папилломавирусная инфекция	3 (6,9%)	4 (8,5%)	5 (9,6%)	$p^1=0,7251$ $p^2=1,0000$ $p^3=1,0000$
<b>Примечание:</b> * $p<0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p<0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

При изучении паритета наибольшая частота повторнوبرеменных женщин наблюдались в группах 1 и 2. В группе 3 как первобеременные, так и повторнوبرеменные, встречались примерно с равной частотой, тогда как среди групп 1 и 2 частота повторнوبرеменных составила 67,5% и 72,4% случаев по группам соответственно.

Таблица 8. Репродуктивный анамнез у обследуемых пациенток (n, %)

		Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Паритет	Первобеременные	14 (32,5%)	13 (27,6%)	18 (34,6%)	$p^1=0,8321$ $p^2=0,5188$ $p^3=0,8321$
	Повторнوبرеменные	29 (67,5%)	34 (72,4%)	34 (65,4%)	$p^1=1,0000$ $p^2=0,5188$ $p^3=0,6509$
Роды в анамнезе	Первородящие	24 (55,8%)	25 (53,2%)	26 (50,0%)	$p^1=0,6805$ $p^2=0,8411$ $p^3=0,8349$
	Повторнородящие	19 (44,2%)	22 (46,8%)	26 (50,0%)	$p^1=0,6805$ $p^2=0,8411$ $p^3=0,8349$
Искусственное прерывание беременности		11 (27,9%)	14 (29,7%)	9 (17,3%)	$p^1=0,4489$ $p^2=0,1599$ $p^3=0,8142$
Самопроизвольный выкидыш		5 (11,6%)	13 (27,6%) *	4 (7,6%)	$p^1=0,7270$ $p^2=0,0146^*$ $p^3=0,0689$
Неразвивающаяся беременность		13 (30,2%) *	5 (10,6%)	5 (9,6%)	$p^1=0,0167^*$ $p^2=1,0000$ $p^3=0,0332$
Внематочная (эктопическая) беременность		1 (2,3%)	2 (4,2%)	0 (0%)	$p^1=0,4526$ $p^2=0,2228$ $p^3=1,0000$
Преждевременные роды в анамнезе		14 (32,5%) *	16 (34,0%) *	8 (15,3%)	$p^1=0,0052^*$ $p^2=0,0067^*$ $p^3=0,5139$
Внутриутробные операции		6 (13,9%) *	17 (36,1%) *	0 (0%)	$p^1=0,0070^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,0282$
<b>Примечание:</b> * $p<0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p<0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп					

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера



К факторам риска преждевременных родов принято относить неблагоприятные акушерские исходы, в связи с чем был проанализирован репродуктивный анамнез, при котором достоверно чаще встречалось самопроизвольное прерывание беременности в группе 2 ( $p < 0,01$ ). Частота неразвивающейся беременности статистически чаще была выявлена в группе 1 ( $p = 0,0167$ ). Частота искусственного прерывания беременности статистически не различалась среди исследуемых групп. Преждевременные роды в анамнезе, а также частота внутриматочных операций значимо чаще встречались в группах 1 и 2 относительно группы сравнения. Данные представлены в таблице 8.

В результате проведенного тщательного клинико-анамнестического анализа данных обследованных женщин были выявлены следующие закономерности:

1. Среди соматических заболеваний в группе с ПРПО были получены статистически значимые различия в частоте хронического цистита, что свидетельствует в пользу его возможной значимости в качестве фактора риска.
2. В структуре репродуктивного анамнеза отмечена более высокая частота неразвивающейся беременности в группе ПР, тогда как в группе ПРПО отмечалось статистически значимое увеличение самопроизвольных прерываний беременности.
3. К факторам риска ПР и ПРПО относятся преждевременные роды в анамнезе, внутриматочные операции. Это подтверждает большую вероятность развития данных осложнений при непосредственном влиянии отягощенного акушерского анамнеза.

## ГЛАВА 4. ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ, РОДОВ, АКУШЕРСКИЕ И НЕОНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ, СОСТОЯНИЕ КОЛИЧЕСТВЕННОГО КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА МИКРОБИОЦЕНОЗА ВЛАГАЛИЩА И ФАКТОРОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ У ПАЦИЕНТОК ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДАХ

### 4.1. Особенности течение беременности, родов, послеродового периода у обследованных женщин

Проведен анализ особенностей течения беременности, родов послеродового периода у 142 женщин, разделенных на 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 самопроизвольных своевременных родов с симптомами угрозы преждевременных родов во II-III триместре.

При анализе течения I триместра было отмечено наличие токсикоза различной степени тяжести, однако достоверные различия наблюдались только при тяжелом его течении в группе ПРПО относительно группы СП ( $p < 0,01$ ). Данные представлены на рисунке 3.

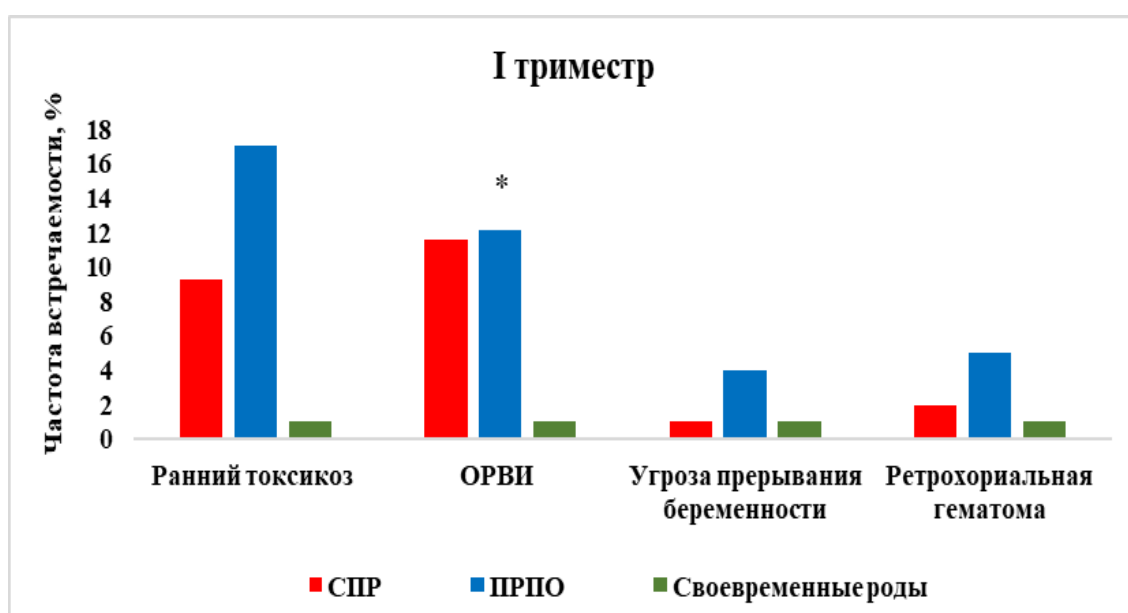
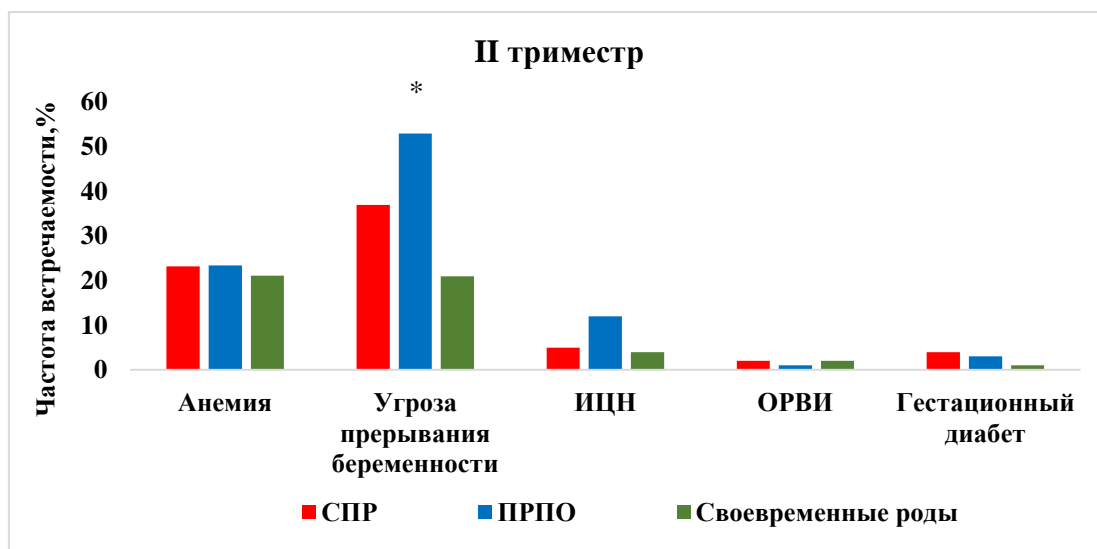


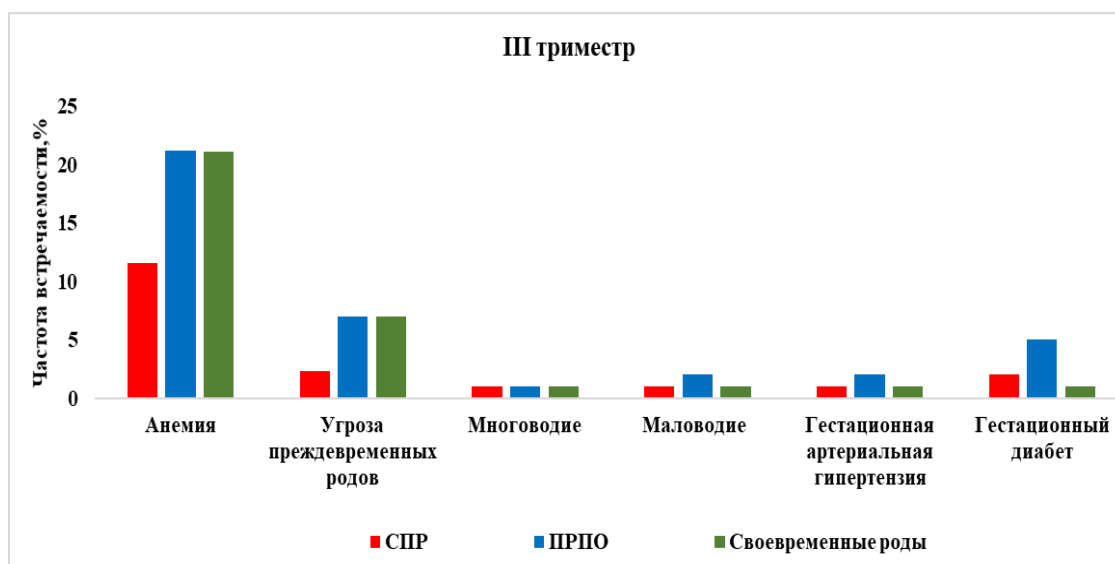
Рис. 3. Особенности течения I триместра беременности

Из особенностей II триместра следует отметить, что в группе ПРПО угроза прерывания беременности встречалась статистически значимо чаще относительно группы СР. Данные представлены на рисунке 4.



**Рис.4.** Особенности течения II триместра беременности

При анализе течения III триместра беременности статистически значимых различий выявлено не было. Данные представлены на рисунке 5.



**Рис. 5.** Особенности течения III триместра беременности

Срок родоразрешения обследованных женщин варьировал в зависимости от группы и составил: при СР –  $32,0 \pm 4,1$  нед при ПРПО –  $32,0 \pm 4,0$  нед и  $37,6 \pm 0,8$  нед в группе СР.

Учитывая, что одним из критериев включения в исследование являлось спонтанное начало родовой деятельности, а согласно критериям невключения входили беременные, родоразрешение путем операции кесарева сечения, в проведенном исследовании все женщины были родоразрешены через естественные родовые пути.

В группах СПР и ПРПО была отмечена более высокая частота эпизиотомии, однако статистически значимых различий относительно группы СР выявлено не было.

Осложнения третьего периода родов встречались чаще в группе СПР. Так ручное обследование стенок полости матки и удаление остатков плацентарной ткани в связи с дефектом последа было проведено у 4 (9,3%), 3 (6,3%) и 2 (3,8%) по группам соответственно.

Объем кровопотери статистически значимо не различался среди женщин всех групп и составлял: в 1 группе  $201 \pm 88$  мл, во 2 –  $196 \pm 76$  мл, в 3 –  $187 \pm 28,2$  мл. Не было отмечено ни одного случая патологической кровопотери и послеродового кровотечения. Данные представлены в таблице 10.

Таблица 10. Особенности родового акта у обследованных пациенток (n, %)

Нозологическая форма	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	p value
Срок родов (средн.знач.)*	32,0 $\pm$ 4,0	32,0 $\pm$ 4,0	37,6 $\pm$ 0,8	p <sup>1</sup> = 0,4191 p <sup>2</sup> = 0,2541 p <sup>3</sup> = 0,0651
Эпизиотомия**	12 (28,6%)	11 (23,4%)	6 (11,5%)	p <sup>1</sup> =0,0643 p <sup>2</sup> =0,1811 p <sup>3</sup> =0,6381
Ручное обследование полости матки**	4 (9,3%)	3 (6,3%)	2 (3,8%)	p <sup>1</sup> =0,5881 p <sup>2</sup> =0,0507 p <sup>3</sup> =0,2705
Кровопотеря (мл)*	201 $\pm$ 88,4	196 $\pm$ 76,2	187 $\pm$ 28,2	p <sup>1</sup> =0,1921 p <sup>2</sup> =0,6272 p <sup>3</sup> =0,5170
<b>Примечание:</b> p <sup>1</sup> – сравнение 1 и 3 групп, p <sup>2</sup> – сравнение 2 и 3 групп, p <sup>3</sup> – сравнение 1 и 2 групп				

\*Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, t-тест.

\*\*Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера

При анализе послеродового периода достоверно чаще была выявлена анемия группе ПРПО, относительно группы сравнения. Эндометрит был диагностирован лишь в 2,3% группе 1 и 2,1% в группе 2. Данные представлены в таблице 11.

Таблица 11. Осложнения послеродового периода у обследованных пациенток (n, %)

Нозологическая форма	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	p value
Эпизиотомия*	12 (28,6%)	11 (23,4%)	6 (11,5%)	p <sup>1</sup> =0,0643 p <sup>2</sup> =0,1811 p <sup>3</sup> =0,6381
Ручное обследование полости матки*	4 (9,3%)	3 (6,3%)	2 (3,8%)	p <sup>1</sup> =0,5881 p <sup>2</sup> =0,0507 p <sup>3</sup> =0,2705
Кровопотеря (мл)**	201±88,4	196±76,2	187±28,2	p1=0,1921 p2=0,6272 p3=0,5170
<b>Примечание:</b> p <sup>1</sup> – сравнение 1 и 3 групп, p <sup>2</sup> – сравнение 2 и 3 групп, p <sup>3</sup> – сравнение 1 и 2 групп				

\*Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

\*\*Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение, t-тест.

#### 4.2. Исход родов для плода, течение периода новорожденности при преждевременных родах

При изучении массо-ростовых показателей новорожденных было установлено, что масса тела детей варьировала от 500 г до 2500 г и составила в 1 группе 1861±717 г, во 2 – 1817±663 г, в 3 – 3267±251 г; средний рост составил 42,0±5,0 см, 41,0±6,0 см, 51±2,1 см. по группам соответственно.

Оценка по шкале Апгар детей при рождении в группе 1 и 2 была существенно ниже, чем в группе сравнения и составила в среднем 5±2,1 и 5±2,5 на 1-ой минуте и 6±2,8 и 6±2,9 на 5-ой минуте по группам соответственно. Тогда как среди новорожденных, рожденных своевременно

средние оценки по шкале Апгар составляли: на первой минуте  $7,9 \pm 0,27$  баллов, а на пятой минуте –  $8,9 \pm 0,2$  баллов, данные представлены в таблице 12.

Таблица 12. Клиническая характеристика новорожденных

Характеристика новорожденного	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Масса плода	$1861 \pm 717$	$1817 \pm 663$	$3267 \pm 251$	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,9227$
Рост плода	$42,0 \pm 5,0$	$41,0 \pm 6,0$	$51 \pm 2,1$	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,9160$
Апгар на 1 минуте	$5,0 \pm 2,1$	$5,0 \pm 2,5$	$7,9 \pm 0,27$	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,9160$
Апгар на 5 минуте	$7,0 \pm 1$	$6,0 \pm 2$	$8,9 \pm 0,2$	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,9160$
<b>Примечание:</b> * $p < 0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p < 0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение, t-тест.

Так как преждевременные роды ассоциированы с неблагоприятными исходами для детей, в работе была подробно проанализирована заболеваемость новорожденных в раннем неонатальном периоде.

Для групп ПР и ПРПО было характерно статистически значимое увеличение частоты дыхательных нарушений у новорожденных, среди которых наиболее часто встречались респираторый дистресс синдром 33 (76,7%) и 37 (78,7%) ( $p < 0,0001$ ) и врожденная пневмония 6 (13,9%) и 9 (19,1%) ( $p < 0,0001$ ). Кроме того, в данных группах следует отметить достоверно значимое повышение случаев внутриутробной инфекции 22 (51,1%) и 29 (61,7%) ( $p < 0,0001$ ), синдром угнетения ЦНС 7 (16,2%) и 8 (17,0%) ( $p < 0,0001$ ), ВЖК 30 (69,7%) и 29 (61,7%) ( $p < 0,0001$ ), некротизирующий энтероколит II степени 25 (58,1%) и 17 (36,1%) ( $p < 0,0001$ ) (по группам соответственно). Из особенностей следует отметить, что для

ПРПО также было характерно статистически значимое повышение количества детей с церебральной ишемией II степени 6 (12,7%) ( $p < 0,0001$ ) и асфиксией 7 (14,8%) ( $p < 0,0001$ ). Данные представлены в таблице 13.

Таблица 13. Структура осложнений и заболеваний в перинатальном периоде

Заболевания новорожденных	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
Асфиксия	4 (9,3%)	7 (14,8%) *	0 (0%)	$p^1=0,0388$ $p^2=0,0042^*$ $p^3=0,5268$
Респираторный дистресс синдром	33 (76,7%) *	37 (78,7%) *	0 (0%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=1,0000$
Врожденная пневмония	6 (13,9%) *	9 (19,1%) *	0 (0%)	$p^1=0,0007^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,3982$
Бронхолегочная дисплазия	0 (0%)	2 (4,2%)	1 (1,9%)	$p^1=1,0000$ $p^2=0,6027$ $p^3=0,4954$
Внутриутробная инфекция	22 (51,1%) *	29 (61,7%) *	0 (%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,1888$
Синдром угнетения ЦНС	7 (16,2%) *	8 (17,0%) *	0 (0%)	$p^1=0,0029^*$ $p^2=0,0018^*$ $p^3=1,0000$
Внутрижелудочковые кровоизлияния	30 (69,7%) *	29 (61,7%) **	6 (11,5%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,0007^{**}$
Церебральная ишемия II степени	4 (9,3%)	6 (12,7%) *	0 (0%)	$p^1=0,0388$ $p^2=0,010^*$ $p^3=0,7419$
Некротизирующий энтероколит II степени	25 (58,1%) *	17 (36,1%) *	0 (0%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,0565$
Ретинопатия II степени	3 (6,9%)	5 (10,6%)	0 (0%)	$p^1=0,0892$ $p^2=0,0214$ $p^3=0,7160$
<b>Примечание:</b> * $p < 0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p < 0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера.

Соответственно тяжести состояния, дети были распределены в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТН), отделение патологии новорожденных (ОПН) и отделение физиологии новорожденных (ОФН). Данные представлены в таблице 14.

Таблица 14. **Маршрутизация новорожденных**

Отделения	Группа 1 (n=43)	Группа 2 (n=47)	Группа 3 (n=52)	P value
ОРИТН	25 (58,1%)	26 (55,3%)	0 (0%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,8336$
ОПН	11 (25,6%)	10 (21,2%)	0 (0%)	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,0565$
ОФН	7 (16,3%)	11 (23,5%)	52 (100%) *	$p^1=0,0001^*$ $p^2=0,0001^*$ $p^3=0,4400$
<b>Примечание:</b> * $p<0,01$ по отношению к группе сравнения (3 группа), ** $p<0,01$ по отношению к группе 1, $p^1$ – сравнение 1 и 3 групп, $p^2$ – сравнение 2 и 3 групп, $p^3$ – сравнение 1 и 2 групп				

Данные представлены как доли пациенток в % и абсолютное число пациенток, точный критерий Фишера

С учетом различных критериев недоношенности большинство детей из групп преждевременных родов находились под наблюдением и получали лечение в условиях ОРИТН. Из группы ПР комплексная интенсивная терапия потребовалась в 58,1% случаев, а в 25,6% случаев – новорожденные госпитализированы в отделение патологии. В группе с ПРПО 55,3% новорожденных потребовали интенсивной терапии, а 21,2% – в отделение патологии новорожденных. В группе своевременных родов все новорожденные находились в физиологическом отделении, тогда как в группах преждевременных родов – 16,3% и 23,5% соответственно. На сроке гестации до 28 недель отмечались наиболее неблагоприятные осложнения, обусловленные недоношенностью и требующие реанимационных мероприятий в 100% случаев. По мере увеличения срока беременности данные показатели значительно улучшались.



В результате проведенного анализа течения беременности родов, послеродового и неонатального периодов были установлены следующие закономерности:

1 Среди осложнений течения I триместра, статистически значимые различия были получены в отношении ОРВИ, раннего токсикоза тяжелой степени, а угроза прерывания беременности во II триместре.

