

На правах рукописи

Пирогова

Мария Михайловна

**«Роль неинвазивных методов диагностики в оптимизации акушерской
тактики при вращении и предлежании плаценты»**

Специальность: 14.01.01-Акушерство и гинекология

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

Москва, 2021

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

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
кандидат биологических наук

Шмаков Р.Г.
Тимофеева А.В.

Официальные оппоненты:

Петрухин Василий Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии», директор.

Давыдов Александр Ильгизирович – доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России, профессор кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «20» апреля 2021г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России по адресу 117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Pirogova%20M.M.-dissertation_2021.pdf

Автореферат разослан «__» _____ 202_ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Калинина Елена Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Патологическое прикрепление плаценты, или врастание плаценты, – это собирательный термин, включающий в себя прикрепление плаценты к мышечному слою (*placenta accreta*), врастание плаценты в мышечный слой (*placenta increta*) и прорастание плаценты через серозную оболочку матки в соседние органы, наиболее часто в мочевой пузырь (*placenta perceta*) [Silver R.M., 2015].

Врастание плаценты осложняет примерно 5% беременностей с предлежанием плаценты в то время, как результаты крупных эпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что важнейшим фактором риска возникновения не только предлежания плаценты, но и врастания, является рубец на матке после предшествующего кесарева сечения [S.T.Bauer et al. 2009]. По данным мета-анализа Bremen De Mucio et al. (2019), наличие рубца на матке после одной операции кесарева сечения повышает риск врастания плаценты в 3,02 раза, вторая операция в анамнезе повышает риск ещё в 1,28 раза, третья – ещё в 1,96 раза, а четвертая – ещё в 1,82. Таким образом, женщина с 4 операциями кесарева сечения в анамнезе имеет почти в 14 раз более высокий риск данного осложнения (217:10000 или 1:46).

В последнее время значительно возрос интерес исследователей к изучению молекулярно-биологических основ патогенеза врастания плаценты. Возникновение данной патологии связывают с формированием проангиогенного фенотипа плаценты, повышенной пролиферацией вневорсинчатых клеток трофобласта, чрезмерной экспрессией матриксных металлопротеиназ в плаценте (MMP2, MMP9), увеличенной экспрессией PARP-A в синцитиотрофобласте и аномально агрессивным эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП) клеток трофобласта [Tseng, J.J., 2004, 2006, Goh, W, 2013, Soyama, H., 2020, Desai, N., 2014, Laursen, L.S., 2007, Giudice, L.C., 2002, Jordan, N.V., 2011]. Главными регуляторами

перечисленных выше процессов являются малые некодирующие РНК, в том числе микроРНК, контролирующих уровень экспрессии генов как на транскрипционном, так и на посттранскрипционном уровнях [Denis, H., 2011]. МикроРНК регулируют активность сигнальных путей, задействованных в патогенезе вращающейся плаценты, что определяет возможность их использования в качестве маркеров ранней диагностики и прогноза заболевания, а секреция тканеспецифичных микроРНК в биологические жидкости организма, в частности в плазму крови, позволяет проводить оценку их уровня в рамках неинвазивных тестов при различных патологических процессах [Khan, S., 2019, Lee, H.J., 2014]. Ключевой молекулой, регулирующей эпителиально-мезенхимальный переход, является кластерин. Кластерин вовлечен в различные физиологические клеточные процессы, и его функция определяется структурой самой молекулы. Существуют две изоформы кластерина, синтезируемые в клетке в результате альтернативного сплайсинга – секреторная и ядерная. Ядерная форма кластерина выполняет проапоптотические функции, в то время как секреторная форма кластерина отвечает за выживание клетки и ее пролиферацию. Доказана специфичность экспрессии кластерина для клеток синцитиотрофобласта и эндотелия ворсин хориона [Shannan B., 2015, Pucci S., 2004, Shin J.-K., 2008].

Одним из наиболее грозных исходов вращающейся плаценты является интраоперационное и послеродовое кровотечение. Его профилактика – ключевой момент снижения материнской заболеваемости и смертности, связанной с вращением плаценты. Одним из способов, продемонстрировавших эффективность такой профилактики, является использование внутриматочной баллонной тампонады [Pala S. et al. 2018].

