

На правах рукописи

МАНТРОВА

Диана Алексеевна

**СИНДРОМ ЗАДЕРЖКИ РОСТА ПЛОДА: КЛИНИКО-
ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ПАРАЛЛЕЛИ**

14.01.01 – акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2020

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

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат биологических наук

Кан Наталья Енкиновна
Зиганшина Марина Михайловна

Официальные оппоненты:

Мурашко Андрей Владимирович – доктор медицинских наук, доцент, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра акушерства и гинекологии №1 лечебного факультета, профессор

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

Ведущая организация: ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии»

Защита состоится «16» июня 2020 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина д. 4.

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

Автореферат разослан « »

2020 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В последние годы все бóльшее значение отводится синдрому задержки роста плода, который занимает одно из ведущих мест в формировании патологических состояний в перинатальном периоде, а также оказывает отрицательное влияние на последующее развитие ребенка. По данным различных авторов задержка роста плода (ЗРП) встречается у 5,7-17,6% беременных, причем ее частота у недоношенных детей выше, составляя 15,7-22,4% [Савельева Г.М. и соавт., 2009; Долгушина Н.В. и соавт., 2018; Dall'Asta A. et al., 2017; Sabra S. et al., 2017].

По сроку формирования принято выделять раннюю и позднюю ЗРП. Ранняя форма, по мнению большинства исследователей, обусловлена неполноценной инвазией трофобласта в миометральный сегмент спиральных артерий, ведущей к нарушению микроциркуляции, и как следствие, развитию ишемически-гипоксических процессов в плаценте [Игнатко И.В. и соавт., 2014, Серов В.Н., 2017; Hutter S., et al., 2016; Kingdom J.C. et al., 2018]. К основным патогенетическим механизмам поздней формы задержки роста плода относятся эндотелиальная дисфункция, оксидативный стресс, иммунологические нарушения и др. [Шмаков Р.Г. и соавт., 2018; Кан Н.Е. и соавт., 2019; Joó J.G. et al., 2017; Giabicani E. et al., 2018].

Общеизвестно, что антенатальная диагностика ЗРП проводится при помощи функциональных методов. Однако, в последнее время большое количество работ посвящено поиску неинвазивных критериев, направленных на улучшение диагностики данного осложнения [Стрижаков А.Н. и соавт., 2014; Тютюнник В.Л. и соавт., 2017; Ходжаева З.С. и соавт., 2018; Nardozza L.M.M. et al., 2017; Brien M.E. et al., 2019]. Вместе с тем, не предложено ни одного теста, обладающего достаточной чувствительностью и специфичностью. Поскольку гипоксические изменения могут служить триггерными механизмами, запускающими иммунологические нарушения, то актуальной проблемой является поиск иммунологических маркеров для

предикции и диагностики ЗРП [Серов В.Н. и соавт., 2019; Marini M. et al., 2011].

С этих позиций перспективным представляется изучение состава гликанов (углеводов) в структурах плаценты. В проведенных ранее исследованиях был установлен эффект влияния стрессорных факторов на углеводный профиль плаценты при различных патологических состояниях [Куликова Г.В. и соавт., 2017; Tatsuzuki A. et al., 2009; Marini M. et al., 2011; Sukhikh G.T. et al., 2016; Silva-Filho A.F. et al., 2017]. Изучение особенностей гликозилированных углеводных структур в плаценте при задержке роста плода позволит описать новые молекулярные механизмы формирования данной патологии.

Особый интерес также представляет определение спектра аутоантител к гликанам, который является пулом иммуноглобулинов различных биологических жидкостей организма, взаимодействующих с углеводными молекулами. Антигликановые антитела, включающие как естественные полиреактивные регуляторные аутоантитела, так и патогенетически значимые адаптивные антитела, используются в настоящее время для диагностики онкологических, нейродегенеративных и др. заболеваний [Бовин Н.В., 2013; Gaudet A.D., Popovich P.G., 2014; Sterner E. et al., 2016; Hofmeyr R. et al., 2017]. Поскольку антитела к гликанам при беременности могут выполнять функции как ингибиторов межклеточных контактов, так и регуляторов активности клеток иммунной системы в лектин-углеводных взаимодействиях, то идентификация значимых для задержки роста плода антигликановых антител имеет важное теоретическое и практическое значение [Garsen M., et al., 2014; Ziganshina M.M., et al., 2018].

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время роль антигликановых антител исследована при преэклампсии и гипертензивных расстройствах. Получены данные об их патогенетическом значении при указанных осложнениях и предложены диагностические сигнатуры [Зиганшина М.М. и соавт., 2016; Сухих Г.Т. и

соавт., 2016; Blank M. et al., 2012; New J.S. et al., 2016]. Однако, при задержке роста плода изучение антигликановых антител ранее не проводились, что свидетельствует об актуальности данного исследования для фундаментальной и практической медицины.

Учитывая, что исследования углеводного профиля плаценты проводится после родоразрешения, особый интерес представляет поиск предикторов ЗРП во время беременности по спектру антител в крови для малоинвазивной диагностики и прогноза.

Таким образом, актуальным является изучение углеводного профиля в структурах плаценты в сочетании с антигликановыми антителами, которые, как известно, играют важную роль, как в обеспечении иммунологической толерантности, так и в запуске ряда патологических процессов. Это позволит не только уточнить механизмы формирования задержки роста плода, но и предложить новые неинвазивные предикторы данного осложнения беременности.