2 При преждевременных родах отмечается достоверно более высокая частота встречаемости респираторного дистресс-синдрома 33 (76,7%) и 37 (78,7%), врожденной пневмонии 6 (13,9%) и 9 (19,1%), внутриутробной инфекции 22 (51,1%) и 29 (61,7%), синдрома угнетения ЦНС 7 (16,2%) и 8 (17,0%), ВЖК 30 (69,7%) и 29 (61,7%), некротизирующего энтероколита II степени 25 (58,1%) и 17 (36,1%) ( $p < 0,0001$ ) (по группам соответственно).

3 Для ПРПО было характерно статистически значимое повышение количества детей с церебральной ишемией II степени 6 (12,7%) и асфиксией 7 (14,8%) ( $p < 0,0001$ ).

#### **4.3. Состояние количественного и качественного состава микробиоценоза влагалища при преждевременных родах**

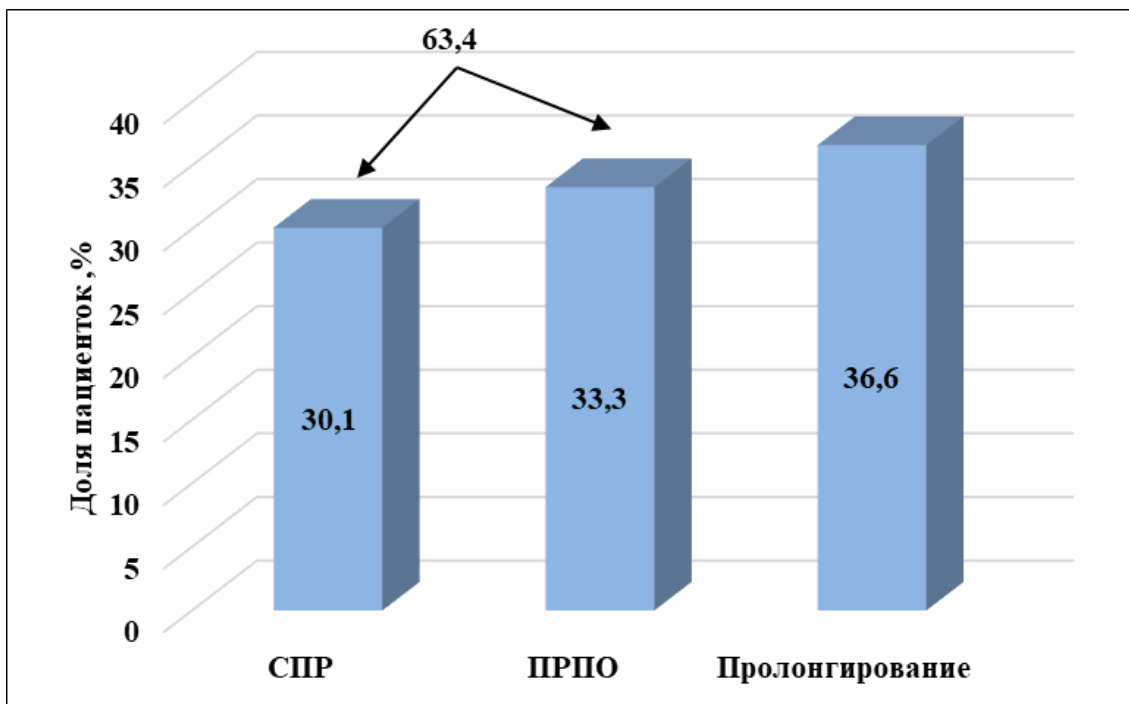
Известно, что инфекционный фактор играет одну из ключевых ролей в реализации преждевременных родов [72, 93]. Однако ряд авторов указывает на роль не только инфекционного агента, а также на роль дисбиотических нарушений и возникновении локальной воспалительной реакции у женщин с преждевременными родами [74]. В связи с чем, на данном этапе особый интерес представляло изучение микробиоценоза влагалища с помощью метода «Фемофлор» ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией для выявления наличия условно-патогенной микрофлоры, как фактора риска преждевременных родов. А также определения локальной воспалительной реакции по уровню экспрессии мРНК генов цитокинов во влагалищных мазках.

В настоящее исследование включены беременные с угрожающими преждевременными родами, у которых отсутствовала регулярная родовая

деятельность. Всем пациенткам проводилась терапия, направленная на пролонгирование беременности, успешность которой оценивалась по сроку родоразрешения, после начала проводимой терапии.

Пролонгировать беременность до доношенного срока удалось в 36,6%, а в 63,4% случаев произошла реализация преждевременных родов, из которых СПР составили 30,1%, а ПРПО – 33,3%.

Данные представлены на рисунке 6.



**Рис. 6.** Распределение пациенток с угрозой преждевременных родов с учетом исходов беременности

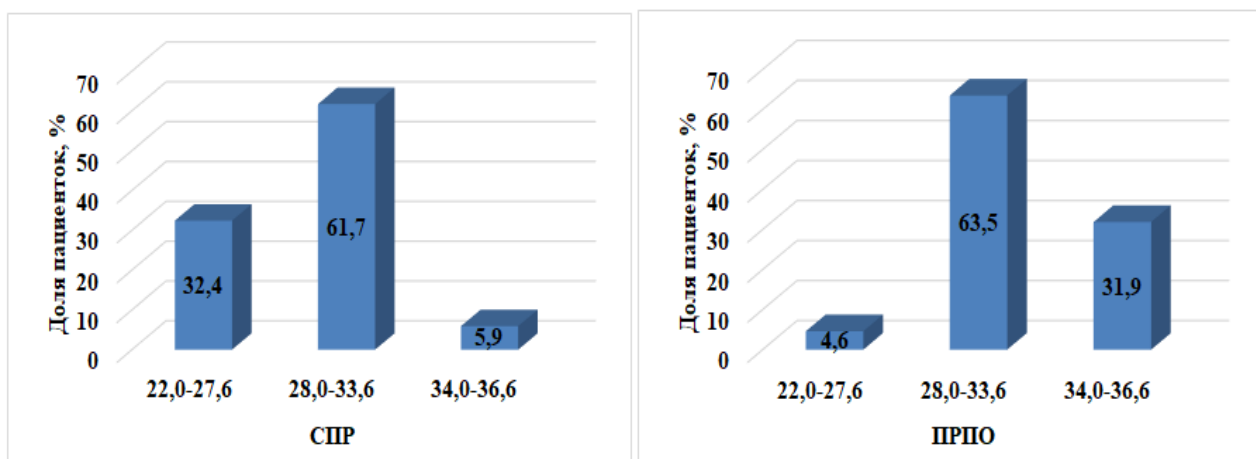
Учитывая различный генез СПР и ПРПО, особый интерес представляло изучение возможности пролонгирования беременности на различных сроках на 7 и более дней.

Наибольшая эффективность пролонгирования беременности при СПР (61,7%) и ПРПО (63,5%) наблюдалась при сроке 28,0-33,6 нед.

При сроке 22,0-27,6 нед СПР были пролонгированы в 32,4%, а при 34,0-36,6 нед – 5,9%.

При ПРПО на сроке 22,0-27,6 нед эффективность пролонгирования беременности была минимальной и составила 4,6%.

Вероятность пролонгирования беременности у женщин с преждевременными родами в зависимости от срока гестации представлены на рисунке 7.

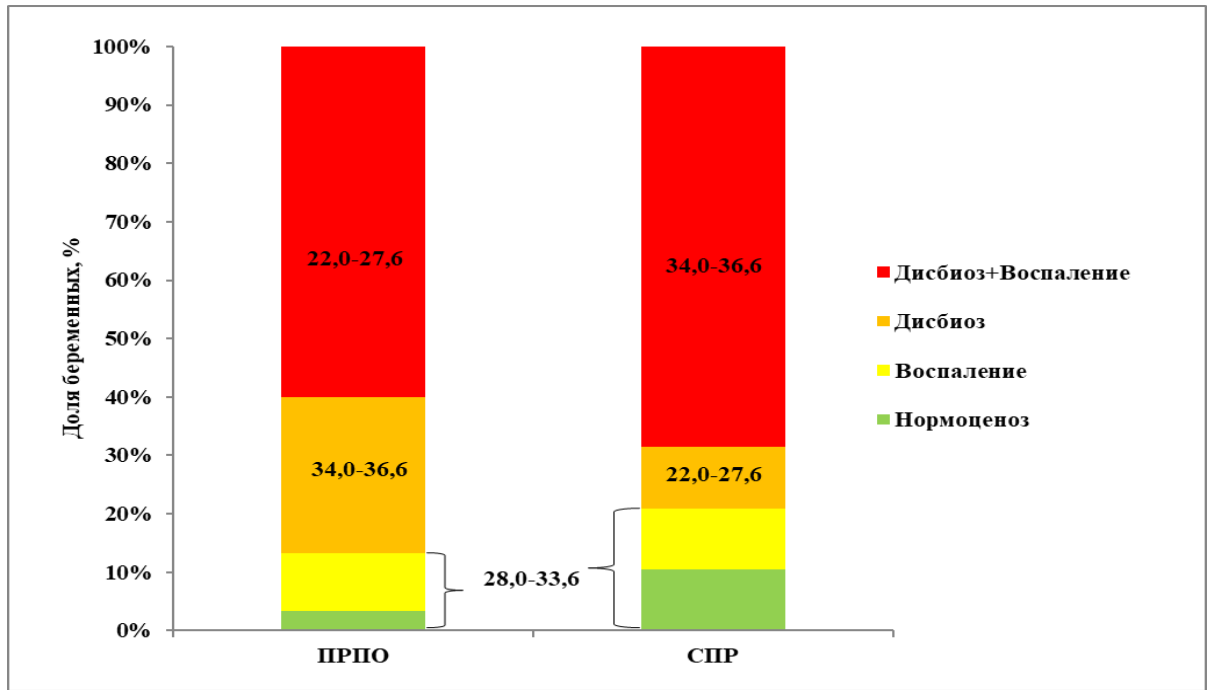


**Рис. 7.** Вероятность пролонгирования беременности у женщин с преждевременными родами в зависимости от срока гестации

На следующем этапе особый интерес представляло изучение состояния микробиоценоза влагалища, а также оценка локальной воспалительной реакции в зависимости от срока гестации и исхода преждевременных родов.

Высокий риск реализации как СПР, так и ПРПО отмечался при случаях сочетания дисбиотических нарушений с локальной воспалительной реакцией при СПР на сроке 34,0-36,6 нед, а при ПРПО на сроке 22,0-27,6 нед.

Следует отметить, что при нормальных показателях микробиоценоза вероятность пролонгирования беременности при сроке 28,0-33,6 нед как при СПР, так и при ПРПО значительно выше. В группе ПРПО также были выявлены изолированные дисбиотические нарушения в 26,7% случаев при сроке 34,0-36,6 нед, что согласуется с данными мировой литературы о связи нарушения целостности плодных оболочек вследствие действия инфекционного агента [86]. Данные представлены на рисунке 8.

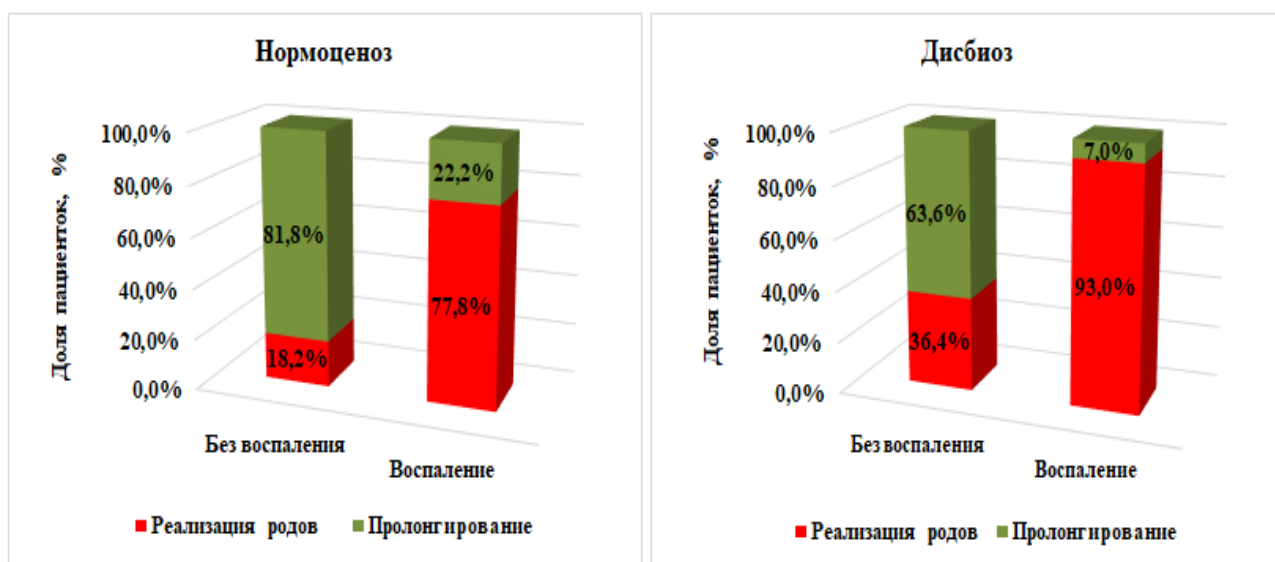


**Рис. 8.** Состояние микробиоценоза влагалища у всех исследуемых пациенток с учетом исходов беременности

Учитывая полученные данные на следующем этапе исследования, была проведена комплексная оценка вероятности пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища в сочетании с локальной воспалительной реакцией.

Сочетание нормоценоза без локального воспаления являлось наиболее благоприятным. Пролонгировать беременность в данном случае удалось в 81,8% случаев. Менее благоприятным было сочетание дисбиотических нарушений и отсутствие локального воспаления, при котором удалось пролонгировать беременность у 63,6% случаев. При сочетании нормоценоза с локальным воспалением – у 22,2% случаев. Наиболее неблагоприятным оказалось сочетание дисбиотических нарушений с локальным воспалением, которое в 93,0% случаев привело к реализации преждевременных родов.

Вероятность пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища в сочетании с локальной воспалительной реакцией представлены на рисунке 9.



**Рис. 9.** Вероятность пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища в сочетании с локальной воспалительной реакцией

Учитывая вышеизложенные данные были выявлены следующие закономерности:

1 Наибольшая эффективность пролонгирования беременности при СПР (61,7%) и ПРПО (63,5%) наблюдалась при сроке 28,0-33,6 нед. При сроке до 22,0-27,6 нед СПР были пролонгированы в 32,4%, а при 34,0-36,6 – 5,9%. Было выявлено, что при ПРПО на сроке 22,0-27,6 нед эффективность пролонгирования беременности была минимальной и составила 4,6%.

2 Прогностически благоприятным в отношении пролонгирования беременности было выявлено сочетание нормоценоза влагалища без локального воспаления. Наиболее неблагоприятным в отношении пролонгирования являлось сочетание дисбиотических нарушений с локальным воспалением.

3 Дисбиотические нарушения без локального воспаления имеют более благоприятный прогноз по сравнению с локальным воспалением, тогда как изолированное локальное воспаление без наличия дисбиотических нарушений может являться значимым фактором в реализации преждевременных родов.

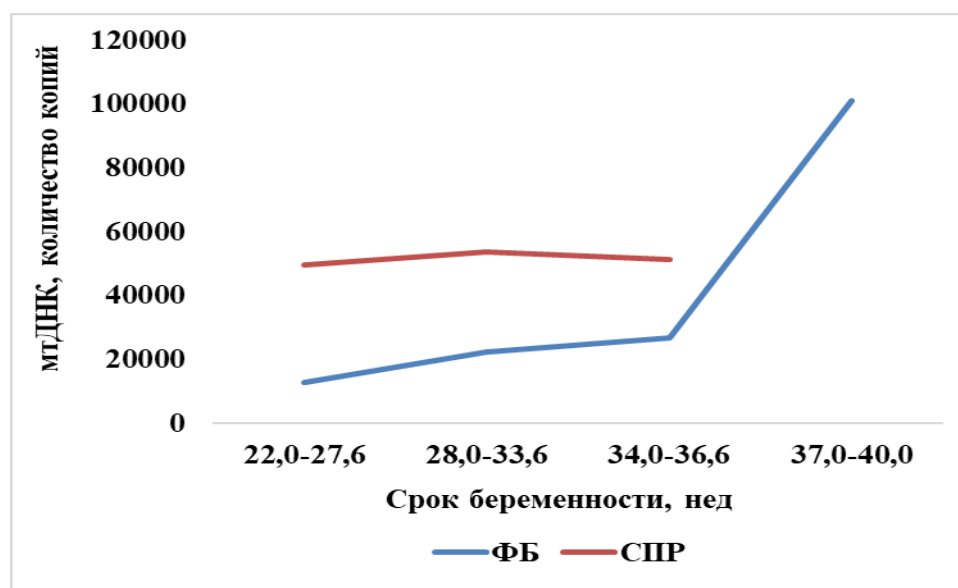
4 Полученные данные количественного и качественного состава микробиоценоза влагалища, а также определение локальной воспалительной реакции демонстрируют эффективность комплексной оценки данных показателей с целью определения тактики ведения пациенток с угрожающими преждевременными родами.

#### **4.4. Уровень мтДНК в периферической крови женщин с физиологическим течением беременности и преждевременными родами**

В настоящее время несмотря на многочисленные исследования, направленные на совершенствование различных методов диагностики, не существует достаточно точных предикторов преждевременных родов. В подавляющем большинстве случаев преждевременные роды являются результатом воздействия сразу нескольких факторов, однако в последние годы все больше публикаций указывает на вклад СВО в развитие данного осложнения беременности. Одним из механизмов развития СВО является активация факторов врожденного иммунитета, в связи с чем их роль в реализации преждевременных родов имеет огромное значение. 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 может относиться DAMPs, обладающие выраженным провоспалительным действием. В ряде работ была отмечена роль мтДНК, как маркера, отражающего развитие системной воспалительной реакции на различные патогены, включающие и DAMPs [196]. Кроме того, мтДНК может являться одним из маркеров развития осложнений беременности, в том числе и преждевременных родов [60]. В связи с чем, на данном этапе была изучена динамика изменения относительного уровня мтДНК в группах СПР и ПРПО на различных сроках беременности. Кроме того, с целью определения нормальных референсных

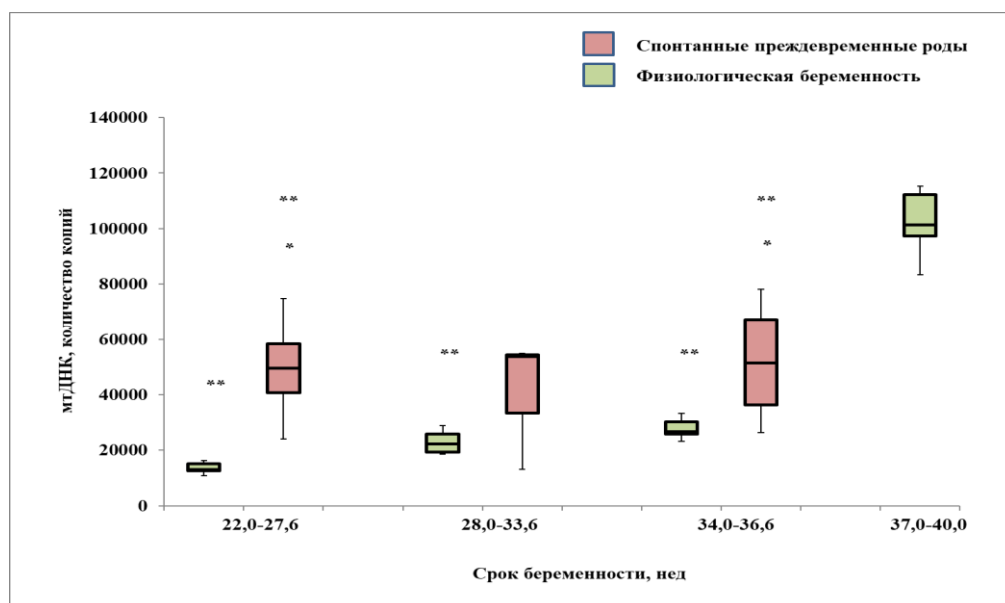
значений уровня мтДНК были проанализированы ее уровни на тех же сроках (как при СПР и ПРПО) при физиологической беременности (ФБ).

При анализе относительного содержания мтДНК в плазме периферической крови при ФБ, наблюдалось повышение уровня мтДНК пропорционально сроку, достигая максимальных значений к концу беременности: при 22,0-27,6 нед (13002,5), 28,0-33,6 – (22245,7), 34,0-36,6 – (26711,0), 37,0-40,0 – (101235,7). Также были получены следующие значения уровня мтДНК при СПР: при 22,0-27,6 нед (49677,1), 28,0-33,6 – (53812,4), 34,0-36,6 – (51465,4). Следует отметить, что динамика уровня мтДНК при СПР на всех сроках имела практически одинаковые показатели, однако они были выше, чем при физиологической беременности. Данные представлены на рисунке 10.



**Рис. 10.** Динамика изменения относительного уровня мтДНК при СПР и физиологической беременности на различных гестационных сроках.