Говоря об исходах беременности при вращении плаценты стоит упомянуть и неонатальные исходы. Установлено, что дети у матерей с данным осложнением беременности чаще были недоношенными, чаще поступали в неонатальные отделения интенсивной терапии, и им чаще требовалось

проведение реанимационных мероприятий, по сравнению с предлежанием плаценты [Farquhar C.M. et al., 2017].

В связи с вышеизложенным вращание плаценты является актуальной медицинской проблемой, представляющей угрозу для жизни и здоровья как матери, в связи с массивной кровопотерей, так и для новорожденного в связи с недоношенностью.

Степень разработанности темы исследования

Цель исследования:

выявить роль инструментальных методов исследования и молекулярно-биологических маркеров в прогнозировании степени выраженности патологического прикрепления плаценты для определения оптимальных сроков родоразрешения.

Задачи исследования:

1. Выявить факторы риска развития вращающейся плаценты у женщин с предлежанием плаценты и рубцом на матке.
2. На основании ультразвуковых, магнитно-резонансно томографических и молекулярно-биологических (концентрация секреторных форм Е-кадгерина и кластерина, уровень экспрессии, ассоциированных с ЭМП, микроРНК в плазме крови) данных определить основные признаки степени выраженности патологического прикрепления плаценты.
3. Выявить корреляцию между степенью выраженности патологического прикрепления плаценты, состоянием здоровья новорожденного и осложнениями раннего неонатального периода.
4. Определить эффективность использования различных способов профилактики кровотечения (баллонная тампонада/без использования баллона) в профилактике послеродовых кровотечений при предлежании плаценты.

5. На основании полученных данных разработать алгоритм ведения беременности, выбора оптимальных сроков родоразрешения при патологическом прикреплении плаценты.

Научная новизна:

Проведена оценка факторов риска врастания плаценты у пациенток с предлежанием плаценты и рубцом на матке.

Проанализирована корреляция между данными молекулярно-биологических и инструментальных (УЗИ, МРТ) методов исследования для прогнозирования степени выраженности патологического прикреплении плаценты.

Оценен вклад в диагностику патологического прикреплении плаценты секреторных форм белков Е-кадгерина и кластерина, ассоциированных с ЭМП, и регулирующих их уровень экспрессии микроРНК путем анализа уровня их экспрессии в плазме крови женщин на разных сроках беременности. Показана статистическая значимость данных маркеров в диагностике глубины инвазии трофобласта.

Проведена оценка течения беременности и состояния новорожденных у пациенток с предлежанием плаценты и рубцом на матке в зависимости от наличия врастания плаценты и степени его выраженности.

Практическая значимость

Оптимизирована диагностика глубины врастания плаценты на основании совокупного анализа ультразвукового, магнитно-резонансного методов исследования и определения молекулярных маркеров в плазме беременной женщины.

В результате проведенного исследования разработаны оптимальные сроки родоразрешения при патологическом прикреплении плаценты в зависимости от степени инвазии для снижения риска развития осложнений у новорожденных без ухудшения прогноза для матери.

Проведена оценка эффективности применения управляемой баллонной тампонады послеродовой матки для профилактики послеоперационного кровотечения при предлежании плаценты.

Положения, выносимые на защиту:

1. Основными факторами риска предлежания плаценты с ее вращением в отличие от предлежания плаценты без ее вращения являются: число операций кесарева сечения в анамнезе ($p = 0,049$), число экстренных операций кесарева сечения в анамнезе ($p = 0,049$), а также расположение плаценты по передней стенке матки в области рубца ($p=0,001$) и ее полным предлежанием ($p=0,025$) во время данной беременности. При наличии рубца на матке после одной операции кесарева сечения, риск вращения плаценты возрастает в 1,65 раза, после каждой последующей операции риск увеличивается в 1,90 раза.
2. Функциональные методы исследования (УЗИ и МРТ) обладают высокой чувствительностью при постановке диагноза вращения плаценты (чувствительность 78% и 84% соответственно). Однако изолированное использование отдельных признаков данных методов не позволяет достоверно определять глубину инвазии плаценты. Совокупная чувствительность диагностики placenta accreta составляет для УЗИ (62,5%) и МРТ (61,5%), тогда как чувствительность диагностики placenta increta выше для МРТ (97,4%), чем для УЗИ (87,3%).
3. Дополнительным методом диагностики вращения плаценты, обладающим 88,8-100% чувствительностью и 91,6-100% специфичностью, является определение уровня экспрессии секреторной формы α -субъединицы кластерина или сочетанный количественный анализ микроРНК miR-21-5p, miR-320a и miR-92a-3 в плазме периферической крови беременных на сроке 31-34 недели.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в определении и постановке целей и задач, разработке дизайна, систематизации данных литературы по теме диссертации. Автор лично принимал участие в качестве ассистента хирурга в большинстве операций исследования, осуществлял забор и подготовку биологического материала для применения молекулярно-биологических методов исследования. Диссертантом проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка данных 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 акушерства и гинекологии.