Цель исследования

Оптимизировать диагностику синдрома задержки роста плода на основании анализа иммунологических и гистохимических маркеров и охарактеризовать его клинко-патогенетические особенности.

Задачи исследования

1. Выделить клинко-anamнестические особенности пациенток с задержкой роста плода.
2. Изучить особенности течения беременности, родов, состояние новорожденного при задержке роста плода.
3. Определить содержание и спектр антигликановых антител у пациенток с задержкой роста плода.
4. Выявить особенности содержания гликанов в структурных элементах плаценты при задержке роста плода.
5. Разработать алгоритм прогнозирования и диагностики синдрома задержки роста плода.

Научная новизна

На основании анализа клинико-анамнестической характеристики выделены факторы риска формирования задержки роста плода, в том числе ее различных форм.

Установлены патогенетические изменения состава гликанов, ассоциированных с апикальной мембраной синцитиотрофобласта и эндотелия терминальных ворсин плаценты при ранней и поздней форме задержки роста плода.

Выявлены особенности состава гликокаликса в структурных элементах плаценты при ранней и поздней задержке роста плода.

Впервые представлена характеристика антигликановых антител при задержке роста плода, определено их содержание и выделен диагностический спектр антител в крови, рассчитана их диагностическая ценность при ранней и поздней форме задержки роста плода.

Теоретическая и практическая значимость работы

Выделены и обоснованы в качестве факторов риска формирования задержки роста плода: хронический бронхит, артериальная гипертензия, хронический пиелонефрит, а также отягощенный акушерский (антенатальная гибель плода и неразвивающаяся беременность) и гинекологический (миома матки и бесплодие) анамнез. Применение модели прогнозирования позволяет выделить низкую, умеренную и высокую степень риска формирования задержки роста плода.

Предложены диагностические сигнатуры антигликановых антител при задержке роста плода, позволяющие верифицировать ее различные формы. При ранней форме выявлена сигнатура, состоящая из двух антител с чувствительностью 71% и специфичностью 86%. При поздней форме установлена сигнатура из шести антител с показателями чувствительности 67% и специфичности 86%.

Целесообразно использование в клинической практике гликочипа для раннего прогнозирования задержки роста плода, основанные на изменении содержания антигликановых антител в крови матери.

Положения, выносимые на защиту

1. Наиболее значимыми факторами риска развития задержки роста плода являются: хронический бронхит, артериальная гипертензия, хронический пиелонефрит, отягощенный акушерский (антенатальная гибель плода и неразвивающаяся беременность) и гинекологический (миома матки и бесплодие) анамнез. Разработанная модель, включающая клиничко-анамнестические показатели, позволяет прогнозировать формирование задержки роста плода с чувствительностью 72,6% и специфичностью 56,4%.

2. Задержка роста плода характеризуется измененным углеводным фенотипом плаценты. При ранней форме наиболее выраженные количественные изменения состава концевых фрагментов цепей гликанов выявлены в апикальной мембране фетального эндотелия. Для поздней формы характерны изменения внутренних фрагментов углеводных цепей гликанов в апикальной мембране синцитиотрофобласта и эндотелии терминальных ворсин плаценты. Вышеизложенное свидетельствует о разном механизме развития плацентарных нарушений при ранней и поздней формах задержки роста плода.

3. Установлены профили антигликановых антител, ассоциированные с задержкой роста плода. При поздней форме выявляется более широкий спектр антигликановых антител, чем при ранней, что указывает на молекулярные детерминанты развития заболевания и позволяет идентифицировать диагностические сигнатуры антигликановых антител.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, постановке цели и задач, разработке дизайна, клиническом обследовании и лечении пациенток, в сборе биологического материала.

Диссертантом проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка и 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 и 4 паспорта «акушерство и гинекология».

Апробация работы

Основные положения работы представлены на: XXI Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь: от менархе до менопаузы» (Москва, 2015), Всероссийском конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика» (Москва, 2016), VIII^{ом} и IX^{ом} региональных научных форумах «Мать и дитя» (Сочи, 2015, 2016), 24th European Congress of Obstetrics and Gynaecology (Torino, Italy, 2016), X^{ом} Юбилейном региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Геленджик, 2017), XVI^{ом}, XVII^{ом} и XVIII^{ом} Российских форумах «Мать и дитя» (Москва, 2015, 2016, 2017), XII^{ом} международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2018), Всероссийской конференции «Клиническая иммунология и аллергология – практическому здравоохранению» (Москва, 2018).

Обсуждение диссертации состоялось на межклинической конференции сотрудников (22 июня 2018 года) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (16 сентября 2019 года, протокол № 10).

Внедрение результатов исследования

Разработанный принцип ведения пациенток по предложенному алгоритму для снижения акушерских и перинатальных осложнений у пациенток с задержкой роста плода внедрен в практику акушерских отделений

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, из них 7 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 147 страницах. Работа состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 33 рисунками. Библиографический указатель включает 181 работу цитируемых авторов, из них 31 – на русском и 150 – на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В период с 2015 по 2017 гг. было проведено одномоментное поперечное исследование, в которое были включены 274 пары мать-новорожденный, родоразрешенных в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Из них группу I (основную) составили 99 пациенток с ЗРП, группу II (сравнения) – 175 беременных без ЗРП. Кроме того, каждая группа была разделена на 2 подгруппы. Подгруппу IA составили 21 пара мать-новорожденный с ранней ЗРП, IB – 78 пар мать-новорожденный с поздней ЗРП, IIA – 15 пар мать-новорожденный без ЗРП до 34 недель беременности и IIB – 160 пар мать-новорожденный без ЗРП после 34 недель беременности.