При сравнительном анализе СПР и ФБ статистически значимые различия в уровне мтДНК были получены на следующих сроках беременности: 22,0-27,6 нед ( $p=0,003$ ) и 34,0-36,6 нед ( $p<0,05$ ). Для срока 28,0-33,6 нед проведенный анализ показал, что уровень мтДНК при СПР также выше, чем при ФБ, однако статистически значимых различий выявлено не было ( $p<0,05$ ). Данные представлены на рисунке 11 и в таблице 15.



**Рис. 11.** Уровень относительной копийности мтДНК в периферической крови беременных при спонтанных преждевременных родах.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* – начисые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ ).

\* $p < 0,05$  на одном сроке, \*\* $p < 0,05$  от группы 37,0-40,0

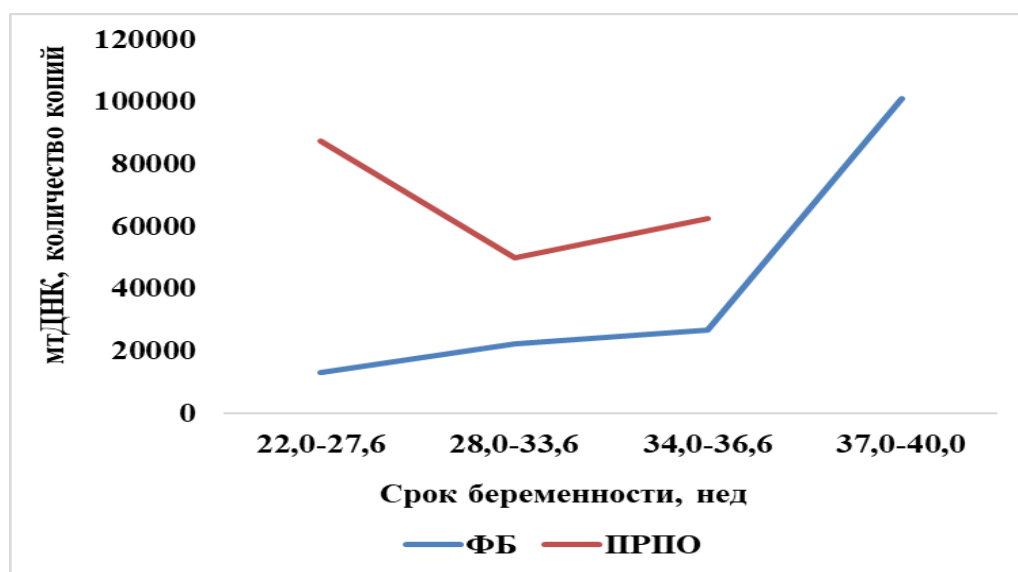
**Таблица 15. Уровень мтДНК в крови в группах с физиологической беременностью и спонтанных преждевременных родов**

Физиологическая беременность	Срок беременности, недели				р-значение
	22,0-27,6	28,0-33,6	34,0-36,6	37,0-40,0	
квартиль1	12587,0	19249,3	25771,5	97245,2	$p^1 < 0,001$
Медиана	13002,5	22245,7	26711,0	101235,7	$p^2 < 0,001$
квартиль3	15197,0	25931,7	30238,0	112236,7	$p^3 < 0,001$
Преждевременные роды	Срок беременности, недели				р-значение
	22,0-27,6	28,0-33,6	34,0-36,6	37,0-40,0	
квартиль1	40840,7	33507,9	36309,3	97245,2	$p^1 < 0,001$
Медиана	49677,1	53812,4	51465,4	101235,7	$p^2 = 0,01$
квартиль3	58388,6	54384,5	67049,0	112236,8	$p^3 < 0,001$
р-значение	$p^4 = 0,003$	$p^5 = 0,48$	$p^6 < 0,05$		

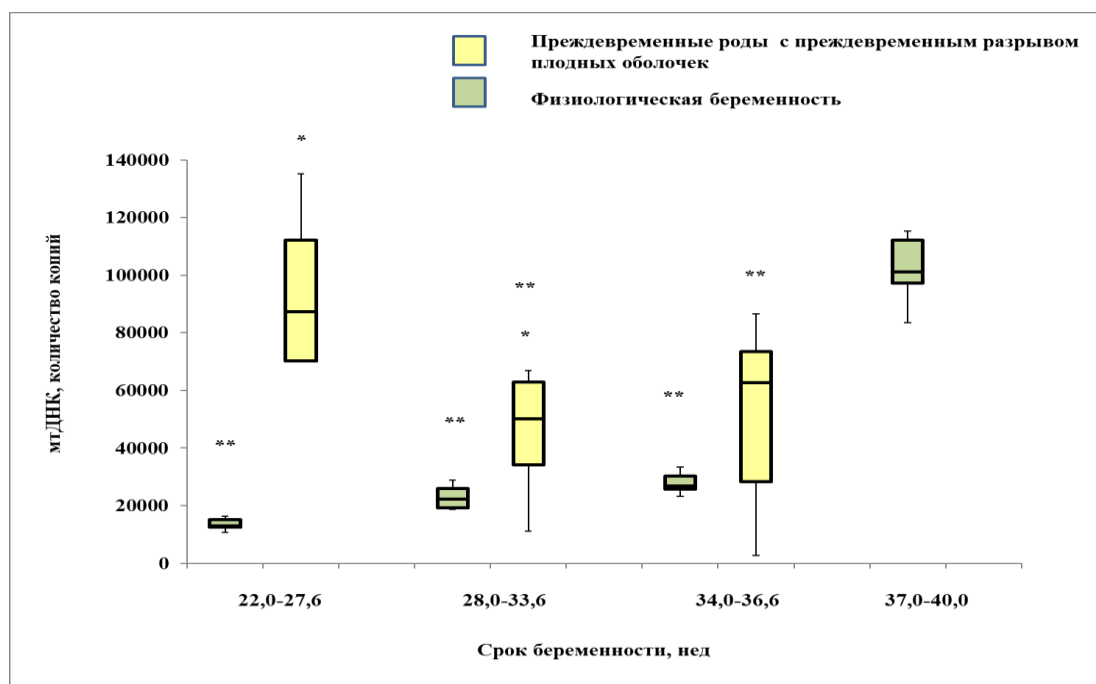
Примечание: Сравнение групп по срокам:  $p^1$  – 22,0-27,6 и 37-40,0,  $p^2$  – 28,0-33,6 и 37-40,0,  $p^3$  – 34,0-36,6 и 37-40,0  
Сравнение групп: физиологическая беременность и преждевременные роды на одинаковых сроках:  $p^4$  – 22,0-27,6,  $p^5$  – 28,0-33,6,  $p^6$  – 34,0-36,6



Также были проанализированы значения уровня мтДНК при ПРПО и ФБ. При сроке 22,0-27,6 нед уровень мтДНК составил (87413,0), 28,0-33,6 – (50112,0), 34,0-36,6 – (62655,0). Данные представлены на рисунке 12.



**Рис. 12.** Динамика изменения относительного уровня мтДНК при ПРПО и физиологической беременности на различных гестационных сроках.



**Рис. 13.** Уровень относительной копийности мтДНК в периферической крови беременных при преждевременных родах, с преждевременным разрывом плодных оболочек.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна.

\* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ )  
 \* $p < 0,05$  на одном сроке, \*\* $p < 0,05$  от группы 37,0-40,0 недель

При сравнительном анализе ПРПО и ФБ статистически значимые различия в уровне мтДНК были получены на следующих сроках беременности: 22,0-27,6 и 28,0-33,6 нед ( $p < 0,05$ ). На сроке 34,0-36,6 нед беременности уровень мтДНК при ПРПО также был выше, чем при ФБ, но статистически значимых различий выявлено не было. Данные представлены на рисунке 13 и таблице 16.

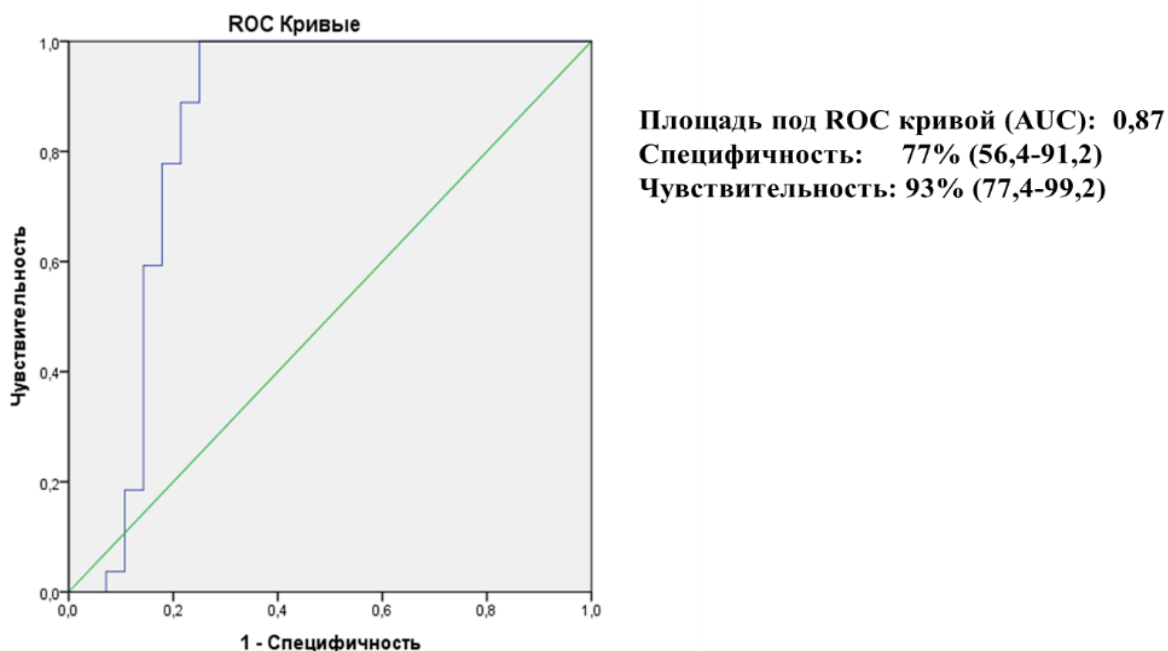
**Таблица 16. Уровень мтДНК в крови в группах с физиологической беременностью и преждевременном разрыве плодных оболочек**

Физиологическая беременность	Срок беременности, недели				р-значение
	22,0-27,6	28,0-33,6	34,0-36,6	37,0-40,0	
квартиль1	12587,0	19249,3	25771,5	97245,2	$p^1 < 0,001$
Медиана	13002,5	22245,7	26711,0	101235,7	$p^2 < 0,001$
квартиль3	15197,0	25931,7	30238,0	112236,7	$p^3 < 0,001$
Преждевременный разрыв плодных оболочек	Срок беременности, недели				р-значение
	22,0-27,6	28,0-33,6	34,0-36,6	37,0-40,0	
квартиль1	70270,0	34229,0	28334,0	97245,2	$p^1 < 0,357$
Медиана	87413,0	50112,0	62655,0	101235,7	$p^2 = 0,001$
квартиль3	112101,0	62817,0	73494,0	112236,8	$p^3 < 0,001$
р-значение	$p^4 = 0,002$	$p^5 = 0,036$	$p^6 < 0,173$		
Примечание: Сравнение групп по срокам: $p^1$ – 22,0-27,6 и 37-40,0, $p^2$ – 28,0-33,6 и 37-40,0, $p^3$ – 34,0-36,6 и 37-40,0 Сравнение групп: физиологическая беременность и преждевременные роды на одинаковых сроках: $p^4$ – 22,0-27,6, $p^5$ – 28,0-33,6, $p^6$ – 34,0-36,6					

Для оценки диагностической эффективности определения относительного уровня мтДНК при преждевременных родах был проведен ROC-анализ. Данные представлены на рисунке 14.

Площадь под кривой  $AUC = 0,87$  (0,77-0,96),  $p = 0,00002$ . Согласно экспертной шкале, данная модель оценки определяется как «отличная». В качестве уровня отсечки выбран уровень мтДНК равный 36400 копий (4,6 десятичный логарифм), при котором чувствительность составила 77% (56,4-91,2), а специфичность 93% (77,4-99,2). Прогностическая ценность

положительного результата (PPV) составила 90,9 (70,8-98,9), а отрицательного результата (NPV) 82,4 (65,5-93,2). Определение данного маркера может способствовать своевременной диагностике и началу персонифицированной комплексной терапии, направленной на пролонгирование беременности.



**Рис. 14.** ROC кривая диагностики преждевременных родов на основании определения уровня копийности мтДНК.

Полученные данные позволили сформулировать следующие закономерности:

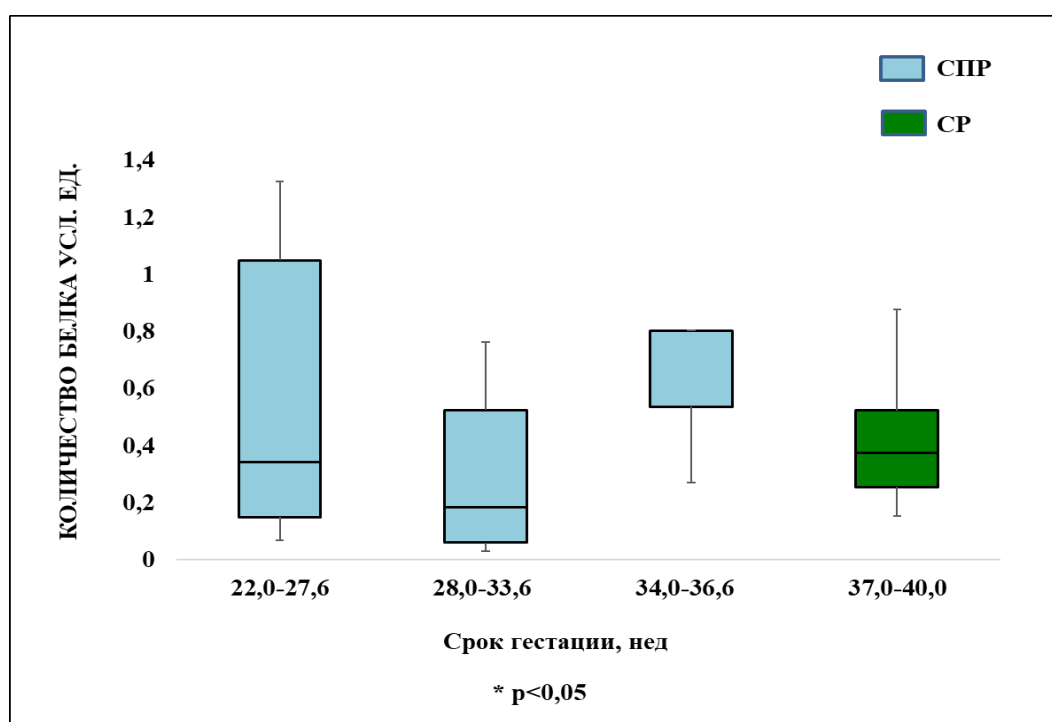
1. Анализ относительного содержания мтДНК в плазме периферической крови при физиологической беременности, выявил повышение уровня мтДНК пропорционально гестационному сроку, достигая максимальных значений к моменту своевременных родов.

2. Уровень копийности мтДНК в периферической крови при СПР и ПРПО был статистически значимо повышен относительно физиологической беременности.

3. Определение уровня копийности мтДНК в периферической крови, отражающее наличие оксидативного стресса, может быть использовано в качестве предиктора преждевременных родов.

#### 4.5. Определение содержания антиоксидантных белков и митохондриального маркера в плаценте при преждевременных и своевременных родах

Общеизвестно, что исследование различных функциональных изменений, происходящих на территории плаценты в генезе больших акушерских синдромов, является актуальным направлением. Непосредственно белки антиоксидантной системы могут отражать активацию факторов врожденного иммунитета, в связи с чем особый интерес представляло изучение глутатионпероксидазы (GPx1), каталазы (Cat), а также белка внешней мембраны митохондрий (VDAC1) в тканях плаценты при спонтанных преждевременных и своевременных родах.



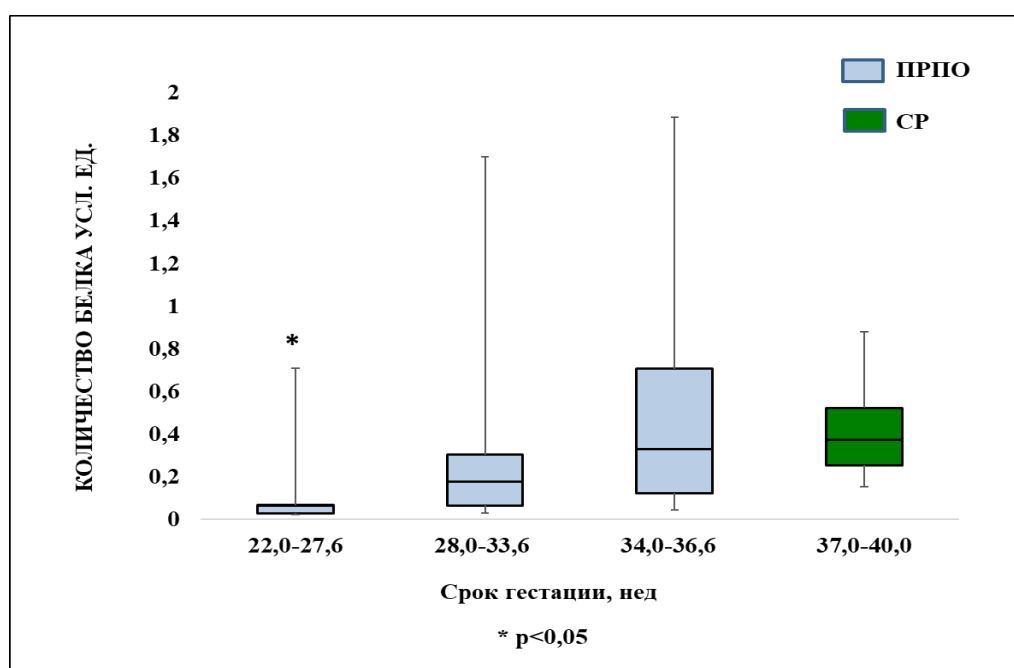
**Рис. 15.** Уровень относительного содержания GPx1, в тканях плаценты при спонтанных преждевременных и своевременных родах.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ )

Анализ содержания GPx1 в плаценте при СПП не показал достоверных различий относительно группы сравнения и составил при сроке 22,0-27,6 нед

– 0,34 (0,14; 1,04), при 28,0-33,6 – 0,18 (0,05; 0,50), при 34,0-36,6 – 0,80 (0,53; 0,80) относительно группы своевременных родов – 0,37 (0,25; 0,52). Данные представлены на рисунке 15.

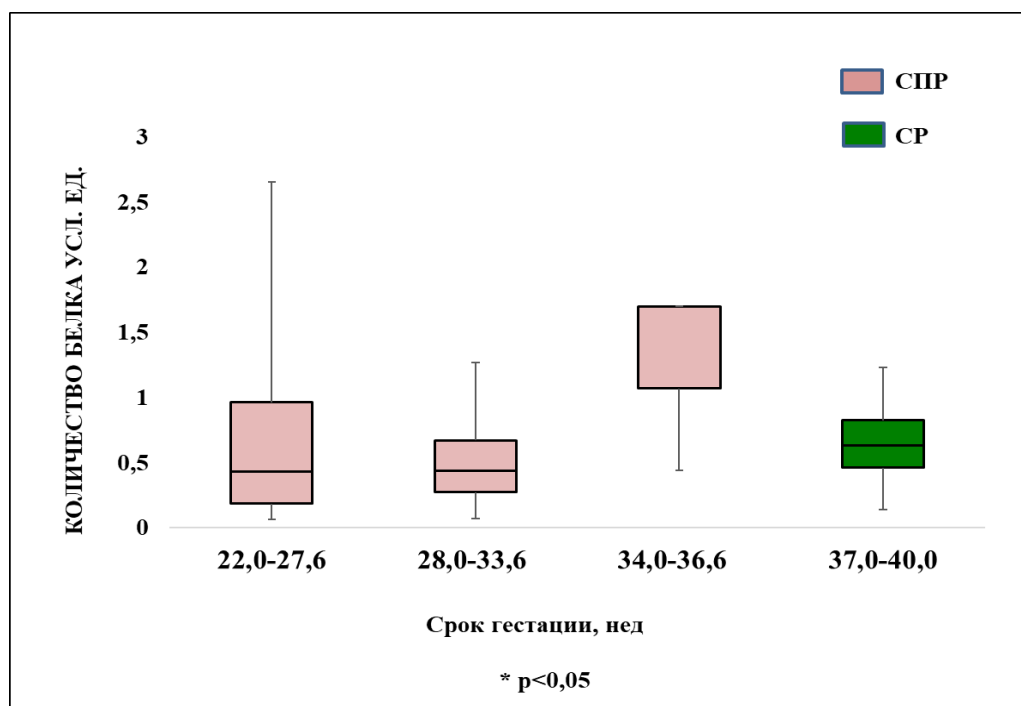
В группе ПРПО было отмечено достоверно низкое содержание GPx1 при сроке 22,0–27,6 нед – 0,06 (0,02; 0,06) относительно группы своевременных родов – 0,37 (0,25; 0,52) ( $p=0,029$ ). При сроках 28,0-33,6 нед – 0,18 (0,06; 0,30), и 34,0–36,6 нед – 0,33 (0,12; 0,70) достоверных различий получено не было. Данные представлены на рисунке 16.



**Рис. 16.** Уровень относительного содержания GPx1, в тканях плаценты при преждевременных родах, осложненных разрывом плодных оболочек и своевременных родах.