Апробация результатов

Материалы исследования представлены на XI Региональном Научно-Образовательном Форуме «Мать и Дитя» (Ярославль, 2018г.), XX Юбилейном Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя – 2019» (Москва, 2019), Всероссийском научно-образовательный форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2020), COGI, London, 2018, COGI, Paris, 2019.

Обсуждение диссертации состоялось на межклинической конференции сотрудников акушерских отделений (13 августа 2020 года) и заседания апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦАГП им. В.И. Кулакова Минздрава России» (17 августа 2020 года, протокол №26).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в практику акушерских отделений, а также используются при обучении клинических ординаторов и аспирантов ФГБУ

«Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 7 печатных работ, из них – 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах и состоит из введения, шести глав, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 40 таблицами и 9 рисунками. Список литературы включает 138 источников, из них 2 работы отечественных и 136 – зарубежных авторов.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В рамках запланированной работы с сентября 2017 по август 2019 года были обследованы и родоразрешены 150 беременных женщин с предлежанием или вращением плаценты, подписавших добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Пациентки были разделены на следующие клинические группы в зависимости от степени тяжести вращающейся плаценты: основная группа включала 100 пациенток с вращением плаценты, заподозренным по данным общего и функционального обследования (УЗИ, МРТ), подтвержденное визуальной оценкой во время операции, а также проведением гистологического исследования. Группа сравнения - 50 пациенток с предлежанием плаценты и рубцом на матке после операции кесарева сечения без вращающейся плаценты.

Критериями включения в исследование были: возраст пациенток 18-45 лет; одноплодная беременность; предлежание плаценты; вращение плаценты; рубец на матке после операции кесарева сечения или миомэктомии. Критерии

невключения в исследование: аномалии матки; тяжелая соматическая патология матери; многоплодная беременность. Критерии исключения из исследования: преэклампсия; острая фаза или обострение инфекционно-воспалительных заболеваний; отказ пациентки.

У всех пациенток были оценены клиничко-анамнестические данные, проведены полное клиничко-лабораторное и инструментальное обследование, включавшее стандартное ультразвуковое исследование плода и органов полости малого таза, а также МРТ-исследование для обнаружения признаков, соответствующих патологическому прикреплению плаценты и определить его глубину. Для подтверждения диагноза вращание плаценты и уточнения степени ее инвазии проводилось гистологическое исследование материала, полученного в ходе операции (резецированная стенка матки с вросшей плацентой). Дополнительными лабораторными методами исследования диагностики глубины вращания плаценты выступали определение, ассоциированных с эпителиально-мезенхимальным переходом, микроРНК и уровней экспрессии их белков-мишеней, таких как секреторные формы Е-кадгерина и кластерин, в плазме периферической крови женщин, взятой в сроках 31-34 недели беременности, методами количественной ОТ-ПЦР в реальном времени и Вестерн-блоттинга. Оценка состояния новорожденных проводилась путем анализа антропометрических данных, их состояния по шкале Апгар, а также сопутствующих заболеваний и особенностей нахождения и длительности пребывания в стационаре.