Критериями включения в исследование для основной группы являлись: беременные со сроком беременности от 22 до 40 недель; возраст от 18 до 45 лет; одноплодная беременность; задержка роста плода. Для группы сравнения – отсутствие задержки роста плода.

Критериями исключения для обеих групп исследования являлись: тяжелая экстрагенитальная патология; многоплодная беременность; пороки развития плода; аутоиммунные, онкологические заболевания беременной;

пациентки после трансплантации внутренних органов; прием лекарственных средств, влияющих на выработку аутоиммунных антител.

Всем пациенткам, включенным в исследование, для реализации задач, поставленных в работе, 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)». Беременные были ознакомлены с целью и методами исследования, дали письменное информированное согласие. Проведено изучение клинико-анамнестических данных, особенностей течения беременности, родоразрешения и раннего неонатального периода. Применены специальные методы исследования, включающие лектиновую гистохимию для изучения паттернов экспрессии углеводных остатков в составе гликанов, а также микрочиповый метод для определения спектра антигликановых антител. Все результаты вносились в специально разработанную для данного исследования тематическую карту и в электронные таблицы с последующим анализом при помощи современных статистических методов.

Результаты исследования и их обсуждение

Все беременные, включенные в исследование, были сопоставимы по возрасту и соматическому здоровью. У пациенток группы I проведение сравнительного анализа исходной клинической характеристики, показало превалирование миопии различной степени – 39,7% (OR=2,2; CI=1,2-4,8), артериальной гипертензии – 25,8% (OR=1,2; CI=2,5-7,2), варикозной болезни – 18,9% (OR=1,2; CI=1,1-2,8), хронического бронхита – 13,8% (OR=5,4; CI=1,1-26,7), хронического пиелонефрита – 5,2% (OR=3,8; CI=1,4-37,2) и тонзиллита – 5,2% (OR=0,9; CI=0,2-4,2). Среди гинекологических заболеваний в группе I было отмечено увеличение частоты миомы матки – 10,3% (OR=8,0; CI=1,1-68,2) и бесплодия – 3,4% (OR=2,5; CI=0,2-25,9). Также была выявлена более высокая частота дисфункции яичников – 3,4% (OR=0,8; CI=0,1-4,9).

При анализе репродуктивной функции установлено, что антенатальная гибель плода встречалась только в основной группе и составила 6,9%, также чаще встречались неразвивающиеся беременность 13,8% (OR=1,2; CI=1,4-3,5) и самопроизвольный выкидыш 8,6% (OR=1,9; CI=1,3-2,8).

В течение настоящей беременности у пациенток с задержкой роста плода в I триместре достоверно чаще отмечались угроза прерывания беременности 39,7% (OR=1,3; CI=1,7-2,8), анемия беременных 3,4% (OR=2,5; CI=1,2-27,9) и острые респираторные заболевания 12,1% случаев (OR=4,7; CI=1,9-23,4). Во II триместре в основной группе было выявлено значимое повышение частоты угрозы прерывания беременности 25,9% (OR=3,1; CI=1,2-8,3), с формированием истмико-цервикальной недостаточности – (6,9 %) (OR=5,1; CI=1,6-7,1). В III триместре беременности выявлялась достоверно более высокая частота угрозы преждевременных родов – 20,7% (OR=3,4; CI=1,2-10,3), плацентарной недостаточности – 20,7% (OR=18; CI=2,7-14,2). Следует отметить, что диагноз задержки роста плода был установлен антенатально только в 29,3%. Частота преэклампсии и гестационной артериальной гипертензии составила 6,9% и 3,4% соответственно, маловодия по данным УЗИ – 1,7% в основной группе.

При анализе течения родового акта установлено, что частота оперативного родоразрешения пациенток основной группы была выше, чем в группе сравнения и составила 58,6% (OR=1,9; CI=0,9-3,8) с преобладанием экстренного родоразрешения.

Особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода. В основной группе в структуре заболеваемости новорожденных достоверно чаще отмечались врожденная пневмония – 13,8% (OR=5,4; CI=1,1-26,7) и гипербилирубинемия – 15,5% (OR=12,7; CI=1,6-10,3). Также в основной группе преобладали респираторный дистресс-синдром – 12,1% (OR=9,5; CI=1,1-12,4), асфиксия легкой степени – 13,8% (OR=1,7; CI=1,6-8,2), асфиксия средней степени – 10,3% (OR=7,8; CI=0,9-8,2), ДВС-синдром – 6,9% (OR=5,1; CI=0,6-47,1), внутрижелудочковые кровоизлияния 1 степени – 6,9%

(OR=5,1; CI=1,6-47,1), транзиторное тахипное – 5,2% (OR=3,8; CI=0,4-37,2), гемолитическая болезнь – 1,7% (OR=0,6; CI=0,1-6,8).

Проведенный анализ клинико-анамнестических данных позволил выявить факторы риска. Для определения их значимости был применен метод бинарной логистической регрессии и установлена вероятность развития задержки роста плода по формуле:

$$P=1/(1+e^{-z})$$

$$z = -1,016 + 2,154*X1 + 2,254*X2 + 21,781*X3 + 2,022*X4 + 1,376*X5 + 0,63*X6;$$

где e – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

X1 – миома матки; **X2** – хронический бронхит; **X3** – артериальная гипертензия; **X4** – хронический пиелонефрит; **X5** – бесплодие; **X6** – число неразвивающихся беременностей в анамнезе.