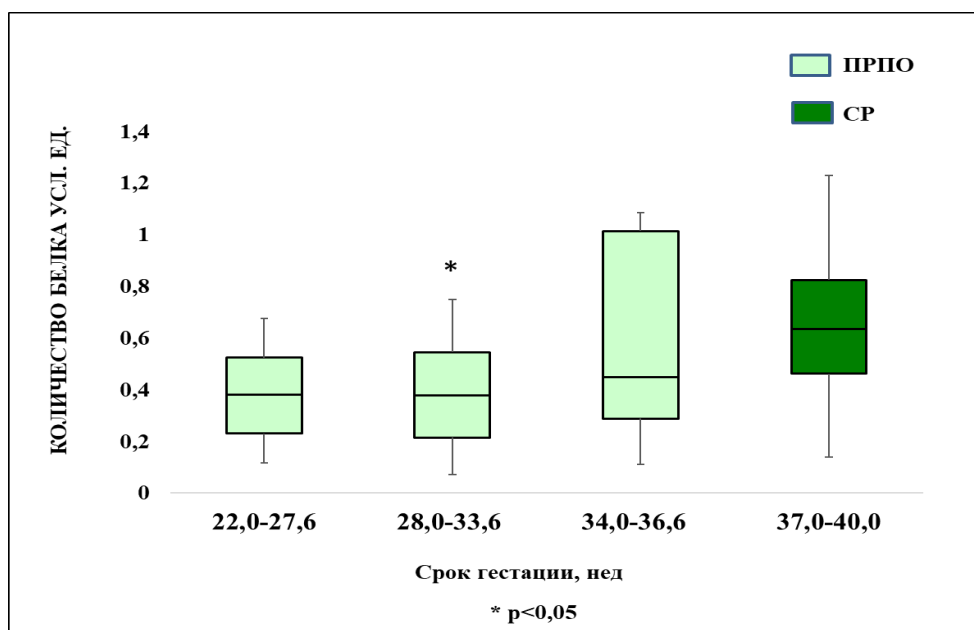
Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ ).

Сравнительный анализ содержания Cat в плаценте при своевременных и СПР не выявил статистически значимых различий на всех сроках гестации. При сроке 22,0–27,6 нед уровень относительного содержания Cat составил 0,43 (0,18; 0,96), при 28,0–33,6 – 0,44 (0,27; 0,67), при 34,0–36,6 – 1,70 (1,06; 1,69) относительно группы своевременных родов – 0,63 (0,46; 0,82) ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на рисунке 17.



**Рис. 17.** Уровень относительного содержания Cat, в тканях плаценты при преждевременных и своевременных родах.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ )



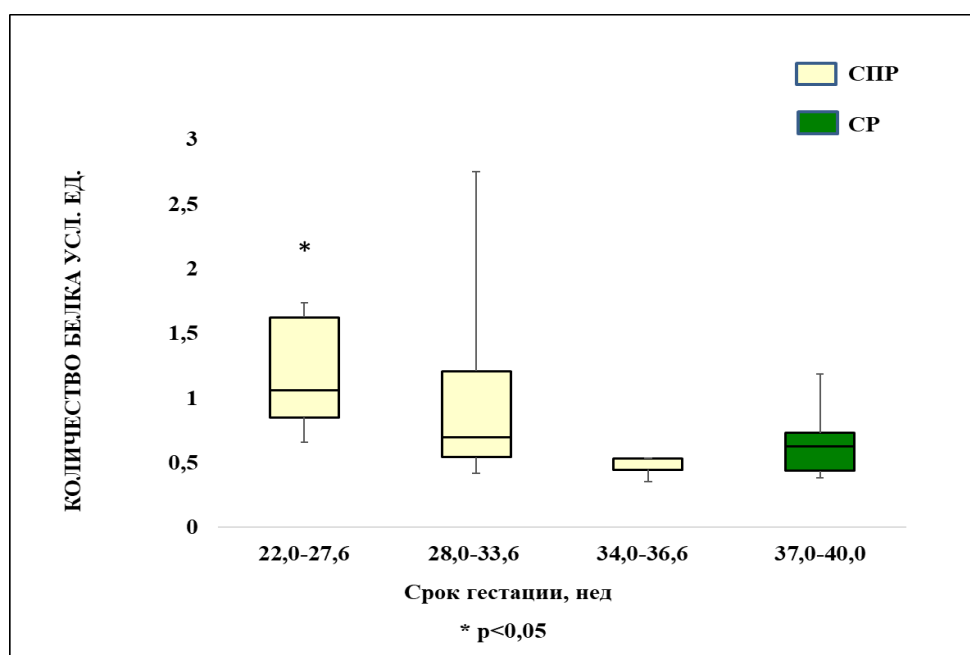
**Рис. 18.** Уровень относительного содержания Cat, в тканях плаценты при преждевременных родах, осложненных разрывом плодных оболочек и своевременных родах.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* – значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ ).

При ПРПО было отмечено достоверно низкое содержание Cat при сроке 28,0-33,6 нед – 0,38 (0,21; 0,54) относительно группы своевременных родов – 0,63 (0,46; 0,82) ( $p=0,05$ ). При сроках 22,0-27,6 нед – 0,38 (0,23; 0,52), и 34,0-36,6 нед – 0,45 (0,28; 1,01) достоверных различий получено не было. Данные представлены на рисунке 18.

При анализе содержания VDAC1 в тканях плаценты при СПР были получены достоверные различия при сроке 22,0-27,6 нед – 1,06 (0,84; 1,62), относительно группы своевременных родов 0,63 (0,43; 0,72) ( $p<0,05$ ). На сроках 28,0-33,6 нед – 0,69 (0,54; 1,20) и при 34,0-36,6 нед – 0,85 (0,73; 0,97) относительно группы сравнения – 0,63 (0,43;0,72) достоверных различий выявлено не было.

Данные представлены на рисунке 19.

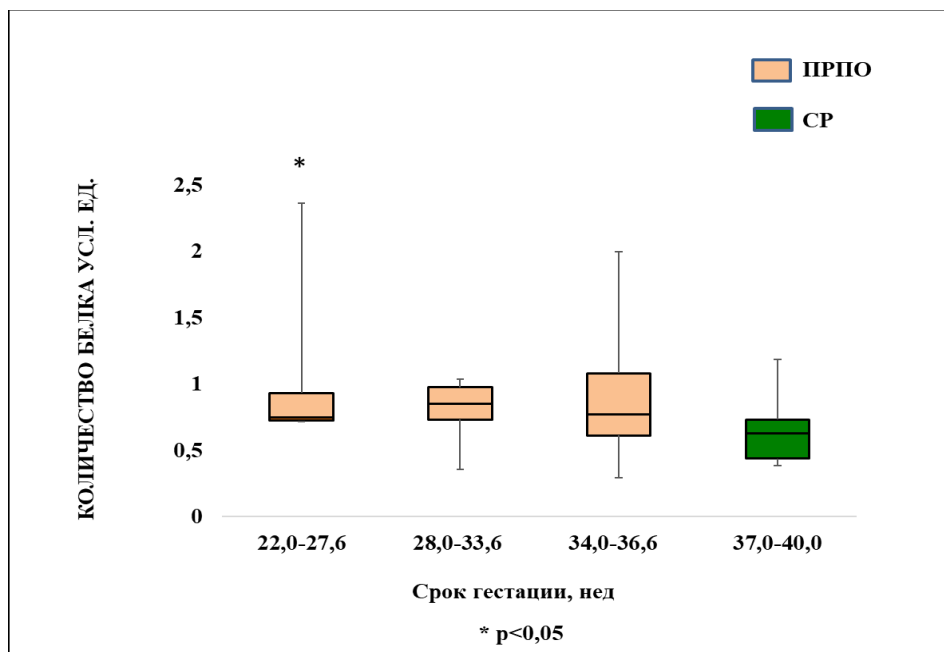


**Рис. 19.** Содержание VDAC1 в плаценте при спонтанных преждевременных и своевременных родах.

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы: критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p<0,05$ )

При анализе содержания VDAC1 в тканях плаценты при ПРПО статистически значимые различия также были получены на сроке 22,0-27,6

нед – 0,75 (0,72; 0,92) относительно группы своевременных родов – 0,63 (0,43; 0,72). На сроках 28,0-33,6 нед – 0,85 (0,73; 0,97) и 34,0-36,6 нед – 0,77 (0,61;1,07) относительно группы сравнения – 0,63 (0,43; 0,72) статически значимых различий получено не было. Данные представлены на рисунке 20.



**Рис. 20.** Уровень относительной экспрессии VDAC1 в ткани плаценты при преждевременных родах, осложненных разрывом плодных оболочек и своевременных родах.

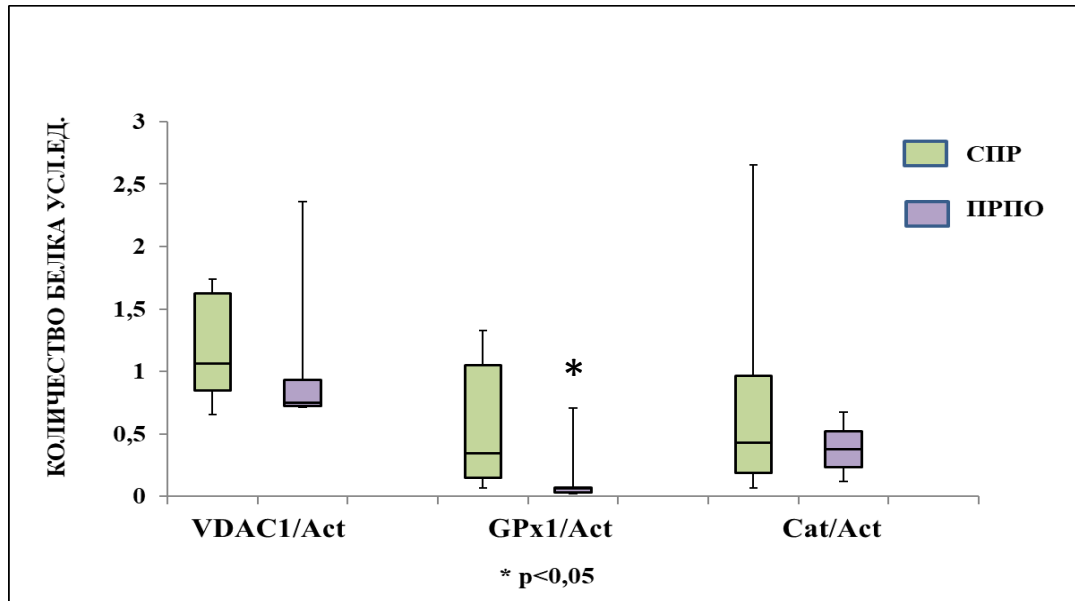
Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ )

Дополнительно был проведен детальный анализ уровней антиоксидантных белков для групп СПР и ПРПО на различных сроках беременности.

При межгрупповом сравнении белков плаценты на сроке гестации 22,0-27,6 нед беременности было выявлено достоверное снижение уровня GPx1 в группе ПРПО относительно группы СПР ( $p=0,031$ ). Тогда как уровни VDAC1 ( $p=0,333$ ), и Cat ( $p=0,400$ ) достоверно не отличались между сравниваемыми группами.

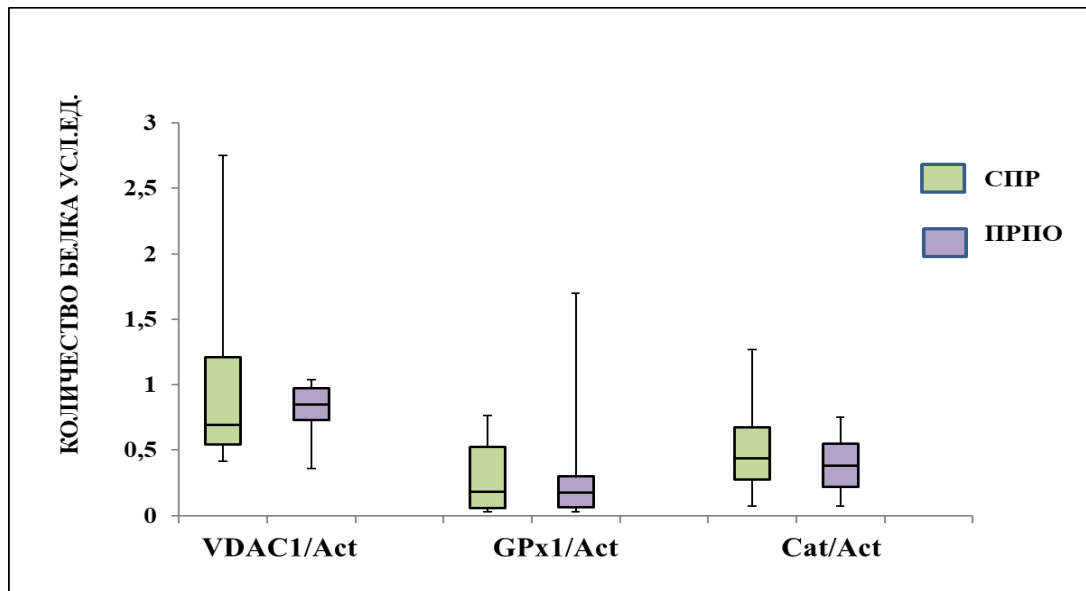
Данные представлены на рисунке 21.





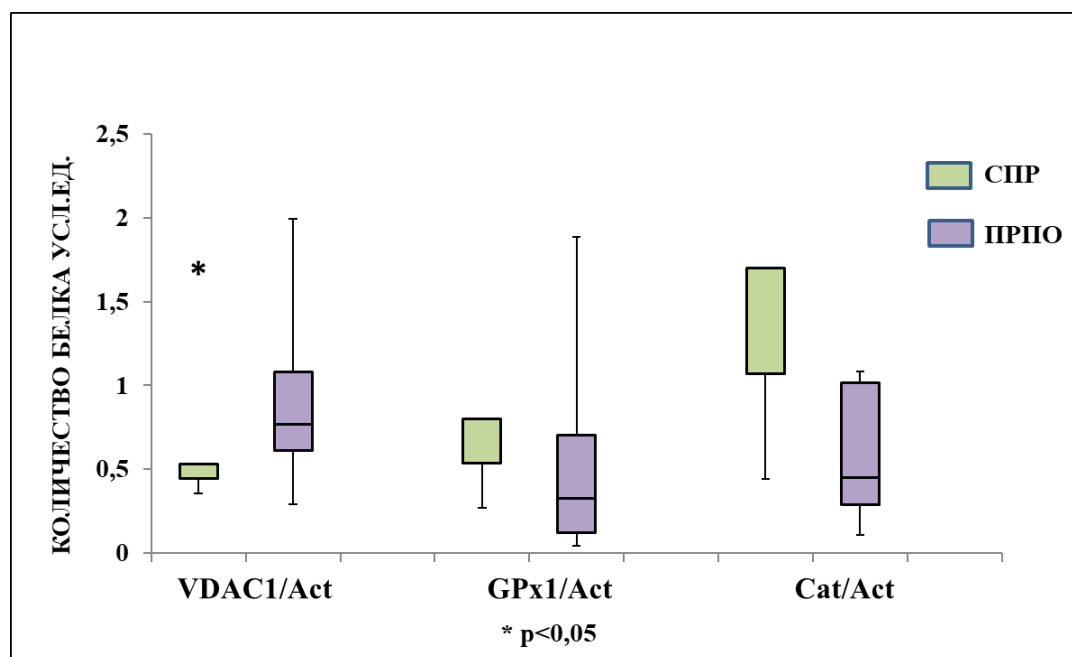
**Рис. 21.** Уровень относительного содержания VDAC1, GPx1, Cat, в тканях плаценты при преждевременных родах на сроке гестации 22,0-27,6 недель. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ )

На сроке гестации 28,0-33,6 нед, достоверных различий между сравниваемыми группами получено не было ( $p > 0,05$ ). Данные представлены на рисунке 22.



**Рис. 22.** Уровень относительного содержания VDAC1, GPx1, Cat, в тканях плаценты при преждевременных родах на сроке гестации 28,0-33,6 недель. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ ).

При анализе относительного содержания структурных белков в тканях плаценты на сроке гестации 34,0-36,6 нед, были получены статистически значимое снижение уровня VDAC1 в группе СПР относительно ПРПО ( $p=0,027$ ), однако среди остальных показателей достоверных различий получено не было. Данные представлены на рисунке 23.



**Рис. 23.** Уровень относительной экспрессии VDAC1, GPx1, Cat, в ткани плаценты при преждевременных родах на сроке гестации 34,0-36,6 недель. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного разброса, а также минимальных и максимальных значений. Использованы критерий Краскела-Уоллеса и множественное сравнение групп тестом Данна. \* - значимые различия по сравнению с группой своевременных родов ( $p < 0,05$ ).

Учитывая вышеизложенные данные были выявлены следующие закономерности:

При анализе относительного содержания структурных белков в тканях плаценты на сроке гестации 34-36,6 недель, были получены достоверные различия по уровню белка внешней мембраны митохондрий VDAC1, однако среди остальных белков достоверных различий получено не было. Вышеописанные результаты свидетельствуют о роли митохондриальных белков в генезе ПР и требуют дальнейшего изучения.

## Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема преждевременных родов по-прежнему занимает лидирующие позиции среди основных осложнений беременности, являясь ведущей причиной неонатальной заболеваемости и смертности [3, 4, 19, 100, 196, 199]. В зависимости от географической и демографической ситуации частота ПР по данным различных авторов составляет 6-18%. Несмотря на успехи, достигнутые в области диагностики, лечения и профилактики данного осложнения беременности, ПР являются важной социально-экономической проблемой, представляют собой угрозу жизни матери и ребенка. Согласно данным ВОЗ, принято классифицировать на очень ранние, ранние, поздние преждевременные роды. По механизму развития различают спонтанные преждевременные роды, и преждевременный разрыв плодных оболочек.

На сегодняшний день определены некоторые принципы ведения беременности среди женщин высокого риска по ПР, включающие профилактику инфекционно-воспалительных заболеваний, токолитическую терапию, профилактику РДС-плода, коррекцию гемостазиологических нарушений и др., однако эффективность данных мер, не всегда определяет положительный исход и нередко является малоэффективной. Учитывая вышеизложенное, важным является стратификация факторов риска с целью оптимизации ранжирования пациенток и проведения своевременной, адекватной профилактики ПР [13, 28, 62, 69, 110, 132, 211].

Принимая во внимание разнонаправленность литературных данных о факторах риска ПР, с целью их уточнения на 1 этапе данного исследования был проведен анализ клинико-anamnestической характеристики пациенток.

Возраст беременных, включенных в исследование варьировал в пределах от 18 до 41 года и составил в группе ПР – 29 (27;34); при ПРПО – 30 (27;36); в группе сравнения 30 (27;32). В ряде работ [81, 234] было показано, что возраст младше 20 и старше 35 лет является значимым фактором риска в реализации ПР [81, 234]. Чаще ранние СПР ассоциированы с возрастом, младше 20 лет, а у женщин старшего репродуктивного возраста на фоне

выраженных соматических заболеваний и/или осложнений акушерско-гинекологического характера, как правило возникает сочетание преждевременных родов с ПРПО, которые имеют поздний индуцированный характер [13, 177].

Массо-ростовые показатели у обследованных женщин были в пределах популяционных норм. Стоит отметить, что средняя масса тела в группах ПР была выше, чем в группе сравнения и составила в группе 1 –  $70,4 \pm 12,2$  кг, в группе 2 –  $68,8 \pm 10,2$  кг, в группе 3 –  $65,3 \pm 8,6$  кг, однако достоверных различий выявить не удалось. Средний рост –  $164,6 \pm 7,0$  см,  $164,3 \pm 7,6$  см,  $165,5 \pm 4,5$  см по группам соответственно.

При изучении наследственного анамнеза пациенток (сердечно-сосудистые, эндокринные, онкологические заболевания), статистически значимых различий обнаружить не удалось.

Анализ детских инфекционных заболеваний выявил примерно равную частоту встречаемости у обследованных женщин.

Как известно, наличие хронических соматических заболеваний также является фактором риска и ассоциируется с развитием ПР [177]. Учитывая этот факт, в проведенном исследовании была изучена структура соматической заболеваемости среди пациенток. В результате анализа заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной, эндокринной, пищеварительной, нервной систем были получены сопоставимые данные между группами обследуемых женщин, которые не имели статистически значимых различий. Однако, стоит отметить, что у пациенток с ПРПО (группа 2) отмечалось статистически достоверное увеличение частоты хронического цистита ( $p < 0,05$ ). По данным ряда авторов заболевания мочеполовой системы являются значимыми факторами в развитии ПР [93, 141, 168]. Полученные в нашем исследовании данные согласовались с результатами J. Keelan et al. [141] инфекция мочевыводящих путей, которая может проявляться в виде бессимптомной бактериурии, острого или хронического цистита во время

беременности, наиболее часто повышает риск развития преждевременных родов.

Известно, что репродуктивное и соматическое здоровье женщины зависит от нормального функционирования менструального цикла. Сравнительный анализ характера менструальной функции не выявил статистически значимых различий по периоду становления, продолжительности менструации, а также длительности менструального цикла между исследуемыми группами. Однако, следует отметить, что для женщин, родивших своевременно, статистически чаще встречался умеренный характер менструального кровотечения, тогда как для групп 1 и 2 статистически значимо встречался обильный характер менструального кровотечения. По результатам S. Palomba et al. [194] женщины с нарушением менструальной функции демонстрируют клинически значимый повышенный риск осложнений беременности по сравнению с контрольной группой. Был отмечен повышенный риск возникновения гипертензии и преэклампсии в 3-4 раза, а также высокий шанс реализации преждевременных родов.