Для статистической обработки данных использовали электронные таблицы «Microsoft Excel» и пакет программ «GraphPad Prism 6» (GraphPad Software, USA). Для построения графиков использовали электронные таблицы «Microsoft Excel» и язык статистического программирования «R» в оболочке «RStudio 1.1.463» (USA).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

На первом этапе исследования проведена оценка факторов риска вращающейся плаценты у женщин с предлежанием плаценты и рубцом на матке. В ходе анализа данных было выявлено значительно более высокое среднее число родов путем операции кесарева сечения в группе вращающейся плаценты – 2 (1 – 2), чем в группе предлежания плаценты – 1 (1 – 2), $p = 0,001$. Кроме того, было отмечено, что пациентки из группы вращающейся плаценты более часто имели более одной операции кесарева сечения в анамнезе – 64 (64%), чем пациентки в группе предлежания плаценты – 17 (34%), $p < 0,001$. Важными представляются данные о преобладании среднего числа экстренных операций кесарева сечения у пациенток с вращающейся плаценты – 1 (0 – 1) против 0,5 (0 – 1) в группе сравнения ($p = 0,055$).

Таким образом, в группе вращающейся плаценты было выше среднее число родов, среднее число родов путем операции кесарева сечения, среднее число экстренных операций кесарева сечения. При проведении ROC-анализа для каждого из трёх вышеперечисленных показателей было выявлено, что наибольшей предиктивной способностью в отношении развития вращающейся плаценты обладает именно число операций кесарева сечения в анамнезе (рис. 1). При наличии рубца на матке после операции кесарева сечения, риск вращающейся плаценты возрастает в 1,65 раза (95% ДИ = 0,84 – 3,26), рубца на матке после двух операций кесарева сечения – в 1,90 раза (95% ДИ = 0,96 – 3,74), после трех операций кесарева сечения – в 1,90 раза (95% ДИ = 0,95 – 3,81). При этом, если у пациентки в анамнезе две и более операций кесарева сечения, риск в 1,51 раза (95% ДИ = 1,18 – 1,95) выше, чем при рубце на матке после одного кесарева сечения или одной гинекологической операции.

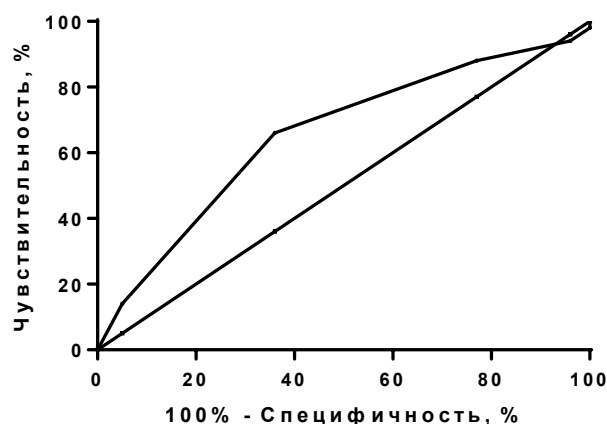


Рисунок 1. ROC-кривая предикции врастания плаценты по числу операций кесарева сечения в анамнезе.

На втором этапе работы для определения основных признаков степени выраженности патологического прикрепления плаценты были проанализированы данные инструментальных методов исследования. По результатам УЗ-исследования пациенток в III триместре беременности полное предлежание плаценты по данным УЗИ было ассоциировано со степенью тяжести врастания – оно было отмечено у 55,0% пациенток подгруппы placenta accreta, у 81,1% пациенток подгруппы placenta increta ($p = 0,006$) и у 4 из 5 пациенток подгруппы placenta percreta. Частичное предлежание плаценты было отмечено у 32,5% пациенток подгруппы placenta accreta, у 15,1% пациенток подгруппы placenta increta ($p = 0,042$) и у 1 из 5 пациенток подгруппы placenta percreta (табл. 1). Значительное количество признаков, выявляемых на УЗИ, было ассоциировано с наличием врастания плаценты, при этом, ни один признак, выявляемый на УЗИ, не был ассоциирован со степенью тяжести врастания.

Таблица 1. Расположение плаценты у пациенток, включенных в исследование

Параметр	Placenta accreta (n = 40)	Placenta increta (n = 55)	Placenta percreta (n = 5)	p-value*
Срок выполнения УЗИ	32,75 (29,1 – 34,5)	33,0 (29,3 – 33,8)	34,4 (32,8 – 35,2)	0,517
Полное предлежание плаценты	22 (55,0%)	45 (81,8%)	4 (80%)	0,005
Частичное предлежание плаценты	13 (32,5%)	8 (14,6%)	1 (20%)	0,034

Низкое прикрепление плаценты	1 (2,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0,421
------------------------------	-------------	-----------	-----------	-------

* placenta accreta vs placenta increta.