Данная модель имеет чувствительность 72% и специфичность 56%.

Принимая во внимание недостаточную предиктивную модель и необходимость поиска высокоспецифичных маркеров для диагностики задержки роста плода, а также имеющиеся данные, указывающие на изменение гликома плаценты при ряде патологических состояний, был изучен углеводный профиль плаценты и проведено определение антигликановых антител.

Углеводный профиль плаценты был изучен с использованием лектиновой гистохимии и панели (MAL-II, SNA, ECL, UEA-I, Con A) с известной углеводной специфичностью. Дополнительно проведена обработка ткани плаценты ферментом нейраминидазой (для удаления концевых остатков сиаловой кислоты), что позволяет исследовать изменение внутренних структур гликанов.

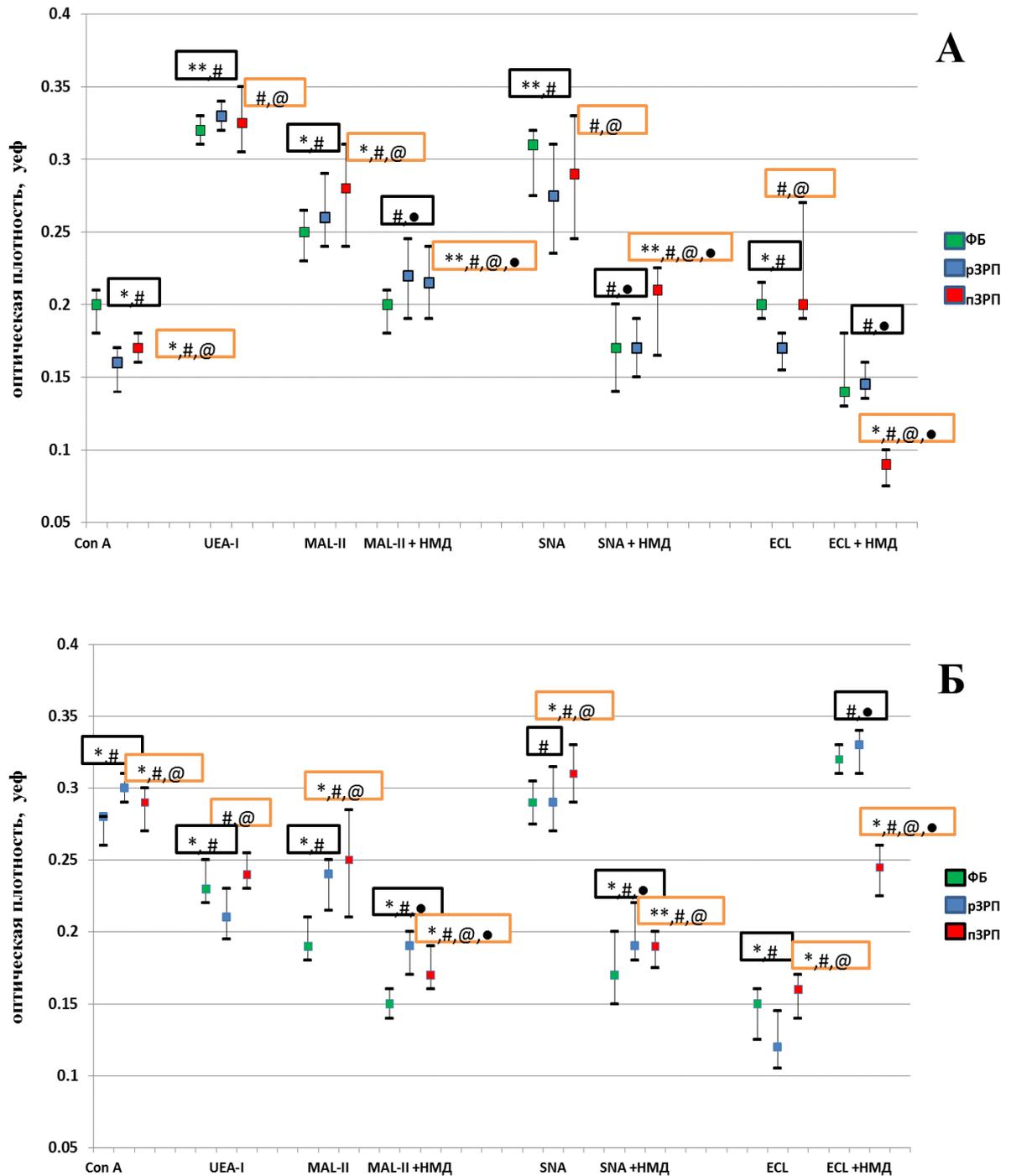


Рисунок 1. Интенсивность окрашивания гликоконъюгатов с помощью различных лектинов в апикальной мембране эндотелия сосудов (А) и синцитиотрофобласта (Б) ворсин плаценты при физиологической беременности и задержке роста плода.

* < 0,01; ** < 0,05; # – сравнение с физиологической беременностью (ФБ); @ – сравнение с группой ранняя ЗРП (рЗРП); • – сравнение со значением оптической плотности до обработки ткани нейраминидазой

При межгрупповом сравнении интенсивности окрашивания лектинами гликоконъюгатов в эндотелии терминальных ворсин плаценты, обнаружены выраженные изменения концевых фрагментов цепей гликанов при ранней

форме задержки роста плода (рисунок 1). Отмечается снижение остатков $\alpha 2,6$ -связанной терминальной сиаловой кислоты (окрашивание лектином SNA), концевых лактозаминовых фрагментов (ECL) и маннозобогатых гликанов (Con A), а также повышение содержания фукозилированных гликанов (UEA-I) и остатков $\alpha 2,3$ -связанной терминальной сиаловой кислоты (MAL-II).