По данным ACOG воспалительные заболевания половых органов, а также отягощенный гинекологический анамнез составляют отдельную группу факторов риска ПР [99]. При изучении особенностей гинекологического анамнеза оказалось, что все нозологии распределены примерно с равной частотой во всех группах без статистически значимых различий между исследуемыми группами. Стоит отметить, что хронический сальпингоофорит превалировал в группах 1 и 2 (20,9% и 23,4%) относительно группы своевременных родов (7,7%) без достоверных различий. Бактериальный вагиноз и вульвовагинальный кандидоз чаще встречались в группе 2, тогда как уреаплазменная инфекция чаще встречалась в группе 1, однако статистических различий между группами получено не было. Частота других инфекционно-воспалительных заболеваний так же не различалась во всех обследованных группах. По данным S.M. Kim et al. [145], хронические гинекологические заболевания матери ухудшают как акушерские, так и

неонатальные исходы течения данной беременности. По данным результатов Кокрановского регистра контролируемых испытаний были получены данные о том, что программы скрининга и лечения инфекций для беременных до 20 недель беременности снижают вероятность ПР и рождение детей с ЭНМТ [145].

При изучении паритета наибольшая частота повторнобеременных женщин наблюдались в группах 1 и 2. В группе 3 как первобеременные, так и повторнобеременные, встречались примерно с равной частотой, тогда как в группах 1 и 2 частота повторобеременных составила 67,5% и 72,4% случаев по группам соответственно.

К факторам риска преждевременных родов принято относить неблагоприятные акушерские исходы, в связи с чем был проанализирован акушерский анамнез, при котором достоверно чаще встречалось самопроизвольное прерывание беременности в группе 2 ( $p < 0,01$ ). Частота неразвивающейся беременности статистически чаще была выявлена в группе 1 ( $p = 0,0167$ ). Искусственное прерывание беременности статистически не различалось среди исследуемых групп. Преждевременные роды в анамнезе, а также частота внутриматочных операций значимо чаще встречались в группах 1 (32,5%) и 2 (34,0%) относительно группы 3 (15,3%). Внутриматочные инструментальные вмешательства достоверно чаще встречались в группах преждевременных родов, однако высокая частота отмечалась именно в группе преждевременных родов с ПРПО. Полученные данные согласуются с работами Y. Meng et al. [167] где был проведен анализ репродуктивной функции у женщин с преждевременными родами, у которых выявлена достоверно более высокая частота отягощенного акушерского анамнеза и неблагоприятных исходов беременности.

При анализе течения I триместра было отмечено наличие токсикоза различной степени тяжести, однако достоверные различия наблюдались только при тяжелом его течении в группе с ПРПО относительно группы сравнения ( $p < 0,01$ ). ОРВИ в I триместре отмечалось достоверно чаще у

женщин с преждевременными родами ( $p < 0,01$ ). Во II триместре в группе ПРПО была отмечена угроза преждевременных родов в 53,1% относительно группы сравнения 21,5% ( $p < 0,001$ ). В III триместре достоверных различий получено не было. Важно отметить, что в послеродовом периоде у пациенток с ПРПО достоверно чаще была выявлена анемия (25,5%) относительно группы СР (5,7%).

Особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода. Все новорожденные родились живыми. Масса тела новорожденных варьировала от 500 г до 2500 г и составила в группе 1 –  $1861 \pm 717$  г, в группе 2 –  $1817 \pm 663$  г, в группе 3 –  $3267 \pm 251$  г; рост –  $42,0 \pm 5,0$  см,  $41,0 \pm 6,0$  см,  $51 \pm 2,1$  см по группам соответственно. Оценка по шкале Апгар при рождении в группе 1 и 2 была ниже, чем в группе сравнения и составила в среднем  $5 \pm 2,1$  и  $5 \pm 2,5$  на 1-ой минуте и  $6 \pm 2,8$  и  $6 \pm 2,9$  на 5-ой минуте по группам соответственно. Тогда как среди новорожденных, рожденных своевременно средние оценки по шкале Апгар составляли: на 1-ой минуте  $7,9 \pm 0,27$  баллов, а на 5-ой минуте –  $8,9 \pm 0,2$  баллов.

Для групп СПР и ПРПО было характерно статистически значимое увеличение частоты дыхательных нарушений у новорожденных, среди которых наиболее часто встречались респираторный дистресс синдром 33 (76,7%) и 37 (78,7%) ( $p < 0,0001$ ) и врожденная пневмония 6 (13,9%) и 9 (19,1%) ( $p < 0,0001$ ). Кроме того, в данных группах следует отметить достоверно значимое повышение частоты внутриутробной инфекции 22 (51,1%) и 29 (61,7%) ( $p < 0,0001$ ), развития синдрома угнетения ЦНС 7 (16,2%) и 8 (17,0%) ( $p < 0,0001$ ), ВЖК 30 (69,7%) и 29 (61,7%) ( $p < 0,0001$ ), некротизирующего энтероколита 25 (58,1%) и 17 (36,1%) ( $p < 0,0001$ ) (по группам соответственно). Из особенностей раннего неонатального периода следует отметить, что для ПРПО также было характерно статистически значимое повышение количества детей с церебральной ишемией II степени 6 (12,7%) ( $p < 0,0001$ ) и асфиксией 7 (14,8%) ( $p < 0,0001$ ). Все полученные результаты согласуются с данными как отечественной, так и зарубежной литературы, так как все осложнения

новорожденных при преждевременных родах прямо пропорционально соответствуют сроку гестации [40, 93, 101, 150].

Физиологическая беременность характеризуется изменениями на территории маточно-плацентарного комплекса, в результате которых запускаются процессы, определяющие программируемое начало своевременных родов. При нарушении данных процессов, включающих изменения гормонального фона и синтеза простагландинов, дисбаланса про и противовоспалительных цитокинов, а также ряда других патологических состояний, может обуславливать начало преждевременных родов. Кроме того, известно, что одним из факторов в реализации преждевременных родов является инфекция, наличие которой в репродуктивном тракте женщины, активирует цитокиновый каскад, способствуя развитию маточных сокращений и началу ПР. Несомненно, инфекционный агент является одним из ведущих факторов в развитии ПР, однако в последнее время не исключена роль дисбиотических нарушений с возникновением локальной воспалительной реакции у женщин с ПР [34]. В связи с чем, особое внимание исследователей уделяется вагинальной микробиоте, так как данный биотоп женского репродуктивного тракта обеспечивает первичную колонизацию новорожденного в случае естественных родов [165]. Кроме того, нарушения микробиоценоза влагалища ассоциировано с повышенным риском развития инфекционно-воспалительной патологии репродуктивного тракта, а также различных осложнений во время родов и в послеродовом периоде [146, 158]. В связи с чем, особый интерес представляло изучение микробиоценоза влагалища для выявления наличия условно-патогенной микрофлоры, как фактора риска ПР. Кроме того, проводилась оценка локальной воспалительной реакции по уровню экспрессии мРНК генов цитокинов во влагалищных мазках.

В исследование включены беременные с угрожающими преждевременными родами, у которых отсутствовала регулярная родовая деятельность. Всем женщинам проводилась терапия, направленная на



пролонгирование беременности, успешность которой оценивалась по сроку родоразрешения, после начала лечения. Пролонгировать беременность до доношенного срока удалось в 36,6%, а в 63,4% случаев произошла реализация преждевременных родов, из которых СПР составили 30,1%, а ПРПО – 33,3%. Наибольшая эффективность пролонгирования беременности при СПР (61,7%) и ПРПО (63,5%) наблюдалась при сроке 28,0-33,6 нед. При сроке 22,0-27,6 нед СПР были пролонгированы в 32,4%, а при 34,0-36,6 нед – в 5,9%. При ПРПО в 34,0-36,6 нед – в 31,9% наблюдений сохранить беременность удалось, а на сроке 22,0-27,6 нед эффект от проводимой терапии был минимальным и составил 4,6%.

На следующем этапе было изучено состояние микробиоценоза влагалища, а также проведена оценка локальной воспалительной реакции в зависимости от срока гестации и исходов преждевременных родов. Высокий риск реализации как СПР, так и ПРПО отмечался при случаях сочетания дисбиотических нарушений с локальной воспалительной реакцией при СПР на сроке 34,0-36,6 нед, а при ПРПО на сроке 22,0-27,6 нед. Следует отметить, что при нормальных показателях микробиоценоза вероятность пролонгирования беременности при сроке 28,0-33,6 нед как при СПР, так и при ПРПО значительно выше. В группе ПРПО также были выявлены изолированные дисбиотические нарушения в 26,7% случаев при сроке 34,0-36,6 нед, что согласуется с данными R. Romero et al. [197], в которых также отмечается низкая частота случаев пролонгирования беременности на ранних сроках при ПРПО и ведущим фактором развития очень ранних преждевременных родов является инфекционный фактор.

Интерес представляла оценка вероятности пролонгирования беременности в зависимости от состояния микробиоценоза влагалища в сочетании с локальной воспалительной реакцией. Сочетание нормоценоза без локального воспаления являлось наиболее благоприятным. Пролонгировать беременность в данном случае удалось в 81,8% случаев. Менее благоприятным было сочетание дисбиотических нарушений и отсутствие

локального воспаления, при котором удалось пролонгировать беременность у 63,6% случаев. При сочетании нормоценоза с локальным воспалением – у 22,2% случаев. Наиболее неблагоприятным оказалось сочетание дисбиотических нарушений с локальным воспалением, которое в 93,0% случаев привело к реализации преждевременных родов.

Так, последовательность развития событий при нарушении влагалищного гомеостаза состояла из нарушения структуры нормальной микрофлоры и последующим присоединением локального воспаления. При этом вероятность развития ПР и ПРПО была примерно в равном соотношении и представляла сочетание дисбиотических нарушений с присоединением локального воспаления [125]. Дисбиотические нарушения влагалища были связаны не только с повышенной восприимчивостью к инфекциям передаваемым половым путем, а также с повышенным риском воспалительных заболеваний органов малого таза, которые являлись причиной послеродовых очагов инфекции матери и новорожденного, а также повышали риск развития преждевременных родов [1, 33, 234].

Полученные данные свидетельствуют о том, что при нарушении соотношения профиля экспрессии цитокинов и возникновении локальной воспалительной реакции наблюдается более неблагоприятный исход в отношении пролонгирования беременности, тогда как изолированные дисбиотические нарушения без воспаления имеют более благоприятный прогноз. Кроме того, следует отметить, что сочетание локальной воспалительной реакции с дисбиотическими нарушениями имеют наименьший процент в отношении пролонгирования беременности и требуют более тщательного наблюдения за пациентками с целью своевременного проведения комплекса профилактических и терапевтических мероприятий.

Окислительный стресс определяется как дисбаланс в производстве активных форм кислорода и способности антиоксидантной защиты. Известно, что во время беременности отмечается умеренный уровень окислительного стресса, однако, когда повышенное производство активных форм азота и

кислорода превышает антиоксидантный потенциал матери, это может отрицательно повлиять на самочувствие как матери, так и плода, приводя к осложнениям во время беременности, а также к неблагоприятным последствиям. Кроме того, в рамках концепции роли асептического воспаления в генезе больших акушерских синдромов особое значение придается так называемым факторам, ассоциированным с повреждением клеточных структур (DAMPs). Эффекторное действие DAMPs в сочетании с их противовоспалительным действием выполняет роль триггера, вызывающего воспалительный ответ, который может привести к реализации преждевременных родов [196].

Общепринятым является то, что при беременности происходит транспортировка питательных веществ и продукты метаболизма от матери к развивающемуся плоду посредством трансплацентарного переноса. Вследствие чего происходит увеличение обеспечения энергией организма посредством интенсивной работы митохондриального аппарата. В связи с чем был проведен анализ содержания антиоксидантных белков (глутатионпероксидазы и каталазы) в тканях плаценты.

Анализ содержания глутатионпероксидазы в плаценте при спонтанных преждевременных родах не показал достоверных отличий по сравнению с группой своевременных родов, тогда как при преждевременном разрыве плодных оболочек было отмечено достоверно низкое содержание этого белка при сроке гестации 22-27,6 нед по сравнению с доношенным сроком беременности.

Сравнительный анализ содержания каталазы в плаценте при своевременных и преждевременных родах, неосложненных разрывом плодных оболочек, не выявил достоверных различий на всех сроках гестации, однако при ПРПО достоверные различия наблюдаются в сроке 28-33,6 нед.

При более детальном исследовании митохондриальных белков на разных гестационных сроках были получены данные о том, что для срока гестации 22-27,6 недель при преждевременных родах и ПРПО было выявлено

достоверное увеличение уровня GPx1 ( $p < 0,05$ ), тогда как уровни VDAC1, и Cat достоверно не отличались между сравниваемыми группами.

Исходя из полученных данных, при сравнении группы 22-27,6 нед и относительно группы своевременных родов, было отмечено увеличение окислительный стресс, в результате снижения активности антиоксидантной системы защиты.

Так же как выше – на сроке гестации 28-33,6 нед, достоверных различий получено не было. Изучение взаимодействия генерации активных форм кислорода и азота с их родственными антиоксидантными ферментами на в системе мать-плацента-плод во время нормальной и патологической беременности находится в состоянии равновесия. Понимание роли антиоксидантных систем во время эмбрионального и неонатального развития постоянно меняется с исследованиями, лучше определяющими биологическую роль этих высокорепреактивных видов и поддержанием оптимального баланса оксидант/антиоксидант. Система антиоксидантных ферментов активируется в течение последних 15% гестации, т.е. в период, когда неферментативные антиоксиданты также проникают через плаценту в возрастающих концентрациях. Эти изменения в развитии обеспечивают переход от относительной гипоксии внутриутробного развития к обогащенной кислородом внематочной среде. Преждевременные роды связаны с повышенным содержанием оксидантов, что подвергает новорожденных гораздо более высокому риску травм. Это особенно верно, поскольку исследования не смогли выявить значительную индукцию антиоксидантов в ответ на повышенное образование этих реактивных видов. Что в свою очередь свидетельствует о компенсаторных механизмах антиоксидантной системы.

Митохондриальная дисфункция различной этиологии, приводящая к нарушению баланса окислительно-восстановительных реакций в клетках и тканях, рассматривается как один из ведущих факторов патогенетических изменений фето-плацентарного комплекса, приводящих к таким осложнениям беременности как преждевременные роды. Митохондрии являются одними из

центральных медиаторов воспаления. Изучение белка внешней мембраны митохондрий белка VDAC1 при спонтанных преждевременных родах и при разрыве плодных оболочек, а также при своевременных родах. Возможное изменение количества митохондрий в плаценте может быть связано с функциональным проявлением митохондриальной активности.

При анализе содержания белков в тканях плаценты при ПР относительно группы своевременных родов, были получены достоверные различия содержания VDAC1 в группах ПР и ПРПО относительно группы своевременных родов при сроке гестации 22-27,6 нед. При анализе относительного содержания структурных белков в тканях плаценты на сроке гестации 34-36,6 нед были получены достоверные различия по уровню белка внешней мембраны митохондрий VDAC1, среди остальных белков достоверных различий получено не было. Вышеописанные результаты свидетельствуют о роли митохондриальных белков в генезе ПР [69, 132].

Известно, что различные клеточные компоненты, в том числе и белки можно отнести к DAMPs, которые могут принимать участие в развитии СВО. В последние годы активно изучается роль мтДНК, которую можно отнести к наиболее ярким представителям DAMPs [106, 196]. DAMPs активирует врожденный иммунный ответ с последующей выработкой провоспалительных цитокинов и развитием оксидативного стресса, что является неблагоприятным фактором в реализации ПР [169]. В ряде работ была показана [52, 53] роль мтДНК, непосредственно изменение количества ее копий в периферической плазме крови беременных при больших акушерских синдромах, в том числе и при ПР. Учитывая, что вопросы прогнозирования и диагностики ПР остаются открытыми, изучение уровня мтДНК в динамике является весьма перспективным направлением, которое позволит оптимизировать тактику ведения беременности женщин с данной патологией.

Сравнительный анализ относительного содержания мтДНК в плазме периферической крови показал, что уровень мтДНК при физиологической беременности был значительно ниже, чем при преждевременных родах, при

этом для физиологической беременности наблюдалось повышение уровня мтДНК пропорционально сроку гестации с максимумом к сроку родов (37-40,0 нед беременности), что согласуется с данными зарубежной литературы [196]. При анализе данных между группами на одном сроке гестации было выявлено, что уровень мтДНК на сроке 22-27,6 нед при ПР был статистически значимо выше, чем при физиологической беременности ( $p < 0,05$ ), однако в отношении группы физиологических родов обе группы имели статистические различия.

Для срока 28-33,6 нед проведенный анализ показал, что, хотя уровень мтДНК при ПР также выше, чем при ФБ, но статистически значимых различий выявлено не было. В отношении группы своевременных родов обе группы имели статистически низкое значение.

В то время как на сроке 34-37,6 нед беременности также был отмечен статистически значимо высокий уровень мтДНК при ПР по отношению к уровню мтДНК при ФБ, а также значимо низкий – по сравнению с группой физиологических родов.

Следует отметить, что динамика повышения уровня мтДНК во всех группах имела различный характер. При спонтанных преждевременных родах на всех сроках отмечалось одинаковое значение мтДНК, при этом более высокое, нежели при физиологической беременности. Однако это значение было более низким относительно уровня мтДНК при своевременных родах, что может свидетельствовать об общих механизмах развития процесса индукции родов как при СПР, так и при своевременных родах, что согласуется с данными литературы [52, 53, 69, 196].

При сравнительной характеристике уровня мтДНК в периферической крови беременных при ФБ и ПРПО были выявлены статистически достоверные различия уровня мтДНК. В частности, при анализе данных между группами на одном сроке гестации было выявлено, что уровень мтДНК на сроке 22-27,6 нед при ПРПО был статистически значимо выше, чем при ФБ, однако в отношении группы физиологических родов статистическое различие было выявлено у группы с ФБ, тогда как с группой ПРПО уровень мтДНК

имел схожее значение. В то время как на сроке 28-33,6 нед беременности также был отмечен статистически значимый высокий уровень мтДНК при ПРПО по отношению к уровню мтДНК при ФБ, однако было отмечено достоверно низкое значение отмечалось с группой физиологических родов.

Анализ уровня мтДНК на сроке 34-37,6 нед показал, что уровень при ПРПО также был выше, чем при ФБ, но статистически значимых различий выявлено не было. В отношении группы физиологических родов обе группы имели статистически низкое значение. Данные согласуются с исследованиями R. Menon [169].

Следует отметить, что динамика повышения уровня мтДНК при ПР различного генеза также имела различный характер. Принципиальным отличием является то, что на сроке 22-27,6 нед при ПРПО и при физиологических родах примерно одинаковый уровень мтДНК. Это свидетельствует о том, что митохондриальные DAMPs являются предикторами возникновения как спонтанных преждевременных родов, так и преждевременных родов с разрывом плодных оболочек, что согласуется с данными исследования R. Romero et al. [196]. Роды являются кульминацией воспалительного каскада, при котором лейкоциты проникают в матку, вырабатывая широкий спектр утеротропинов (цитокинов, хемокинов и др.), что приводит к активации матки (созревание шейки матки, ослабление плодных оболочек и усиление сократимости миометрия). Если этот путь преждевременно запущен патологическим воспалением, он может привести к преждевременным родам, независимо от инфекции [79]. Предпринимаются усилия по выявлению самого раннего или предшествующего события в этом каскаде для разработки эффективных профилактических методов лечения. DAMPs являются интересным кандидатом, поскольку их высвобождение представляет собой начальный этап стерильного воспаления после травмы и поскольку большинство преждевременных родов происходит без каких-либо признаков инфекции, что вызывает вопросы о том, какой фактор (или группа факторов) инициирует развитие родовой деятельности родов у женщин с

угрожающими преждевременные родами. Также имеются данные, что стерильное внутриамниотическое воспаление наблюдается значительно чаще, чем микроопосредованное внутриамниотическое воспаление, у пациентов с преждевременными родами и интактными плодными оболочками и недавние достижения обнаружили повышенную экспрессию, а DAMPs, а именно cffDNA, HMGB1, интерлейкин-1, мочевая кислота в материнской сыворотке или плацентарной ткани женщин с риском преждевременных родов или родивших преждевременно [196]. Это увеличение количества сигналов тревоги может быть связующим звеном между многочисленными причинами преждевременных родов, в которые вовлечены повреждение тканей и апоптоз клеток, и иницированием провоспалительной реакции, способствующей запуску родового механизма. Эти причины включают старение плаценты, нарушение толерантности матери/плода, структурную недостаточность матки и шейки матки, кровоизлияние, многоплодную беременность, сосудистые нарушения и гипоксию/ишемию. Установление такой связи может иметь серьезные последствия для разработки эффективных терапевтических средств и диагностики. В соответствии с этими критериями фракция внеклеточной ДНК  $\geq 95$ -го перцентиля при скрининге между 14 и 20 неделями беременности была предложена в качестве эффективного биомаркера для оценки риска преждевременных родов [88,197].