В свою очередь оценка данных МРТ-исследования пациенток, также проведенного в III триместре беременности, выявила основные признаки, ассоциированные с наличием вращающейся плаценты: множественные лакуны, выбухание стенки матки и истончение миометрия в зоне предполагаемого вращающейся плаценты, цервико-тригональная. При этом значимые различия в данных при оценке степени выраженности вращающейся плаценты были выявлены в таком признаке, как цервико-тригональная гиперплазия, которая не наблюдалась у пациенток подгруппы placenta accreta, но была визуализирована у 15,4% пациенток подгруппы placenta increta ($p = 0,039$) и одной (из двух) пациентки подгруппы placenta percreta (табл. 2)

Таблица 2. МР-признаки вращающейся плаценты

Параметр	Placenta accreta (n = 26)	Placenta increta (n = 39)	Placenta percreta (n = 2)	p-value*
Срок исследования, недель	32,25 (29,9 – 34,5)	33,2 (30,0 – 34,0)	34,25 (34,0 – 34,5)	0,897
Плацентарная гетерогенность	17 (65,4%)	27 (69,2%)	2 (100%)	0,476
Усиление сосудистого рисунка	10 (38,5%)	15 (38,5%)	1 (50%)	0,601
Ретроплацентарная «тень»	2 (7,7%)	5 (12,8%)	0 (0%)	0,413
Единичные лакуны	7 (26,9%)	11 (28,2%)	1 (50%)	0,571
Множественные лакуны	11 (42,3%)	24 (61,5%)	1 (50%)	0,102
Темные «ленты»	4 (15,4%)	4 (10,3%)	0 (0%)	0,402
Выбухание стенки матки (грыжа)	19 (73,1%)	33 (84,6%)	2 (100%)	0,204
Истончение миометрия	21 (80,8%)	36 (92,3%)	2 (100%)	0,158
Вовлечение смежных органов	7 (26,9%)	9 (23,1%)	1 (50%)	0,473
Цервико-тригональная гиперплазия	0 (0%)	6 (15,4%)	1 (50%)	0,039
Варикозно расширенные вены	16 (61,5%)	31 (79,5%)	1 (50%)	0,097

* placenta accreta vs placenta increta.

В дальнейшем при оценке эффективности инструментальных методов диагностики сравнение чувствительности диагностики placenta accreta для МРТ (61,5%) и УЗИ (62,5%) показало сопоставимый результат, тогда как

чувствительность диагностики placenta increta выше для МРТ (97,4%), чем для УЗИ (87,3%). Диагностика placenta percreta, как правило, не вызывает затруднений, однако относительно небольшое число проанализированных случаев затрудняет анализ полученных результатов.

Поскольку для более точной диагностики глубины врастания плаценты требуется использование дополнительных методов исследования, нами была проведена количественная оценка 12 микроРНК, ассоциированных с эпителиально-мезенхимальным переходом, из которых 8 микроРНК являются общими регуляторными молекулами для E-кадгерина и кластерина (miR-320a, miR-17-5p, miR-21-5p, miR-1323, miR-25-3p, miR-138-5p, miR-34a-5p, miR-92a-3p), 2 микроРНК (miR-30a-5p, miR-30c-5p) специфически связываются с мРНК кластерина, 2 микроРНК (miR-371a-5p, miR-506-3p) регулируют уровень экспрессии E-кадгерина, а также уровней экспрессии их белков-мишеней, таких как растворимые формы E-кадгерина и кластерин, в плазме периферической крови 66 женщин, взятой в III триместре беременности. Статистически значимые отличия уровня экспрессии miR-17-5p, miR-21-5p, miR-25-3p и miR-92a-3p, miR-320a были выявлены при сопоставлении групп беременных с врастанием плаценты (accreta, increta, percreta) либо с группой беременных с рубцом на матке, либо с группой беременных с предлежанием плаценты (табл. 3). Важно отметить, что чем ниже значение ΔC_t (разница значений порогового цикла амплификации), тем выше уровень экспрессии микроРНК. В группах женщин с врастанием плаценты было отмечено статистически значимое снижение значений ΔC_t miR-17-5p, miR-21-5p, miR-25-3p и miR-92a-3p, miR-320a при сопоставлении с группами женщин с рубцом на матке или предлежанием плаценты, что означает повышение уровня экспрессии данных микроРНК в плазме периферической крови беременных с врастанием плаценты.