При поздней форме задержки роста плода отличительной особенностью являются количественные изменения внутренних структур гликанов которые демаскируются после обработки ткани нейраминидазой в апикальной мембране эндотелия терминальных ворсин плаценты (рисунок 1 А). По-видимому, данный эффект обуславливается изменениями биосинтеза олигосахаридных цепей гликанов вследствие влияния этиологических факторов, специфичных для поздней задержки роста плода.

Значимые изменения гликанов синцитиотрофобласта выявлены при обеих формах задержки роста плода (рисунок 1 Б). Установлен схожий для обеих форм патологии характер количественных изменений гликанов: значительно изменены как концевые, так и внутренние их структуры. Также наблюдаются изменения, специфичные для ранней или поздней задержки роста плода. Вышеизложенное свидетельствует о нарушении биосинтеза и/или повреждении гликокаликса синцитиотрофобласта вследствие патологических процессов в плаценте.

Основываясь на выявленных изменениях углеводного профиля плаценты, на следующем этапе исследования были изучены антигликановые антитела в периферической крови матери с помощью метода микрочипа, содержащего 689 углеводных лигандов.

При межгрупповом сравнении антигликановых антител в подгруппах IA и IIА установлены значимые различия по индексу активности связывания (ИАС) антител IgM класса к бактериальному полисахариду структуры [-3GlcNAc β 1-4GlcA3Ac β 1-2(Rha3Ac α 1-3)Man α 1-4Gal β 1-]_n. (рисунок 2 А).

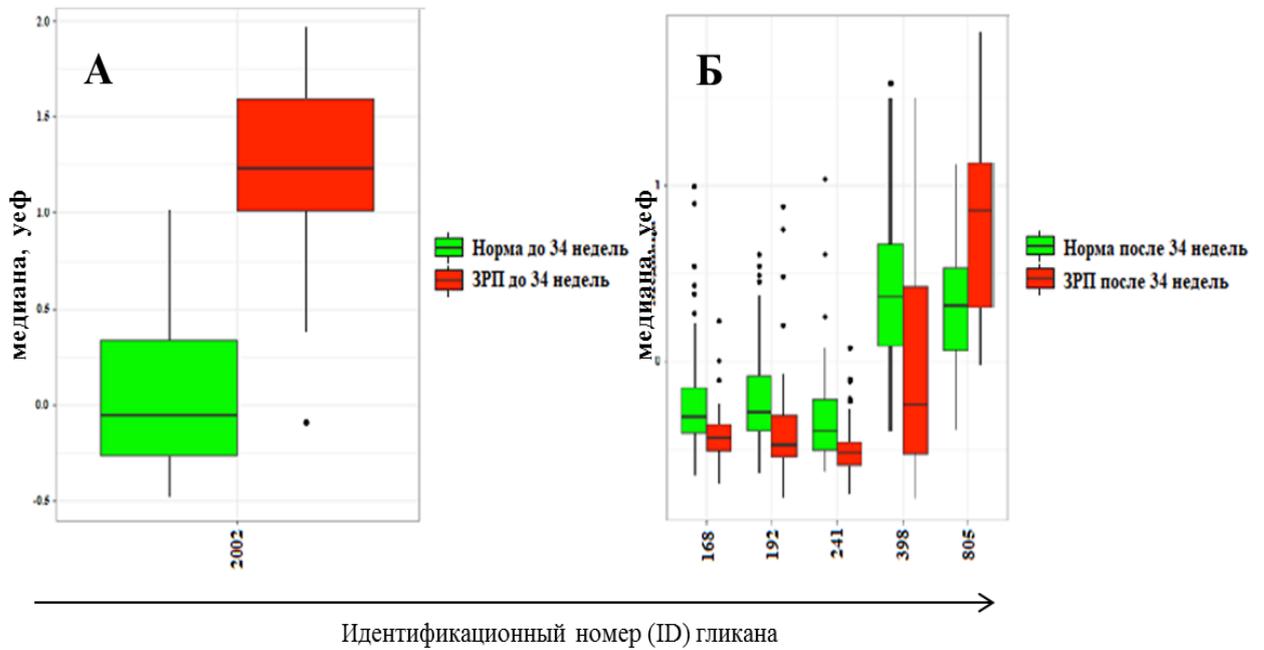


Рисунок 2. Характеристика антигликановых антител (IgM) у пациенток с физиологической беременностью (зеленые бокс-плоты) и задержкой роста плода (красные бокс-плоты) на сроках до 34 недель (А) и после 34 недель (Б), ($p < 0,00017$), где ID (идентификационный номер) гликана 2002 – *Sh. Boydii* type 12; ID гликана 805 - 6'Bn-LacdiNAc; ID гликана 168 – GMDPLys; ID гликана 241 - (Ga6)3 β ; ID гликана 398 - LeC(Fm)3'LeC; ID гликана 192 - LacdiNAc6Su.

Снижение ИАС антигликановых антител при ЗРП на сроках после 34 недель выявлено к ряду гликанов, среди которых фрагмент пептидогликана клеточной стенки бактерий – глюкозаминилмурамилдипептид (№168), производное дисахарида LeC (Gal β 1-3GlcNAc β) (№398) и гликану изомальтотриозе (№241). Обращает на себя внимание, что ИАС антител специфичных к гликану №192 снижен, а ИАС антител к гликану №805, напротив, повышен у пациенток с ЗРП. Оба гликана являются производными ди-N-ацетиллактозамина: №805 – бензильным производным, №192 – сульфатированным производным (рисунок 2 Б).