Хотя большинство данных, связывающих повышение уровней триггерных сигналов и начало преждевременных родов, корреляционные, причинно-следственные и механистические данные также были доказаны, особенно в отношении cffDNA и HMGB1. Во-первых, было обнаружено, что введение cffDNA вызывает воспаление плаценты и резорбцию плода через TLR9 при внутрибрюшинном введении беременным мышам, в отличие от отсутствия эффектов материнской ДНК. Это говорит о том, что высокие уровни циркулирующей вкДНК, достигаемые у женщин с преждевременными или своевременными родами (упомянутые выше), могут вызвать патологическое воспаление в плацентарной ткани через TLR9.



Соответственно, было обнаружено, что гипометилированные фрагменты CpG, TLR9-чувствительный элемент в cffDNA, вызывают быструю (24-48ч) миграцию лейкоцитов в матку, продукцию TNF $\alpha$  и инициирует преждевременные роды у мышей с дефицитом IL-10. Во-вторых, недавние данные показывают, что стимуляция HMGB1 индуцирует экспрессию генов активации матки, включая TNF $\alpha$ , IL6, в человеческих миоцитах и роды у мышей при внутриамнионном введении; и соответственно, сообщалось о связи между высокими уровнями амниотических клеток HMGB1 и более ранними родами у пациентов с внутриамниотическим асептическим воспалением [86, 195]. Более того, введение HMGB1 *ex vivo* в плодные оболочки человека индуцирует p38-опосредованную продукцию IL-6 и IL-8. В этих условиях о потенциальной роли пути HMGB1 в родах сообщалось с использованием транскриптомики и биоинформатического анализа [80]. Кроме того, HMGB1 и его рецепторы RAGE, TLR2 и TLR4 обнаруживаются в шейке матки, а экстраядерная фракция HMGB1 увеличивается с началом родов при доношенных и преждевременных родах предполагая, что HMGB1 может играть роль в созревании шейки матки. Интересно, что стимуляция эндотоксинами запускает экспрессию и высвобождение HMGB1 *in vitro* в плодных оболочках и *in vivo* у плодов мышей, когда эндотоксины вводятся самкам соответственно, женщины с внутриамниотической инфекцией/воспалением и женщины с хориоамнионитом имеют более высокие уровни HMGB1 в амниотической жидкости [192]. Последнее предполагает, что HMGB1 также может иметь значение в инфекционной этиологии преждевременных родов. IL-1 $\alpha$  был первым сигналом тревоги, который был связан с преждевременными родами, а также своевременными родами. Однако, поскольку IL-1 $\beta$  высвобождается в ответ на инфекцию иммунными и неиммунными клетками маточно-плацентарного комплекса, его роль в первую очередь исследовалась, а не IL-1 $\alpha$ . Как упоминалось ранее, IL-1 $\beta$  и IL-1 $\alpha$  связываются с одним и тем же рецептором и имеют сходные эффекты.

Интересно, что стерильное воспаление вызывает общий воспалительный путь, ведущий к своевременным родам при нормальной беременности. Соответственно, транскриптомный анализ хориодецидуальной ткани, собранной в срок, предсказал, что HMGB1 является потенциальным вышестоящим регулятором родов [145].

Таким образом, проведенное исследование позволило уточнить клиничко-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 относить: 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 СОКРАЩЕНИЙ**

АФК – активные формы кислорода

АФА – активные формы азота

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ВУИ – внутриутробная инфекция

ДВС – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗРП – задержка роста плода

ИППП – инфекции, передающиеся половым путем

ИР – индекс резистентности

ИФА – иммуноферментный анализ

ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность

КД – культуральная диагностика

КЛ – кардиолипиды

КСК – кривая скорости кровотока

КТРГ – кортикотропин релизинг гормон

КТГ – кардиотокография плода

ЛПС – липополисахарид

МА – маточная артерия

ОС – окислительный стресс

ПГЕ – простагландин E<sub>2</sub>

ПР – преждевременные роды

ПН – плацентарная недостаточность

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПСИФР – фосфорилированная форма протеина 1 – инсулиноподобного фактора роста

- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РДС – респираторный дистресс синдром
- СМА – средняя мозговая артерия
- СВО – системный воспалительный ответ
- ССВО – синдром системного воспалительного ответа
- ССВР – синдром системной воспалительной реакции
- УГИ – урогенитальные инфекции
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- ФЛ – фосфолипиды
- ФПК – фетоплацентарный комплекс
- ФИ – фагоцитарный индекс
- ЦОГ – циклооксигеназа
- ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
- CD – кластер дифференцировки лимфоцитов
- CMV – цитомегаловирус
- CpG-DNA (bacterial DNA) – бактериальная ДНК
- EGF (epidermal growth factor) – эпидермальный фактор роста
- ELISA – иммуноферментный анализ
- ESR (estrogen receptor) – эстрогеновые рецепторы
- FAF (fibroblast-activating factor) – фактор активирующий фибробласты
- FGF (fibroblast growth factor) – фактор роста фибробластов
- HCV – вирус гепатита С
- HSV – вирус простого герпеса
- IFN- $\gamma$  – интерферон  $\gamma$
- IgG/IgM – иммуноглобулины класса G и M
- IF (interferon) – интерферон
- Ig (immunoglobulin) – иммуноглобулины



IGF (insulin-like growth factor) – инсулиноподобный фактор роста

IL (interleikin) – интерлейкины

HLA – человеческие лейкоцитарные антигены

HMGB – (high-mobility group protein B1) или амфотерин – белок из группы ядерных негистоновых белков HMG

KAR – киллерные активаторные рецепторы

Ki67 (nuclear protein) – белок клеточного ядра Ki67

KIR – киллерные ингибиторные рецепторы

MMPs (matrix metalloproteinases) – матриксные металлопротеиназы

NK – клетки-естественные киллеры

NO (nitric oxide) – оксид азота

PAPP – протеин, связанный с беременностью

Th1/Th2 – Т-лимфоциты-хелперы

t-PA – тканевой активатор плазминогена

TF – тканевой фактор

p53 (protein 53) – белок p53

PCNA (proliferating cell nuclear antigen) – антиген пролиферации клеточного ядра

PDGF (platelet-derived growth factor) – тромбоцитарный фактор роста

SNP (single-nucleotide polymorphism) – однонуклеотидные генные полиморфизмы

TGF (transforming growth factor) – трансформирующий фактор роста

TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли

TLRs (Toll-like receptor) – толл-подобный рецептор

VEGF (vascular endothelial growth factor) – сосудистый эндотелиальный фактор роста

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абусуева З.А., Омарпашаева М.И., Хашаева Т.Х., Какваева С.Ш. Состояние микробиоты вагинального тракта у женщин с преждевременными родами (клинико-anamнестические особенности). Медицинский алфавит. 2020; (4): 46-48.
2. Азбукина Л.Н. Факторы риска, прогнозирование и тактика ведения беременных с угрозой преждевременных родов. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015; 11 (5): 633-635.
3. Акушерство: национальное руководство. Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: «ГЭОТАР- Медиа», 2015. 1080 с.
4. Баев О.Р., Васильченко О.Н., Кан Н.Е., Клименченко Н.И., Митрохин С.Д., Тетрашвили Н.К., Ходжаева З.С., Шмаков Р.Г., Дегтярев Д.Н., Тютюнник В.Л., Адамян Л.В. Преждевременный разрыв плодных оболочек. Преждевременное излитие вод. Акушерство и гинекология. 2013; 9: 123-134.
5. Баев О.Р., Васильченко О.Н., Карапетян А.О., Тетрашвили Н.К., Ходжаева З.С. Эффективность применения атозибана при угрожающих преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2017; 9: 96-101
6. Баев О.Р., Дикке Г.Б. Диагностика преждевременного разрыва плодных оболочек на основании биохимических тестов. Акушерство и гинекология. 2018; 9: 132-136.
7. Баранов И.И., Токова З.З. Непрямые причины материнской смертности. Акушерство и гинекология. 2012; 4 (2): 92-96.
8. Батрак Н.В., Малышкина А.И. Факторы риска привычного невынашивания беременности. Вестник Ивановской медицинской академии. 2016; 21 (4): 37-41.
9. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Свитич О.А., Тимохина Е.В., Кукина П.И., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г. Преждевременные роды: причины, патогенез, тактика. Акушерство и гинекология. 2020; 2: 82-8

10. Булатова Ю.С., Тетрашвили Н.К., Высоких М.Ю. Провоспалительные факторы митохондриального происхождения в патогенезе привычных выкидышей и ранних преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2017; 8: 5-9.
11. Бурменская О.В., Байрамова Г.Р., Непша О.С., Тютюнник В.Л., Трофимов Д.Ю., Сухих Г.Т. «Способ определения локальной воспалительной реакции у женщин репродуктивного возраста по уровню экспрессии мРНК генов цитокинов во влагалищных мазках» № 2552310 от 9.10.2013
12. Ванько Л.В., Сафронова В. Г., Матвеева Н.К., Сухих Г.Т. Оксидативный стресс в генезе акушерских осложнений. Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2010. – 264 с.
13. Высоких М.Ю., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Курчакова Т.А., Суханова Ю.А., Володина М.А., Тарасова Н.В., Цвиркун Д.В., Меджидова М.К., Арушанова А.Г. Диагностическая значимость определения содержания малонового диальдегида и активности каталазы при преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2017; 4: 62-67.
14. Ганковская О.А. Исследование ассоциации полиморфных маркеров генов TLR2 и TLR9 с преждевременными родами и внутриутробным инфицированием. *Медицинская иммунология*. 2010; 1-2: 87-94.
15. Горина К.А., Ходжаева З.С., Муравьева В.В., Муминова К.Т., Донников А.Е., Припутневич Т.В. Роль микробиоты кишечника матери при спонтанных преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2020; 8: 64-71.
16. Гродницкая Е.Э., Латышкевич О.А. Микробиоценоз влагалища и пути его коррекции у женщин с невынашиванием беременности и преждевременными родами в анамнезе. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2014; 1: 81-83.
17. Девятова Е.А. Аномалии расположения и прикрепления плаценты - факторы риска недонашивания беременности, кесарева сечения и

неблагоприятных исходов. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* 2016; 3: 17-24.

18. Дегтярева А.С., Никашина А.А., Крукиер И.И., Кухта О.И. Дисбаланс в системе цитокинов плаценты и плодных оболочек при самопроизвольном прерывании беременности в ранние сроки и преждевременных родах. *Российский иммунологический журнал.* 2015; 9. № 1 (1). С. 49-50.

19. Дикке Г.Б. Диагностика высокого риска преждевременных родов на основании биохимических тестов. *Акушерство и гинекология.* 2018; 7: 108-113.

20. Доброхотова Ю.Э., Боровкова Е.И., Бондаренко К.Р. Кандидозный вульвовагинит: состояние изученности проблемы. *Российский вестник акушера-гинеколога.* 2017; 17 (3): 108-111.

21. Друккер Н.А., Дурницына О.А., Никашина А.А., Селютин С.Н. Диагностическая значимость  $\alpha$ -1-микροглобулина в развитии преждевременных родов. *Акушерство и гинекология.* 2019; 1: 81-85.

22. Дядичкина О.В., Радецкая Л.Е. Использование показателей врожденного звена иммунитета для оценки риска развития спонтанных преждевременных родов. *Вестник ВГМУ.* 2016; 15(4): 46-54.

23. Елизарова Н.Н., Артымук Н.В., Поленок Е.Г. Иммунологические особенности женщин с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22<sup>+0</sup>-36<sup>+6</sup> недель беременности. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2017; 2(3): 58-62.

24. Зиядинов А.А. Преждевременные роды: факторы риска, состояние плода и новорожденного, критерии прогноза: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2016. – 25 с.

25. Инфекционно-воспалительные заболевания в акушерстве и гинекологии. Руководство для врачей. Под ред. Э.К. Айламазяна. Москва: «ГЭОТАР-Медиа». 2016.- 320 с.

26. Кан Н.Е., Санникова М.В., Амирасланов Э.Ю., Тютюнник В.Л. Клинические предикторы прогнозирования преждевременного разрыва плодных оболочек. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2013; 12 (3): 12-18.
27. Кан Н.Е., Санникова М.В., Донников А.Е., Климанцев И.В., Амирасланов Э.Ю., Ломова Н.А., Кесова М.И., Костин П.А., Тютюнник В.Л., Сухих Г.Т. Клинические и молекулярно-генетические факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек. Акушерство и гинекология. 2013; 4: 14-18.
28. Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Ломова Н.А. Натуральный микронизированный прогестерон в комплексной терапии угрожающих преждевременных родов.
29. Каткова Н.Ю., Бодрикова О.И., Сергеева А.В., Безрукова И.М., Покусаева К.Б. Состояние локального иммунного статуса при различных вариантах преждевременных родов. Вестник РГМУ. 2017; 3: 57-61.
30. Козлов П.В. Преждевременный разрыв плодных оболочек при недоношенной беременности. Прогнозирование. Тактика ведения. Перинатальные исходы: Автореф. дисс. доктора мед. Наук. – Москва, 2010. – 40 с.
31. Козлов П.В., Иванников Н.Ю., Кузнецов П.А., Богаева И.И. Эпидемиология, этиология и патогенез поздних преждевременных родов. Акушерство, гинекология и репродукция. 2015; 9 (1): 68-76.
32. Кузьмин В.Н. Перинатальные исходы при преждевременном разрыве плодных оболочек. Лечащий врач. 2018; 3: 34-38.
33. Курчакова Т.А. Оптимизация прогнозирования преждевременных родов: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2018. 24 с.
34. Липатов И.С., Тезиков Ю.В., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Протасов А.Д., Мартынова Н.В., Жернакова Е.В., Букреева А.А. Профилактика потерь беременности ранних сроков. Акушерство и гинекология. 2017; 1: 24-32.

35. Меджидова М.К., Бурменская О.В., Донников А.Е., Непша О.С., Трофимов Д.Ю., Касабулатов Н.М., Тютюнник В.Л., Сухих Г.Т. Оценка локальной воспалительной реакции во влагалище по профилю экспрессии мРНК генов цитокинов у беременных накануне родов. *Акушерство и гинекология*. 2012; 3: 26-31.
36. Назарова А.О., Малышкина А.И., Назаров С.Б. Факторы риска спонтанных преждевременных родов: результаты клинко-эпидемиологического исследования. *Акушерство и гинекология*. 2019; 9: 82-86.
37. Назарова А.О., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Бойко Е.Л. Факторы риска угрожающих преждевременных родов: результаты клинко-эпидемиологического исследования. *Акушерство и гинекология*. 2020; 6: 43-48.
38. Низяева Н.В., Карапетян А.О., Гапаева М.Д., Сеницына В.А., Баев О.Р. Структурные особенности плодных оболочек при преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2019; 8: 63-69.
39. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения. ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава Российской Федерации. Под ред. Е.П. Какорина, В.И. Стародубова. – Москва. – 2018. – 171 с.
40. Перепелица С.А. Этиологические и патогенетические перинатальные факторы развития внутриутробных инфекций у новорожденных. *Общая реаниматология*. 2018; 14 (3): 54-67.
41. Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Линде В.А. Протеомные маркеры программирования преждевременных родов. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2016; 16 (2): 18-22.

42. Радзинский В.Е., Оразмурадов А.А., Савенкова И.В., Дамирова К.Ф., Хаддад Х. Преждевременные роды — нерешенная проблема XXI века. Кубанский научный медицинский вестник. 2020; 27(4): 27-37.
43. Рицо Д., Маппа И., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Макацария А.Д. Прогнозирование преждевременных родов: оценка ультразвукового исследования шейки матки и цервикально-влагалищных биомаркеров. Вестник Российской академии медицинских наук. 2020; 75 (4): 269-277.
44. Румянцева Т.А., Варламова А.В., Гуцин А.Е., Безруков В.М. Сравнение тестов для количественной оценки *Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*: «Mycoplasma Duo», «Уреаплазма Микротест», «Микоплазма Микротест» и «АмплиСенс-Флороценоз-Микоплазмы – FL». Клиническая лабораторная диагностика. 2014; 8: 52-57.
45. Румянцева Т.А., Савочкина Ю.А., Долгова Т.И., Зайцева С.В., Кахерская М.А., Кудрявцева Л.В., Гуцин А.Е. Диагностика вульвовагинального кандидоза: сопоставление информативности клинических данных и результатов лабораторных исследований. Акушерство и гинекология. 2015; 3: 55-61.
46. Савельева Г.М., Шалина Р.И., Курцер М.А. Преждевременные роды, как важнейшая проблема современного акушерства. Акушерство и гинекология. 2012; 8 (2): 4-10.
47. Серов В.Н., Сухорукова О.И. Эффективность профилактики преждевременных родов. Акушерство и гинекология. 2013; 3: 48-53.
48. Серов В.Н., Тютюнник В.Л., Балущкина А.А. Способы терапии угрожающих преждевременных родов. Эффективная фармакотерапия. 2013; 18: 44-49.
49. Серова О.Ф., Тамазян Г.В., Чернигова И.В., Данилова Е.В. Перинатальные исходы при очень ранних преждевременных родах. Доктор РУ. Гинекология. Эндокринология. 2014; 12 (100): 39-41.

50. Серова О.Ф., Чернигова И.В., Седая Л.В., Шутикова Н.В. Анализ перинатальных исходов при очень ранних преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2015; 4: 32-36.
51. Сидорова И.С., Макаров И.О., Матвиенко Н.А. Внутриутробная инфекция: ведение беременности, родов и послеродового периода. Москва: «МЕДпресс-информ», 2012. – 156 с.
52. Скворидина Т.П. Оптимизация комплексной терапии женщин с тяжелой преэклампсией с использованием респираторной поддержки: автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2019. – 27 с.
53. Скрипниченко Ю.П., Баранов И.И., Токова З.З. Статистика преждевременных родов. *Проблемы репродукции*. 2014; 4: 11-14.
54. Сухих Г.Т., Байбарина Е.Н., Шувалова М.П., Письменная Т.В. Российские тенденции снижения перинатальных потерь с учетом перехода на международные критерии регистрации рождения детей. *Акушерство и гинекология*. 2013; 12: 79-85.
55. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Адамян Л.В., Филиппов О.С., Баев О.Р., Клименченко Н.И., Тетрашвили Н.К., Тютюнник В.Л., Ходжаева З.С. Холин А.М. Преждевременные роды. Клинические рекомендации (протокол). – МЗ РФ.- Москва, 2014. – 35 с.
56. Тетрашвили Н.К., Ким Л.В., Парсаданян Н.Г., Федорова Н.И., Барков И.Ю., Шубина Е.С., Трофимов Д.Ю. Неинвазивный пренатальный ДНК-тест в качестве скрининговой методики у женщин различных групп риска: взгляд на проблему. *Акушерство и гинекология*. 2016; 8: 24-28.
57. Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Непша О.С., Курчакова Т.А., Меджидова М.К., Амирасланов Э.Ю., Донников А.Е., Бурменская О.В. Тютюнник В.Л. Прогнозирование преждевременных родов по профилю экспрессии генов врожденного иммунитета в клетках цервикального канала. Патент на изобретение RU 2620153 С, 23.05.2017. Заявка № 2016104310 от 10.02.2016.



58. Тютюнник В.Л., Балушкина А.А., Михайлова О.И., Кан Н.Е. Лечение дисбиотических нарушений влагалища у беременных перед родами. Медицинский совет. 2019. № 13. С. 64-69.

59. Фаткуллин И.Ф., Фаткуллин Ф.И., Мунавирова А.А., Исламова Л.Х., Ахметгалиев А.Р., Шайхетдинова А.Т. Опыт применения блокатора окситоциновых рецепторов при начавшихся преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2016; 6: 73-77.

60. Федотовская О.И. Оптимизация акушерской тактики при преждевременных родах – роль клинических и молекулярно-генетических факторов: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2014. – 21 с.

61. Ходжаева З.С., Горина К.А., Муминова К.Т. Ходжаева З.С., Горина К.А., Муминова К.Т., Иванец Т.Ю., Кесслер Ю.В., Припутневич Т.В., Белоусов Д.М. Особенности состава амниотической жидкости у беременных высокого риска преждевременных родов. Акушерство и гинекология. 2020; 8: 82-87.

62. Ходжаева З.С., Гусейнова Г.Э., Муравьева В.В., Донников А.Е., Мишина Н.Д., Припутневич Т.В. Характеристика микробиоты влагалища у беременных с досрочным преждевременным разрывом плодных оболочек. Акушерство и гинекология. 2019; 12: 64-72.

63. Ходжаева З.С., Дембовская С.В., Доброхотова Ю.Э., Сичинава Л.Г., Юзько А.М., Мальцева Л.И., Серова О.Ф., Макаров И.О., Ахмадеева Э.Н., Башмакова Н.В., Шмаков Р.Г., Клименченко Н.И., Муминова К.Т., Талибов О.Б., Сухих Г.Т. Медикаментозная профилактика преждевременных родов. (Результаты международного многоцентрового открытого исследования МИСТЕРИ). Акушерство и гинекология. 2016; 8: 37-43.

64. Ходжаева З.С., Федотовская О.И., Донников А.Е. Клинико-анамнестические особенности женщин с идиопатическими преждевременными родами на примере славянской популяции. Акушерство и гинекология. 2014; 3: 28-32.