Анализ межгрупповых различий у женщин с задержкой роста плода и у пациенток с беременностью, осложненной гипертензивными расстройствами, но без ЗРП показал, что спектр антител, по которым выявлены различия практически совпадает с выявленными при сравнении пациенток с ЗРП и физиологически протекающей беременностью на аналогичных сроках, за исключением антител к гликанам 164 и 404 (производным глюкоуроновой

кислоты и группоспецифического гликана Льюис X, соответственно) (рисунок 2Б). Полученные данные подтверждает значимость гликанов с ID 168, 192, 241 и 805 как маркеров развития задержки роста плода на поздних сроках беременности.

Представленные данные свидетельствуют, что межгрупповые различия между женщинами с ЗРП и пациентками с физиологической беременностью, выявлены только по антигликановым антителам класса М. Как известно, основной пул этих антител относится к низкорезактивным естественным антителам, которые присутствуют в организме без явной антигенной стимуляции и выполняют функции физиологического клиренса, иммунного надзора за трансформированными клетками, а также выступают в качестве иммунорегуляторных молекул, поддерживающих гомеостаз в организме [Бовин Н.В., 2013, Зиганшина М.М и соавт., 2017; New J.S. et al, 2017]. Анализ мишеней антител свидетельствует, что фрагменты бактериальных антигенов, в частности, фрагмент бактериального О-полисахарида, антитела к которому повышены у пациенток с ранней задержкой роста плода, а также глюкозаминилмурамилдипептид, содержание антител к которому снижено у пациенток с ЗРП на поздних сроках, по-видимому, являются составной частью молекулярных паттернов, которые могут иметь как эндогенное, так и экзогенное происхождение. Возможным объяснением этого факта являются выявленные нами данные о том, что заболевания дыхательной и мочевыделительной систем являются фактором риска развития задержки роста плода и не исключена возможность антигенной стимуляции патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, что отражается в возрастании содержания антител или истощении их пула вследствие опсонизации микробов.

В состав молекулярных паттернов, представляющих собой «образы опасности» могут входить также гликаны, которые по химическому составу и структуре близки к гликанам, производимым нормальной клеткой. При патологических состояниях, в частности, гипоксически-ишемических

повреждениях ткани плаценты, нарушающих гомеостаз тканей, происходит биосинтез абберантных гликанов или модифицируются ранее синтезированные молекулы и образуются неоантигены. Поскольку ЗРП характеризуется недостаточностью процессов метаболизма и газообмена в плаценте, потенциал для возникновения неоантигенов очень велик и сниженный уровень антигликановых антител к ряду модифицированных гликанов является признаком декомпенсированных процессов клиренса поврежденных молекул. Обнаружение в тканях плаценты при ранней и поздней задержке роста плода измененных гликанов подтверждает патологическое образование неоантигенов.

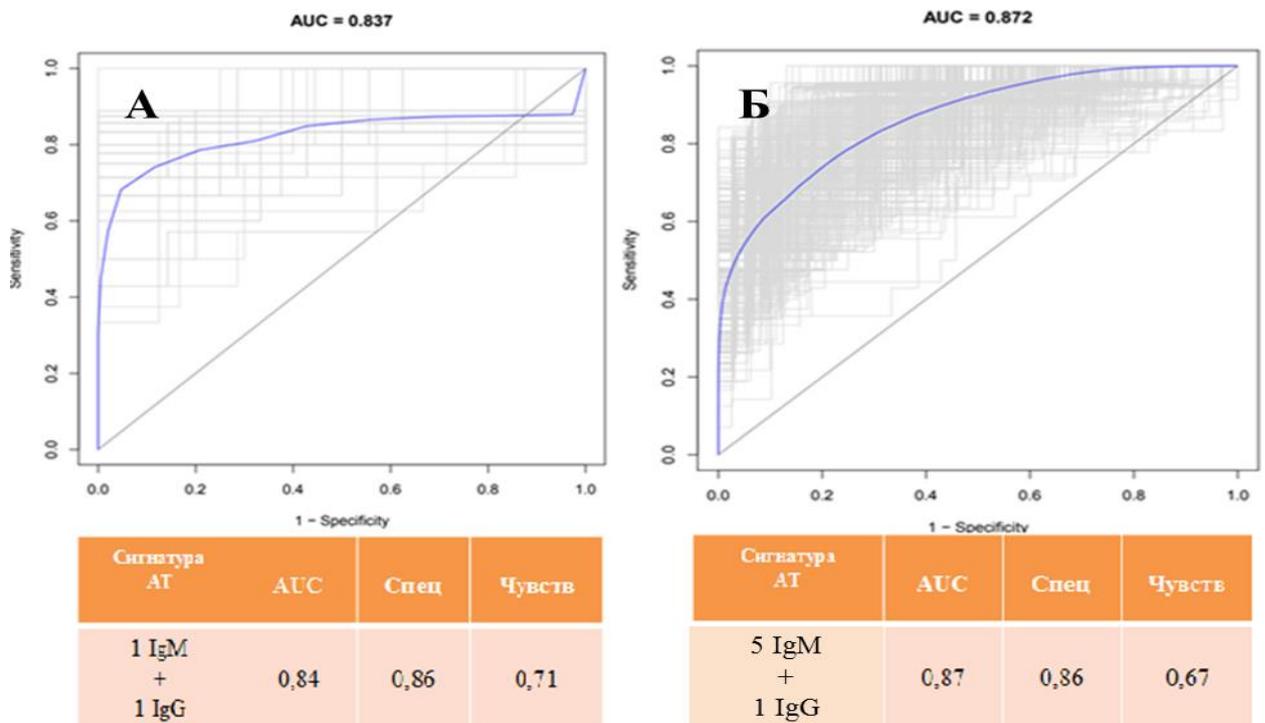


Рисунок 3. ROC-кривые, демонстрирующие диагностическую ценность сигнатур антигликановых антител классов М и G при ранней (А) и поздней задержке роста плода (Б).

Биоинформационный анализ спектра антигликановых антител позволил выделить сигнатуры (сочетания различных антител), имеющих хорошие показатели диагностической ценности при задержке роста плода. На сроке до 34 недель выявлена сигнатура, состоящая из двух антител: (1 IgG и 1 IgM), характеризующаяся чувствительностью 71% и специфичностью 86%. При поздней ЗРП установлена сигнатура из шести антител (5 IgG и 1 IgM) с

показателями чувствительности 67% и специфичности 86%. Был проведен ROC-анализ, который демонстрирует характеристические кривые, отражающие взаимосвязь между чувствительностью и специфичностью метода. График отражает: по оси ординат долю истинно положительных результатов (чувствительность), по оси абсцисс – долю ложноположительных результатов (специфичность) (рисунок 3).

Таким образом, проведенное исследование подтвердило значимость клинико-анамнестических данных в развитии задержки роста плода, являющихся неблагоприятным фоном для формирования данного осложнения, что позволило предложить модель определения группы риска для динамического наблюдения. С учетом выявленных факторов была рассчитана формула прогноза развития ранней и поздней форм задержки роста плода. Комплексный анализ клинических, иммунологических и гистохимических показателей позволил уточнить механизмы формирования различных форм задержки роста плода. Кроме того, установлен различный характер изменений углеводного фенотипа плаценты и спектра антигликановых антител при ранней и поздней задержке роста плода. Разработанные диагностические сигнатуры целесообразно применять для диагностики и, в дальнейшем, прогнозирования данной патологии. Применение разработанного алгоритма диагностики и прогнозирования задержки роста плода (рисунок 4), включающего оценку риска ее развития на основании клинико-анамнестических данных и определение антигликановых антител в крови, позволяет снизить акушерские осложнения и улучшает перинатальные исходы.

ВЫВОДЫ

1. К факторам риска развития задержки роста плода следует относить: артериальную гипертензию – 25,8% (OR=1,2; CI=2,5-7,2), хронический бронхит – 13,8% (OR=5,4; CI=1,1-26,7), хронический пиелонефрит – 5,2% (OR=3,8; CI=1,4-37,2), миому матки – 10,3% (OR=8,0; CI=1,1-68,2), бесплодие – 3,4% (OR=2,5; CI=0,2-25,9), а также наличие в

анамнезе неразвивающейся беременности – 13,8% (OR=1,2; CI=1,4-3,5) и антенатальной гибели плода – 6,9%.

2. Разработанная модель прогнозирования задержки роста плода, включающая клиничко-анамнестические факторы, позволяет определить вероятность ее формирования с чувствительностью 72,6% и специфичностью 56,4%.

3. Течение беременности при задержке роста плода достоверно чаще сопровождалось угрозой прерывания в I триместре – 39,7% (OR=1,3; CI=1,7-2,8), во II триместре – 25,9% (OR=3,1; CI=1,2-8,3) с формированием истмико-цервикальной недостаточности (6,9%) (OR=5,1; CI=1,6-7,1), в III триместре угрозой преждевременных родов – 20,7% (OR=3,4; CI=1,2-10,3) и плацентарной недостаточностью – 20,7% (OR=18; CI=2,7-14,2). Антенатально диагноз задержки роста плода был установлен только в 29,3%.

4. Задержка роста плода ассоциирована с высокой частотой осложнений в раннем неонатальном периоде: врожденной пневмонией – 13,8% (OR=5,4; CI=1,1-26,7), гипербилирубинемией – 15,5% (OR=12,7; CI=1,6-10,3), респираторным дистресс-синдромом – 12,1% (OR=9,5; CI=1,1-12,4), асфиксией легкой степени – 13,8% (OR=1,7; CI=1,6-8,2), асфиксией средней степени – 10,3% (OR=7,8; CI=0,9-8,2), ДВС-синдромом – 6,9% (OR=5,1; CI=0,6-47,1), внутрижелудочковыми кровоизлияниями – 6,9% (OR=5,1; CI=1,6-47,1).

5. При ранней форме задержки роста плода установлены значимые изменения состава концевых фрагментов цепей гликанов, которые ассоциированы с апикальной мембраной эндотелиальных клеток капилляров терминальных ворсин плаценты, проявляющиеся дисбалансом в экспрессии остатков сиаловых кислот, остатков маннозы, фукозы и N-ацетиллактозамина. При поздней форме задержки роста плода выявлены изменения внутренних фрагментов углеводных цепей, ассоциированных с апикальной мембраной синцитиотрофобласта и фетального эндотелия.