65. Черепахин Е.П., Новикова В.А., Томашевский Д.В., Хорольский В.А., Югина А.А. Особенности анамнеза и осложнения беременности в I-II триместрах и риски преждевременных родов. Кубанский научный медицинский вестник. 2017; 24 (4): 150-155.
66. Шадеева Ю.А., Гурьева В.А., Николаева М.Г., Евтушенко Н.В. Прогнозирование риска внутриутробной инфекции плода при сверхранных и ранних преждевременных родах, индуцированных разрывом околоплодных оболочек. Акушерство, гинекология и репродукция. 2020; 14 (4): 490-501.
67. Шафиева К.А. Особенности течения послеродового периода и профилактика осложнений у женщин, родоразрешившихся в сроке сверхранных преждевременных родов: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Екатеринбург, 2019. – 23 с.
68. Щербаков В.И., Поздняков И.М., Ширинская А.В., Волков М.В. Роль провоспалительных цитокинов в патогенезе преждевременных родов и преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2020; 20 (2): 15-21.
69. Abdel Ghany EA, Alsharany W, Ali AA, Youness ER, Hussein JS. Anti-oxidant profiles and markers of oxidative stress in preterm neonates. Paediatr Int Child Health. 2016 May; 36 (2): 134-140.
70. Abeti R, Parkinson MH, Hargreaves IP, Angelova PR, Sandi C, Pook MA, Giunti P, Abramov AY. Mitochondrial energy imbalance and lipid peroxidation cause cell death in Friedreich's ataxia. Cell Death Dis. 2016 May 26; 7 (5): e2237.
71. ACOG Committee Opinion No. 677: antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation, 2017.
72. Adams Waldorf KM, McAdams RM. Influence of infection during pregnancy on fetal development. Reproduction. 2013 Oct 1; 146 (5): R151-162.
73. Agger WA, Schauburger CW, Burmester JK, Shukla SK. Developing research priorities for prediction and prevention of preterm birth. Clin Med Res. 2016 Dec; 14 (3-4): 123-125.

74. Allen-Daniels MJ, Serrano MG., Pflugner LP., Fettweis JM, Prestosa MA, Koparde VN, Brooks JP, Strauss JF, Romero R, Chaiworapongsa T, Eschenbach DA, Buck GA, Jefferson KK. Identification of a gene in *Mycoplasma hominis* associated with preterm birth and microbial burden in intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Jun; 212 (6): 779. e1-779. e13.
75. Areia AL, Moura P, Mota-Pinto A: PROSPERO N° CRD42018089859. The role of innate immunity in spontaneous preterm labor: A systematic review. *J Reprod Immunol*. 2019 Nov; 136: 102616.
76. Arenas-Hernandez M, Romero R, Louis DS, Hassan SS, Kaye EB, Gomez-Lopez N. An imbalance between innate and adaptive immune cells at the maternal-fetal interface occurs prior to endotoxin-induced preterm birth. *Cell Mol Immunol* 2016 Jul; 13 (4): 462-473.
77. 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 Oct 18; 11 (10): e0164211.
78. Bastek JA, Hirshberg A, Chandrasekaran S, Owen CM, Heiser LM, Araujo BA, McShea MA, Ryan ME, Elovitz MA. Biomarkers and cervical length to predict spontaneous preterm birth in asymptomatic high-risk women. *Obstet Gynecol* 2013 Aug; 122 (2 Pt 1): 283-289.
79. Baumbusch MA, Buhimschi CS, Oliver EA, Zhao G, Thung S, Rood K, Buhimschi IA. High Mobility Group-Box 1 (HMGB1) levels are increased in amniotic fluid of women with intra-amniotic inflammation-determined preterm birth, and the source may be the damaged fetal membranes. *Cytokine*. 2016 May; 81: 82-87.
80. Beck S, Wojdyla D, Say L, Betran AP, Merialdi M, Requejo JH, Rubens C, Menon R, Van Look PF. The worldwide incidence of preterm birth: a systematic review of maternal mortality and morbidity. *Bull World Health Organ*. 2010 Jan; 88 (1): 31-38.

81. Becker DA, Szychowski JM, Kuper SG, Jauk VC, Wang MJ, Harper LM. Labor curve analysis of medically indicated early preterm induction of labor. *Obstet Gynecol.* 2019 Oct; 134 (4): 759-764.
82. Berghenhenegouwen LA, Meertens LJ, Schaaf J, Nijhuis JG, Mol BW, Kok M, Scheepers HC. Vaginal delivery versus caesarean section in preterm breech delivery: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2014 Jan; 172: 1-6.
83. Bertagnolli M, Nuyt AM, Thébaud B, Luu TM. Endothelial progenitor cells as prognostic markers of preterm birth-associated complications. *Stem Cells Transl Med.* 2017 Jan; 6 (1): 7-13.
84. Bishop E.H. Prematurity: etiology and management. *Postgrad Med* 1964 Feb; 35: 185-188.
85. Boivin A, Luo ZC, 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): 1177-1184.
86. Boyle AK, Rinaldi SF, Norman JE, Stock SJ. Preterm birth: Inflammation, fetal injury and treatment strategies. *J Reprod Immunol.* 2017; 119: 62-66.
87. Bream EN, Leppellere CR, Cooper ME, Dagle JM, Merrill DC, Christensen K, Simhan HN, Fong CT, Hallman M, Muglia LJ, Marazita ML, Murray JC. Candidate gene linkage approach to identify DNA variants that predispose to preterm birth. *Pediatr Res.* 2013 Feb; 73 (2): 135-141.
88. Bruijn MM, Kamphuis EI, Hoesli IM, Martinez de Tejada B, Loccufer AR, Kühnert M, Helmer H, Franz M, Porath MM, Oudijk MA, Jacquemyn Y, Schulzke SM, Vetter G, Hoste G, Vis JY, Kok M, Mol BW, van Baaren GJ. The predictive value of quantitative fibronectin testing in combination with cervical length measurement in symptomatic women. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Dec; 215 (6): 793. e1-793. e8.

89. Buck JN, Orzechowski KM, Berghella V. Racial disparities in cervical length for prediction of preterm birth in a low risk population. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Aug; 30 (15): 1851-1854.
90. Caloone J, Rabilloud M, Boutitie F, Traverse-Glehen A, Allias-Montmayeur F, Denis, Boisson-Gaudin, Jaisson Hot, Guerre P, Cortet, Huissoud C. ICAMs Study Group. Accuracy of several maternal seric markers for predicting histological chorioamnionitis after preterm premature rupture of membranes: a prospective and multicentric study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2016 Oct; 205: 133-140.
91. Cappelletti M, Presicce P, Lawson MJ, Chaturvedi V, Stankiewicz TE, Vanoni S, Harley IT, McAlees JW, Giles DA, Moreno-Fernandez ME, Rueda CM, Senthamaraikannan P, Sun X, Karns R, Hoebe K, Janssen EM, Karp CL, Hildeman DA, Hogan SP, Kallapur SG, Chougnet CA, Way SS, Divanovic S. Type I interferons regulate susceptibility to inflammation-induced preterm birth. *JCI Insight.* 2017 Mar 9; 2 (5): e91288.
92. Chaemsaitong 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 Fetal Neonatal Med.* 2016; 29 (3): 349-359.
93. Chan GJ, Lee AC, Baqui AH, Tan J, Black RE. Risk of early-onset neonatal infection with maternal infection or colonization: a global systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2013 Aug; 10 (8): e1001502.
94. Chaouat G, Ledée-Bataille N, Dubanchet S, Zourbas S, Sandra O, Martal J. Th1/Th2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the Th1/Th2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol.* 2004 Jun; 134 (2): 93-119.
95. Christiaens I, Ang QW, Gordon LN, Fang X, Williams SM, Pennell CE, Olson DM. Two novel genetic variants in the mineralocorticoid receptor gene associated with spontaneous preterm birth. *BMC Med Genet.* 2015 Aug 11; 16: 59.

96. Cobo T, Vergara A, Collado MC, Casals-Pascual C, Herreros E, Bosch J, Sánchez-García AB, López-Parellada R, Ponce J, Gratacós E. Characterization of vaginal microbiota in women with preterm labor with intra-amniotic inflammation. *Sci Rep.* 2019 Dec 12; 9 (1): 18963.
97. Conde-Agudelo A, Romero R, Kusanovic JP. Nifedipine in the management of preterm labor: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Feb; 204 (2): 134.e1-20.
98. Conde-Agudelo A, Romero R. Cervical phosphorylated insulin-like growth factor binding protein-1 test for the prediction of preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jan; 214 (1): 57-73.
99. Conde-Agudelo A, Romero R. Cervicovaginal fetal fibronectin for the prediction of spontaneous preterm birth in multiple pregnancy: a systematic review and metaanalysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010 Dec; 23 (12): 1365-1376.
100. Daskalakis G, Goya M, Pergialiotis V, Cabero L, Kyvernitakis I, Antsaklis A, Arabin B. Prevention of spontaneous preterm birth. *Arch Gynecol Obstet.* 2019 May; 299 (5): 1261-1273.
101. DiGiulio DB, Callahan BJ, McMurdie PJ, Costello EK, Lyell DJ, Robaczewska A, Sun CL, Goltsman DS, Wong RJ, Shaw G, Stevenson DK, Holmes SP, Relman DA. Temporal and spatial variation of the human microbiota during pregnancy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015; 112 (35): 11060-11065.
102. Donders G, Bellen G, Rezeberga D. Aerobic vaginitis in pregnancy. *BJOG.* 2011; 118 (10): 1163-1170.
103. Jang DG, We JS, Shin JU, Choi YJ, Ko HS, Park IY, Shin JC. Maternal outcomes according to placental position in placental previa. *Int. J. Med. Sci.* 2011; 8 (5): 439-444.
104. Doridot L, Châtre L, Ducat A, Vilotte JL, Lombès A, Méhats C, Barbaux S, Calicchio R, Ricchetti M, Vaiman D. Nitroso-redox balance and mitochondrial homeostasis are regulated by STOX1, a pre-eclampsia-associated gene. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Aug 20; 21 (6): 819-834.

105. Duhig K, Chappell LC, Shennan AH. Oxidative stress in pregnancy and reproduction. *Obstet Med.* 2016 Sep; 9 (3): 113-116.
106. Dutta EH, Behnia F, Boldogh I, Saade GR, Taylor BD, Kacerovský M, Menon R. Oxidative stress damage-associated molecular signaling pathways differentiate spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes. *Mol Hum Reprod.* 2016 Feb; 22 (2): 143-157.
107. Dziadosz M, Bennett TA, Dolin C, West Honart A, Pham A, Lee SS, Pivo S, Roman AS. Uterocervical angle: a novel ultrasound screening tool to predict spontaneous preterm birth. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2016; 215 (3): 376. e1-7.
108. Entringer S, Buss C, Wadhwa PD. Prenatal stress, development, health and disease risk: A psychobiological perspective-2015 Curt Richter Award Paper. *Psychoneuroendocrinology* 2015 Dec; 62: 366-375.
109. Esteras N, Rohrer JD, Hardy J, Wray S, Abramov AY. Mitochondrial hyperpolarization in iPSC-derived neurons from patients of FTDP-17 with 10+16 MAPT mutation leads to oxidative stress and neurodegeneration. *Redox Biol.* 2017 Aug; 12: 410-422.
110. Ferguson KK, Chen YH, VanderWeele TJ, McElrath TF, Meeker JD, Mukherjee B. Mediation of the Relationship between Maternal Phthalate Exposure and Preterm Birth by Oxidative Stress with Repeated Measurements across Pregnancy. *Environ Health Perspect.* 2017 Mar; 125 (3): 488-494.
111. Ferguson KK, McElrath TF, Chen YH, Loch-Caruso R, Mukherjee B, Meeker JD. Repeated measures of urinary oxidative stress biomarkers during pregnancy and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Feb; 212 (2): 208.e1-8.
112. Frey HA, Klebanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2016; 21 (2): 68-73.
113. 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.
114. Furcron AE, Romero R, Mial TN, Balancio A, Panaitescu B, Hassan SS, Sahi A, Nord C, Gomez-Lopez N. Human Chorionic Gonadotropin Has Anti-

Inflammatory Effects at the Maternal-Fetal Interface and Prevents Endotoxin-Induced Preterm Birth, but Causes Dystocia and Fetal Compromise in Mice. *Biol Reprod.* 2016 Jun; 94 (6): 136.

115. Galindo-Sevilla N, Reyes-Arroyo F, Mancilla-Ramírez J. The role of complement in preterm birth and prematurity. *J Perinat Med.* 2019 Oct 25; 47 (8): 793-803.

116. Girault A, Le Ray C, Chapron C, Goffinet F, Marcellin L. Leiomyomatous uterus and preterm birth: an exposed/unexposed monocentric cohort study. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2018; 219 (4): 410.

117. Goldenberg RL, Culhane JF, Lams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet.* 2008; 371 (9606): 75-84.

118. Gómez LM, Sammel MD, Appleby DH, Elovitz MA, Baldwin DA, Jeffcoat MK, Macones GA, Parry S. Evidence of a gene-environment interaction that predisposes to spontaneous preterm birth: a role for asymptomatic bacterial vaginosis and DNA variants in genes that control the inflammatory response. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 Apr; 202 (4): 386. e1-6.

119. Gomez-Lopez N, Romero R, Arenas-Hernandez M, Ahn H, Panaitescu B, Vadillo-Ortega F, Sanchez-Torres C, Salisbury KS, Hassan SS. In vivo T-cell activation by a monoclonal  $\alpha$ CD3 $\epsilon$  antibody induces preterm labor and birth. *Am J Reprod Immunol.* 2016 Nov; 76 (5): 386-390.

120. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Panaitescu B, Furcron AE, Miller D, Roumayah T, Flom E, Hassan SS. Intra-amniotic administration of HMGB1 induces spontaneous preterm labor and birth. *Am J Reprod Immunol.* 2016 Jan; 75 (1): 3-7.

121. Gomez-Lopez N, Romero R, Xu Y, Miller D, Unkel R, Shaman M, Jacques SM, Panaitescu B, Garcia-Flores V, Hassan SS. Neutrophil Extracellular Traps in the Amniotic Cavity of Women with Intra-Amniotic Infection: A New Mechanism of Host Defense. *Reprod Sci.* 2017 Aug; 24 (8): 1139-1153.

122. Grobman WA, Lai Y, Iams JD, Reddy UM, Mercer BM, Saade G, Tita AT, Rouse DJ, Sorokin Y, Wapner RJ, Leveno KJ, Blackwell SC, Esplin MS,



Tolosa JE, Thorp JM, Caritis SN. Prediction of Spontaneous Preterm Birth Among Nulliparous Women with a Short Cervix. *J Ultrasound Med.* 2016 Jun; 35 (6): 1293-1297.

123. Ha V, McDonald SD. Pregnant women's preferences for and concerns about preterm birth prevention: a cross-sectional survey. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2017 Jan 31; 17 (1): 49.

124. Haahr T, Ersbuioll AS, Karlsen MA, Svare J, Sneider K, Hee L, Weile LK, Ziobrowska-Bech A, Ostergaard C, Jensen JS, Helmig RB, Uldbjerg N. Treatment of bacterial vaginosis in pregnancy in order to reduce the risk of spontaneous preterm delivery – a clinical recommendation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2016 Aug; 95 (8): 850-860.

125. Hernandez-Andrade E, Romero R, Korzeniewski SJ, Ahn H, Auriolles-Garibay A, Garcia M, Schwartz AG, Yeo L, Chaiworapongsa T, Hassan SS. Cervical strain determined by ultrasound elastography and its association with spontaneous preterm delivery. *J Perinat Med.* 2014 Mar; 42 (2): 159-169.

126. Holzer I, Farr A, Kiss H, Hagmann M, Petricevic L. The colonization with *Candida* species is more harmful in the second trimester of pregnancy. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2017; 295 (4): 891-895.

127. Houde M, Dahdouh EM, Mongrain V, Dubuc E, Francoeur D, Balayla J. The Effect of Adequate Gestational Weight Gain among Adolescents Relative to Adults of Equivalent Body Mass Index and the Risk of Preterm Birth, Cesarean Delivery, and Low Birth Weight. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2015 Dec; 28 (6): 502-507.

128. Howson CP, Kinney M, Lawn JE. Born too soon: the global action report on preterm birth. Recommended citation: March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WHO. Geneva: World Health Organization; 2012.

129. Huizing MJ, Cavallaro G, Moonen RM, González-Luis GE, Mosca F, Vento M, Villamor E. Is the C242T polymorphism of the CYBA gene linked with oxidative stress-associated complications of prematurity? *Antioxid Redox Signal.* 2017 Dec 10; 27 (17): 1432-1438.

130. Iams JD, Goldenberg RL, Meis PJ, Mercer BM, Moawad A, Das A, Thom E, McNellis D, Copper RL, Johnson F, Roberts JM. The length of the cervix and the risk of spontaneous premature delivery. National Institute of Child Health and Human Development Maternal Fetal Medicine Unit Network. *N. Engl. J. Med.* 1996; 334 (9): 567-572.
131. Jarde A, Lutsiv O, Beyene J, McDonald SD. Vaginal progesterone, oral progesterone, 17-OHPC, cerclage, and pessary for preventing preterm birth in at-risk singleton pregnancies: an updated systematic review and network meta-analysis. *BJOG.* 2019 Apr; 126 (5): 556-567.
132. Jauniaux E, Burton GJ. The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris).* 2016 Oct; 45 (8): 775-785.
133. Jefferson K. The bacterial etiology of preterm birth // *Adv Appl Microbiol.* 2012; 80: 1-22.
134. Jensen ET, Daniels JL, Stürmer T, Robinson WR, Williams CJ, Vejrup K, Magnus P, Longnecker MP. Hormonal contraceptive use before and after conception in relation to preterm birth and small for gestational age: an observational cohort study. *BJOG.* 2015; 122 (10): 1349-1361.
135. Jin Y, Liu Y, Nelin LD. Extracellular signal-regulated kinase mediates expression of arginase II but not inducible nitric-oxide synthase in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *J Biol Chem.* 2015 Jan 23; 290 (4): 2099-2111.
136. Newnham JP, Dickinson JE, Hart RJ, Pennell CE, Arrese CA, Keelan JA. Strategies to Prevent Preterm Birth. *Front Immunol.* 2014 Nov 19; 5: 584.
137. Jung EY, Park KH, Han BR, Cho SH, Yoo HN, Lee J. Amniotic Fluid Infection, Cytokine Levels, and Mortality and Adverse Pulmonary, Intestinal, and Neurologic Outcomes in Infants at 32 Weeks' Gestation or Less. *J Korean Med Sci.* 2017 Mar; 32 (3): 480-487.
138. Karakaş NM, Ecevit AN, Yalçın Y, Özdemir B, Verdi H, Tekindal MA, Özbek NY, Tarcan A, Ataç FB, Haberal A. Effect of maternal and neonatal

interleukin-6 -174 g/c polymorphism on preterm birth and neonatal morbidity. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Apr; 31 (8): 1009-1015.

139. Kashanian M, Faghankhani M, Hadizadeh H, Salehi MM, Roshan MY, Pour ME, Ensan LS, Sheikhsari N. Psychosocial and biological paternal role in pregnancy outcomes. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2018; Jul 22: 1-10.

140. Kaur A, Kaur A. Recurrent pregnancy loss: TNF- $\alpha$  and IL-10 polymorphisms. *J Hum Reprod Sci.* 2011 May; 4 (2): 91-94.

141. Keelan J.A. Intrauterine inflammatory activation, functional progesterone withdrawal, and the timing of term and preterm birth. *J Reprod Immunol.* 2018; 125: 89-99.

142. Khodabandehloo H, Gorgani-Firuzjaee S, Panahi G, Meshkani R. Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction. *Transl Res.* 2016 Jan; 167 (1): 228-256.

143. Kim CJ, Romero R, Chaemsathong P, Kim JS. Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Oct; 213 (4 Suppl): S53-69.

144. 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.* 2015; 213 (40): 29-52.

145. Kim SM, Romero R, Lee J, Mi Lee S, Park CW, Shin Park J, Yoon BH. The frequency and clinical significance of intra-amniotic inflammation in women with preterm uterine contractility but without cervical change: do the diagnostic criteria for preterm labor need to be changed. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012 Aug; 25 (8): 1212-1221.

146. Kim SM, Romero R, Lee J, Chaemsathong P, Lee MW, Chaiyasit N, Lee HJ, Yoon BH. About one-half of early spontaneous preterm deliveries can be identified by a rapid matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) bedside test at the time of mid-trimester genetic amniocentesis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2016; 29 (15): 2414-2422.

147. Kladenský J. Urinary tract infections in pregnancy: when to treat, how to treat, and what to treat with. *Ceska Gynekol.* 2012 Apr; 77 (2): 167-171.
148. Koga K, Mor G. Toll-Like Receptors at the Maternal-Fetal Interface in Normal Pregnancy and Pregnancy Disorders. *Am J Reprod Immunol.* 2010 Jun; 63 (6): 587-600.
149. Kones R. Molecular sources of residual cardiovascular risk, clinical signals, and innovative solutions: relationship with subclinical disease, undertreatment, and poor adherence: implications of new evidence upon optimizing cardiovascular patient outcomes. *Vasc Health Risk Manag.* 2013; 9: 617-670.
150. Kozuki N, Katz J, Lee AC, Vogel JP, Silveira MF, Sania A, Stevens GA, Cousens S, Caulfield LE, Christian P, Huybregts L, Roberfroid D, Schmiegelow C, Adair LS, Barros FC, Cowan M, Fawzi W, Kolsteren P, Merialdi M, Mongkolchat A, Saville N, Victora CG, Bhutta ZA, Blencowe H, Ezzati M, Lawn JE, Black RE. Child Health Epidemiology Reference Group Small-for-Gestational-Age/Preterm Birth Working Group. Short Maternal Stature Increases Risk of Small-for-Gestational-Age and Preterm Births in Low- and Middle-Income Countries: Individual Participant Data Meta-Analysis and Population Attributable Fraction. *J Nutr.* 2015 Nov; 145 (11): 2542-2550.
151. Lamont RF. Advances in the prevention of infection-related preterm birth. *Front. Immunol.* 2015; 6: 566.
152. Langmia IM, Apalasyam YD, Omar SZ, Mohamed Z. Impact of IL1B gene polymorphisms and interleukin 1B levels on susceptibility to spontaneous preterm birth. *Pharmacogenet Genomics.* 2016 Nov; 26 (11): 505-509.
153. Lee AC, Blencowe H, Lawn JE. Small babies, big numbers: global estimates of preterm birth. *Lancet Glob Health.* 2019; 7 (1): e2-e3.
154. Lee AC, Quaiyum MA, Mullany LC, Mitra DK, Labrique A, Ahmed P, Uddin J, Rafiqullah I, DasGupta S, Mahmud A, Koumans EH, Christian P, Saha S, Baqui AH. Screening and treatment of maternal genitourinary tract infections in early pregnancy to prevent preterm birth in rural Sylhet, Bangladesh: a cluster randomized trial. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2015 Dec 7; 15: 326.

155. Lee KA, Chang MH, Park MH, Park H, Ha EH, Park EA, Kim YJ. A model for prediction of spontaneous preterm birth in asymptomatic women. *J. Womens Health (Larchmt)*. 2011; 20 (12): 1825-1831.
156. Lee SE, Kim SC, Kim KH, Yoon MS, Eo WK, Kim A, Kim YO. Detection of angiogenic factors in midtrimester amniotic fluid and the prediction of preterm birth. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2016 Aug; 55 (4): 539-544.
157. Lee SM, Romero R, Park JW, Kim SM, Park CW, Korzeniewski SJ, Chaiworapongsa T, Yoon BH. The clinical significance of a positive Amnisure test in women with preterm labor and intact membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012 Sep; 25 (9): 1690-1698.
158. Leitich H, Bodner-Adler B, Brunbauer M, Kaider A, Egarter C, Husslein P. Bacterial vaginosis as a risk factor for preterm delivery: a meta-analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol*. 2003; 189 (1): 139-147.
159. Leitich H, Kaider A. Fetal fibronectin – How useful is it in the prediction of preterm birth // *BJOG*. 2003 Apr; 110 Suppl 20: 66-70.
160. Lepargneur J, Abbal M. Innate and adaptative immunity of the female genital tract. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2012 Nov; 41 (7): 612-622.
161. Kindinger LM, Bennett PR, Lee YS, Marchesi JR, Smith A, Cacciatore S, Holmes E, Nicholson JK, Teoh TG, MacIntyre DA. The interaction between vaginal microbiota, cervical length, and vaginal progesterone treatment for preterm birth risk microbiome. *Microbiome*. 2017 Jan 19; 5 (1): 6.
162. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart L.E. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: A meta-analysis. *Clin. Infect. Dis*. 2015; 61 (3): 418-426.
163. Liu L, Oza S, Hogan D, Chu Y, Perin J, Zhu J, Lawn JE, Cousens S, Mathers C, Black RE. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet*. 2016; 388 (10063): 3027-3035.

164. Low N, Redmond S, Uusküla A, van Bergen J, Ward H, Andersen B, Götz H. Screening for genital chlamydia infection. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2016; (9): CD010866.
165. Lucovnik M, Kuon RJ, Chambliss LR, Maner WL, Shi SQ, Shi L, Balducci J, Garfield RE. Use of uterine electromyography to diagnose term and preterm labor. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011 Feb; 90 (2): 150-157.
166. Melamed N, Pittini A, Hirsch L, Yogev Y, Korzeniewski SS, Romero R, Barrett J. Serial cervical length determination in twin pregnancies reveals 4 distinct patterns with prognostic significance for preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Oct; 215 (4): 476. e1- 476. e11.
167. Meng Y, Groth SW. Fathers count: the impact of paternal risk factors on birth outcomes. *Matern. Child Health J.* 2018; 22 (3): 401-408.
168. Menon R, Boldogh I, Hawkins HK, Woodson M, Poletini J, Syed TA, Fortunato SJ, Saade GR, Papaconstantinou J, Taylor RN. Histological evidence of oxidative stress and premature senescence in preterm premature rupture of the human fetal membranes recapitulated in vitro. *Am J Pathol.* 2014 Jun; 184 (6): 1740-1751.
169. Menon R. Oxidative stress damage as a detrimental factor in preterm birth pathology. *Front Immunol.* 2014 Nov 12; 5: 567.
170. Menon R. Preterm birth: a global burden on maternal and child health. *Pathog. Glob. Health.* 2012; 106 (3): 139-140.
171. Menon R, Williams SM, Fortunato SJ. Amniotic Fluid Interleukin-1 $\beta$  and Interleukin-8 Concentrations: Racial Disparity in Preterm Birth. *Reprod Sci.* 2007 Apr; 14 (3): 253-259.
172. Moore TA, Ahmad IM, Zimmerman MC. Oxidative Stress and Preterm Birth: An Integrative Review. *Biol Res Nurs.* 2018 Oct; 20 (5): 497-512.
173. Morgan T.K. Role of the Placenta in Preterm Birth: A Review. *Am J Perinatol.* 2016; 33 (3): 258-266.
174. Müller-Rischart AK, Pilsl A, Beaudette P, Patra M, Hadian K, Funke M, Peis R, Deinlein A, Schweimer C, Kuhn PH, Lichtenthaler SF, Motori E, Hrelia

S, Wurst W, Trümbach D, Langer T, Krappmann D, Dittmar G, Tatzelt J, Winklhofer KF. The E3 ligase parkin maintains mitochondrial integrity by increasing linear ubiquitination of NEMO. *Mol Cell*. 2013 Mar 7; 49 (5): 908-921.

175. Muñoz-Pérez VM, Ortiz MI, Cariño-Cortés R, Fernández-Martínez E, Rocha-Zavaleta L, Bautista-Ávila M. Preterm Birth, Inflammation and Infection: New Alternative Strategies for their Prevention. *Curr Pharm Biotechnol*. 2019; 20 (5): 354-365.

176. Murtha AP, Edwards JM. The role of Mycoplasma and Ureaplasma in adverse pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2014 Dec; 41 (4): 615-627.

177. Myntti T, Rahkonen L, Pätäri-Sampo A, Tikkanen M, Sorsa T, Juhila J, Helve O, Andersson S, Paavonen J, Stefanovic V. Comparison of amniotic fluid matrix metalloproteinase-8 and cathelicidin in the diagnosis of intra-amniotic infection. *J Perinatol*. 2016 Dec; 36 (12): 1049-1054.

178. Nadeau-Vallée M, Obari D, Palacios J, Brien MÈ, Duval C, Chemtob S, Girard S. Sterile inflammation and pregnancy complications: a review. *Reproduction*. 2016 Dec; 152 (6): R277-R292.

179. Neamțu S, Găman G, Stanca L, Buzatu I, Dijmărescu L, Manolea M. The contribution of laboratory investigations in diagnosis of congenital infections. *Rom J Morphol Embryol*. 2011; 52 (1 Suppl): 481-484.

180. Ni HM, Williams JA, Ding WX. Mitochondrial dynamics and mitochondrial quality control. *Redox Biol*. 2015; 4: 6-13.

181. Nijman TA, van Vliet EO, Benders MJ, Mol BW, Franx A, Nikkels PG, Oudijk MA. Placental histology in spontaneous and indicated preterm birth: A case control study. *Placenta*. 2016; 48: 56-62.

182. Oh KJ, Romero R, Park JY, Lee J, Conde-Agudelo A, Hong JS, Yoon BH. Evidence that antibiotic administration is effective in the treatment of a subset of patients with intra-amniotic infection/inflammation presenting with cervical insufficiency. *Am J Obstet Gynecol*. 2019 Aug; 221 (2):140. e1-140. e18.

183. Palikaras K, Daskalaki I, Markaki M, Tavernarakis N. Mitophagy and age-related pathologies: Development of new therapeutics by targeting mitochondrial turnover. *Pharmacol Ther.* 2017 Oct; 178: 157-174.
184. Park CW, Park JS, Norwitz ER, Moon KC, Jun JK, Yoon BH. Timing of Histologic Progression from Chorio-Deciduitis to Chorio-Deciduo-Amnionitis in the Setting of Preterm Labor and Preterm Premature Rupture of Membranes with Sterile Amniotic Fluid. *PLoS One.* 2015; 10 (11): e0143023.
185. Pawelczyk E, Nowicki BJ, Izban MG, Pratap S, Sashti NA, Sanderson M, Nowicki S. Spontaneous preterm labor is associated with an increase in the proinflammatory signal transducer TLR4 receptor on maternal blood monocytes. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2010 Oct 21; 10: 66.
186. Petrou S. Health economic aspects of late preterm and early term birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2019 Feb; 24 (1): 18-26.
187. Plazyo O, Romero R, Unkel R, Balancio A, Mial TN, Xu Y, Dong Z, Hassan SS, Gomez-Lopez N. HMGB1 Induces an Inflammatory Response in the Chorioamniotic Membranes That Is Partially Mediated by the Inflammasome. *Biol Reprod.* 2016 Dec; 95 (6): 130.
188. Polettini J, Dutta EH, Behnia F, Saade GR, Torloni MR, Menon R. Aging of intrauterine tissues in spontaneous preterm birth and preterm premature rupture of the membranes: A systematic review of the literature. *Placenta.* 2015 Sep; 36 (9): 969-973.
189. Prince AL, Chu DM, Seferovic MD, Antony KM, Ma J, Aagaard KM. The Perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Mar 16; 5 (6): a023051.
190. Quezada MS, Francisco C, Dumitrascu-Biris D, Nicolaides KH, Poon LC. Fetal fraction of cell-free DNA in maternal plasma in the prediction of spontaneous preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan; 45 (1): 101-105.
191. Racicot K, Kwon JY, Aldo P, Abrahams V, El-Guindy A, Romero R, Mor G. Type I Interferon Regulates the Placental Inflammatory Response to



Bacteria and is Targeted by Virus: Mechanism of Polymicrobial Infection-Induced Preterm Birth. *Am J Reprod Immunol.* 2016 Apr; 75 (4): 451-460.

192. Radwan NE, Nour SA, Hamed GA. Risk factors and pregnancy outcome of preterm labor. *IOSR J. Nurs. Health Sci.* 2015; 4 (6): 83-94.

193. Roberts CL, Algert CS, Richard KL, Morris JM. Treatment of vaginal candidiasis for prevention of preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Syst. Rev.* 2015; 4: 31.

194. Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Docheva N, Dong Z, Kim CJ, Kim YM, Kim JS, 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): 1-62. e12685.

195. Romero R, Chaemsaitong P, Chaiyasit N, Docheva N, Dong Z, Kim CJ, Kim YM, Kim JS, Qureshi F, Jacques SM, Yoon BH, Chaiworapongsa T, Yeo L, Hassan SS, Erez O, Korzeniewski SJ. Clinical chorioamnionitis at term V: umbilical cord plasma cytokine profile in the context of a systemic maternal inflammatory response. *J Perinat Med.* 2016 Jan; 44 (1): 53-76.

196. Romero R, Chaiworapongsa T, Alpay Savasan Z, Xu Y, Hussein Y, Dong Z, Kusanovic JP, Kim CJ, Hassan SS. Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in preterm labor with intact membranes and preterm PROM: a study of the alarmin HMGB1. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2011 Dec; 24 (12): 1444-1455.

197. Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science.* 2014; 345 (6198): 760-765.

198. Romero R, Hassan SS, Gajer P, Tarca AL, Fadrosh DW, Bieda J, Chaemsaitong P, Miranda J, Chaiworapongsa T, Ravel J. The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term. *Microbiome.* 2014 May 27; 2: 18.

199. Romero R, Kadar N, Miranda J, Korzeniewski SJ, Schwartz AG, Chaemsaitong P, Rogers W, Soto E, Gotsch F, Yeo L, Hassan SS, Chaiworapongsa T. The diagnostic performance of the Mass Restricted (MR) score in the

identification of microbial invasion of the amniotic cavity or intra-amniotic inflammation is not superior to amniotic fluid interleukin-6. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014 May; 27 (8): 757-769.

200. Romero R, Miranda J, Chaemsaihong P, Chaiworapongsa T, Kusanovic JP, Dong Z, Ahmed AI, Shaman M, Lannaman K, Yoon BH, Hassan SS, Kim CJ, Korzeniewski SJ, Yeo L, Kim YM. Sterile and microbial-associated intra-amniotic inflammation in preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015 Aug; 28 (12): 1394-1409.

201. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Korzeniewski SJ, Chaemsaihong 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 Nov; 72 (5): 458-474.

202. Romero R, Miranda J, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong 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 Fetal Neonatal Med.* 2015 Jul; 28 (11): 1343-1359.

203. Romero R, Nicolaides KH, Conde-Agudelo A, O'Brien JM, Cetingoz E, Da Fonseca E, Creasy GW, Hassan SS. Vaginal progesterone decreases preterm birth  $\leq 34$  weeks of gestation in women with a singleton pregnancy and a short cervix: an updated meta-analysis including data from the OPPTIMUM study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Sep; 48 (3): 308-317.

204. Romero R, Nicolaides K, Conde-Agudelo A, Tabor A, O'Brien JM, Cetingoz E, Da Fonseca E, Creasy GW, Klein K, Rode L, Soma-Pillay P, Fusey S, Cam C, Alfirevic Z, Hassan SS. Vaginal progesterone in women with an asymptomatic sonographic short cervix in the midtrimester decreases preterm delivery and neonatal morbidity: a systematic review and metaanalysis of individual patient data. *Am J Obstet Gynecol.* 2012 Feb; 206 (2): 124. e1-19.

205. Romero R, Erez O, Espinoza J. Intrauterine Infection, Preterm Labor, and Cytokines. *J Soc Gynecol Investig*. 2005 Oct; 12 (7): 463-465.
206. Rours GI, Duijts L, Moll HA, Arends LR, de Groot R, Jaddoe VW, Hofman A, Steegers EA, Mackenbach JP, Ott A, Willemse HF, van der Zwaan EA, Verkooijen RP, Verbrugh HA. Chlamydia trachomatis infection during pregnancy associated with preterm delivery: a population-based prospective cohort study. *Eur J Epidemiol*. 2011 Jun; 26 (6): 493-502
207. Rumyantseva TA, Bellen G, Savochkina YA, Guschin AE, Donders GG. Diagnosis of aerobic vaginitis by quantitative real-time PCR. *Arch Gynecol Obstet*. 2016 Jul; 294 (1): 109-14.
208. Rzepka R, Dołęgowska B, Rajewska A, Sałata D, Budkowska M, Kwiatkowski S, Torbé A. Diagnostic Potential of Evaluation of SDF-1 $\alpha$  and sRAGE Levels in Threatened Premature Labor. *Biomed Res Int*. 2016; 2016: 2719460.
209. Shapiro GD, Bushnik T, Sheppard AJ, Kramer MS, Kaufman JS, Yang S. Paternal education and adverse birth outcomes in Canada. *J Epidemiol Community Health*. 2017 Jan; 71 (1): 67-72.
210. Shennan AH. Prediction and prevention of preterm birth: a quagmire of evidence. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 May; 51 (5): 569-570.
211. Shynlova O, Lee YH, Srihajan K, Lye SJ. Physiologic uterine inflammation and labor onset: integration of endocrine and mechanical signals. *Reprod Sci*. 2013 Feb; 20 (2): 154-167.
212. Strauss JF 3rd, Romero R, Gomez-Lopez N, Haymond-Thornburg H, Modi BP, Teves ME, Pearson LN, York TP, Schenkein HA. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Mar; 218 (3): 294-314. e2
213. Sung JH, Choi SJ, Oh SY, Roh CR, Kim JH. Revisiting the diagnostic criteria of clinical chorioamnionitis in preterm birth. *BJOG*. 2017 Apr; 124 (5): 775-783.
214. Taniguchi R, Koyano S, Suzutani T, Goishi K, Ito Y, Morioka I, Oka A, Nakamura H, Yamada H, Igarashi T, Inoue N. Polymorphisms in TLR-2 are

associated with congenital cytomegalovirus (CMV) infection but not with congenital CMV disease. *Int J Infect Dis.* 2013 Dec; 17 (12): e1092-1097.

215. Tarca AL, Fitzgerald W, Chaemsaitong P, Xu Z, Hassan SS, Grivel JC, Gomez-Lopez N, Panaitescu B, Pacora P, Maymon E, Erez O, Margolis L, Romero R. The cytokine network in women with an asymptomatic short cervix and the risk of preterm delivery. *Am J Reprod Immunol.* 2017; 78 (3): 1-56. e12686.

216. Taylor D, Kenyon S, Tarnow-Mordi W. Infection and preterm birth. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997 Dec; 104 (12): 1338-1340.

217. Taylor-Robinson D. Mollicutes in vaginal microbiology: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* and *Mycoplasma genitalium*. *Res. Microbiol.* 2017 168 (9-10): 875-881.

218. Tita AT, Andrews WW. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis. *Clin Perinatol.* 2010; 37 (2): 339-354.

219. Toijonen AE, Heinonen ST, Gissler MVM, Macharey G. A comparison of risk factors for breech presentation in preterm and term labor: a nationwide, population-based case-control study. *Arch Gynecol Obstet.* 2020 Feb; 301 (2): 393-403.

220. Tyagi V, Mustafa MD, Sharma T, Banerjee BD, Ahmed RS, Tripathi AK, Guleria K. Association of organochlorine pesticides with the mRNA expression of tumour necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) & cyclooxygenase-2 (COX-2) genes in idiopathic preterm birth. *Indian J Med Res.* 2016 Jun; 143 (6): 731-738.

221. Watson HA, Carter J, Seed PT, Tribe RM, Shennan AH. The QUIPP App: a safe alternative to a treat-all strategy for threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Sep; 50 (3): 342-346.

222. Urquhart C, Currell R, Harlow F, Callow L. Home uterine monitoring for detecting preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Feb 15; 2 (2): CD006172.

223. Vahanian SA, Vintzileos AM. Placental implantation abnormalities: a modern approach. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2016; 28 (6): 477-484.

224. Vidovics M, Jacobs VR, Fischer T, Maier B. Comparison of fetal outcome in premature vaginal or cesarean breech delivery at 24-37 gestational weeks. *Arch Gynecol Obstet*. 2014 Aug; 290 (2): 271-281.
225. Vishnyakova PA, Volodina M A, Tarasova NV. Mitochondrial role in adaptive response to stress conditions in preeclampsia. *Sci Rep*. 2016 Aug 30; 6: 32410.
226. Vogel JP, Lee AC, Souza JP. Maternal morbidity and preterm birth in 22 low-and middle-income countries: a secondary analysis of the WHO Global Survey dataset. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014 Jan 31; 14: 56.
227. Vora NL, Smeester L, Boggess K, Fry RC. Investigating the Role of Fetal Gene Expression in Preterm Birth. *Reprod Sci*. 2017 Jun; 24 (6): 824-828.
228. Waldenström U, Cnattingius S, Vixner L, Norman M. Advanced maternal age increases the risk of very preterm birth, irrespective of parity: a population-based register study. *BJOG*. 2017 Jul; 124 (8): 1235-1244.
229. Wang F, Wang Y, Wang R, Qiu H, Chen L. Predictive value of maternal serum NF- $\kappa$ B p65 and sTREM-1 for subclinical chorioamnionitis in premature rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Sep; 76 (3): 217-223.
230. Watson HA, Carter J, Seed PT, Tribe RM, Shennan AH. The QUIPP App: a safe alternative to a treat-all strategy for threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Sep; 50 (3): 342-346.
231. Weichert A, Schöning D von, Fischer T, Thomas A. Cervical Sonoelastography and Cervical Length Measurement but not Cervicovaginal Interleukin-6 Are Predictors for Preterm Birth. *Ultrasound Int Open* 2016 Sep; 2 (3): E83-89.
232. Wen J, Xun P, Chen C. Non-occupational physical activity during pregnancy and the risk of preterm birth: a meta-analysis of observational and interventional studies. *Sci Rep*. 2017 Mar 22; 7: 44842.
233. WHO recommendations on interventions to improve preterm birth outcomes. Guideline WQ 330. November 2015.

234. Wiegman CH, Michaeloudes C, Haji G. Oxidative stress-induced mitochondrial dysfunction drives inflammation and airway smooth muscle remodeling in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Sep; 136 (3): 769-780.
235. Wu F, Tian J, Lin Y. Oxidative Stress in Placenta: Health and Diseases. *Biomed Res Int*. 2015; 2015: 293271.
236. Wu W, Clark EA, Stoddard GJ, Watkins WS, Esplin MS, Manuck TA, Xing J, Varner MW, Jorde LB. Effect of interleukin-6 polymorphism on risk of preterm birth within population strata: a meta-analysis. *BMC Genet*. 2013 Apr 25; 14: 30.
237. Zhou X, Zhuang Z, Wang W, He L, Wu H, Cao Y, Pan F, Zhao J, Hu Z, Sekhar C, Guo Z. OGG1 is essential in oxidative stress induced DNA demethylation. *Cell Signal* 2016 Sep; 28 (9): 1163-1171.
238. Zhong X, Jiang YZ, Liu P, He W, Xiong Z, Chang W, Zhu J, Cui Q. Toll-like 4 receptor/NF $\kappa$ B inflammatory/miR-146a pathway contributes to the ART-correlated preterm birth outcome. *Oncotarget*. 2016 Nov 8; 7 (45): 72475-72485.