6. Развитие задержки роста плода на ранних сроках беременности характеризуется значимо повышенным индексом активности связывания антител с бактериальным полисахаридом структуры $[-3\text{GlcNAc}\beta 1-4\text{GlcA}3\text{Ac}\beta 1-2(\text{Rha}3\text{Ac}\alpha 1-3)\text{Man}\alpha 1-4\text{Gal}\beta 1-]_n$. При манифестации задержки роста плода на поздних сроках установлен широкий спектр антигликановых антител класса М: выявляется повышенный индекс активности связывания антител к бензил-ди-N-ацетиллактозамину и сниженный – к сульфатированному дисахариду LeC и ди-N-ацетиллактозамину, а также к глюкозаминилмурамилдипептиду.

7. Установлена высокая диагностическая ценность для сигнатур, включающих сочетание антигликановых антител классов М и G для задержки роста плода. При ранней форме выявлена сигнатура, состоящая из двух антител: (1 IgG и 1 IgM), характеризующаяся чувствительностью 71% и специфичностью 86%. При поздней – установлена сигнатура из шести антител (5 IgG и 1 IgM) с показателями чувствительности 67% и специфичности 86%.

8. Алгоритм диагностики и прогнозирования задержки роста плода, включающий оценку риска ее развития на основании клиничко-анамнестических данных и определение антигликановых антител в крови, позволяет снизить акушерские осложнения и улучшить перинатальные исходы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При выявлении клиничко-анамнестических факторов: отягощенный акушерский анамнез (антенатальная гибель плода и неразвивающаяся беременность), миома матки, бесплодие, артериальная гипертензия, пиелонефрит и хронический бронхит следует отнести беременных в группу риска по развитию задержки роста плода.

2. Целесообразно определять вероятность развития задержки роста плода на основании формулы: $P=1/(1+e^{-z})$

$z= -1,016 + 2,154*X1 + 2,254*X2 + 21,781*X3 + 2,022*X4 + 1,376*X5 + 0,63*X6;$

где e – основание натурального логарифма и имеет значение 2,71828182845904;

X1 – миома матки, **X2** – хронический бронхит, **X3** – артериальная гипертензия, **X4** – хронический пиелонефрит, **X5** – бесплодие, **X6** – число неразвивающихся беременностей в анамнезе.

3. Для прогнозирования и диагностики задержки роста плода следует использовать диагностическую сигнатуру, представленную антигликановыми антителами класса IgG и IgM. Для ранней формы – сигнатуру, состоящую из двух антител: (1 IgG и 1 IgM), а для поздней – из шести антител (5 IgG и 1 IgM).

4. Ведение беременных группы риска по развитию задержки роста плода целесообразно согласно разработанному алгоритму диагностики и прогнозирования.



Рисунок 4. Алгоритм диагностики и прогнозирования задержки роста плода.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Репертуары антигликановых антител при физиологической и осложненной беременности / Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Ракитько А.С., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Тютюнник Н.В., **Мантрова Д.А.**, Бовин Н.В., Сухих Г.Т. // **Российский аллергологический журнал.** – 2017. – № 1. – С. 49-51.
2. Поиск биомаркеров больших акушерских синдромов на основе использования высокопроизводительного микрочипа / Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Ракитько А.С., Тютюнник Н.В., **Мантрова Д.А.**, Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. // **Мать и дитя: материалы XVIII^{ого} Всероссийского научно-образовательного форума: Москва, 27-29 сентября, 2017.** – С. 24-25.
3. Спектр и диагностическое значение антигликановых антител, выявляемых при развитии больших акушерских синдромов, связанных с дефектами плацентации / Зиганшина М.М., Шилова Н.В., Хасбиуллина Н.Р., Ракитько А.С., Тютюнник Н.В., **Мантрова Д.А.**, Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Бовин Н.В., Сухих Г.Т. // **Клиническая иммунология и аллергология – практическому здравоохранению: материалы Всероссийской конференции: Москва, 27-28 февраля, 2018 г.** // **Российский аллергологический журнал.** – 2018. – Т. 15, № 1 (часть 2). – С. 37-39.
4. Молекулярно-генетические предикторы врожденной инфекции при задержке роста плода / Ломова Н.А., Ганичкина М.Б., Хачатурян А.А., **Мантрова Д.А.**, Кан Н.Е., Донников А.Е., Тютюнник В.Л. // **Медицинский совет.** – 2016. – № 17. – С. 156-159.
5. Ведение беременности при задержке роста плода / Ганичкина М.Б., **Мантрова Д.А.**, Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Хачатурян А.А., Зиганшина М.М. // **Акушерство и гинекология.** – 2017. – № 10. – С. 5-11.

6. Роль полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в формировании задержки роста плода / Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., **Мантрова Д.А.**, Ломова Н.А., Климанцев И.В., Донников А.Е. // **Акушерство и гинекология.** – 2018. – № 12. – С. 23-28.

7. Профилактика задержки роста плода при беременности / Ломова Н.А., Хачатрян З.В., **Мантрова Д.А.**, Хачатурян А.А., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. // **Медицинский совет.** – 2018. - № 13. – С. 86-89.

8. Роль Е-кадгерина в формировании задержки роста плода / Красный А.М., Хачатурян А.А., Кан Н.Е., Хачатрян З.В., Тютюнник В.Л., Волгина Н.Е., Ганичкина М.Б., **Мантрова Д.А.**, Садекова А.А. // **Акушерство и гинекология.** – 2018. – № 6. – С. 38-43.

9. Роль трансформирующего фактора роста бета в формировании задержки роста плода / Хачатрян З.В., Кан Н.Е., Вторушина В.В., Кречетова Л.В., Харченко Д.К., **Мантрова Д.А.**, Тютюнник В.Л. // **Акушерство и гинекология.** – 2019. – № 11. – С. 107-112.