Таблица 3. Сравнительный анализ изменения уровня экспрессии микроРНК в плазме периферической крови беременных

микроРНК	Рубец на матке	Предлежание плаценты	Placenta accreta	Placenta increta	Placenta percreta
miR-17-5p	10,9 (5,9 – 11,0)	11,0 (8,2 – 11,2)	9,4² (6,7 – 10,9)	10,6² (5,7 – 10,8)	9,7² (5,2 – 9,8)
miR-21-5p	9,5 (7,1 – 11,0)	8,5 (6,6 – 11,0)	5,3^{1,2} (4,6 – 6,8)	5,6^{1,2} (4,6 – 6,9)	0,67^{1,2} (0,4 – 1,0)
miR-25-3p	7,3 (6,0 – 8,5)	8,2 (6,5 – 10,9)	6,1 (5,2 – 7,1)	6,8 (5,0 – 10,8)	1,7^{1,2} (0,9 – 2,1)
miR-320a	3,9 (3,3 – 4,4)	3,9 (3,6 – 4,5)	2,8^{1,2} (2,4 – 3,1)	3,0^{1,2} (2,6 – 3,9)	1,0^{1,2} (0,9 – 1,7)
miR-92a-3p	3,7 (3,3 – 4,0)	3,9 (3,7 – 4,2)	2,9^{1,2} (2,6 – 3,1)	3,5² (2,6 – 3,9)	0^{1,2} (-0,6 – 0,5)

Данные представлены в виде медианы значений Δ Ct (Me) и квартилей Q1 и Q3 в формате Me (Q1-Q3); ¹ – значимые различия, по сравнению с группой пациенток с рубцом на матке (Рубец на матке); ² – значимые различия, по сравнению с группой пациенток с предлежанием плаценты

При оценке методом ранговой корреляции Спирмена взаимосвязи уровня экспрессии микроРНК и тяжести вросания плаценты были обнаружены статистически значимые корреляции, а именно: miR-17-5p ($r = -0,33$, $p = 0,007$), miR-21-5p ($r = -0,68$, $p < 0,001$), miR-25-3p ($r = -0,36$, $p = 0,004$), miR-92a-3p ($r = -0,45$, $p < 0,001$), miR-320a ($r = -0,55$, $p < 0,001$). Выявленная отрицательная корреляция между Δ Ct микроРНК и тяжестью вросания плаценты говорит о положительной корреляции между уровнем экспрессии экспрессии miR-17-5p, miR-21-5p, miR-25-3p и miR-92a-3p, miR-320a в плазме периферической крови беременных и тяжестью вросания плаценты.

С целью анализа уровня экспрессии белковых мишеней miR-17-5p, miR-21-5p, miR-25-3p и miR-92a-3p, miR-320a была проведена количественная оценка содержания секреторных форм белка Е-кадгерина и альфа-субъединицы кластерина в тех же образцах плазмы периферической крови, в которых был проанализирован уровень экспрессии регулирующих их микроРНК. Статистически значимых корреляций уровня экспрессии секреторных форм белка Е-кадгерина (87,4 кДа и 60,6 кДа) с тяжестью вросания плаценты выявлено не было ($r = 0,16$, $p = 0,385$ и $r = -0,17$, $p = 0,336$, соответственно).

При количественной оценке альфа-субъединицы кластерина в плазме периферической крови беременных было выявлено статистически значимое

снижение уровня экспрессии кластерина во всех анализируемых группах женщин с вращением плаценты относительно группы женщин с рубцом на матке или с предлежанием плаценты (табл. 4).

Таблица 4. Сравнительный анализ изменения уровня экспрессии альфа-субъединицы кластерина в плазме периферической крови беременных

	Рубец на матке	Предлежание плаценты	Placenta accreta	Placenta increta	Placenta percreta
α-кластерин	1,1 ± 0,2	1,6 ± 0,7¹	0,7 ± 0,1^{1,2}	0,6 ± 0,1^{1,2}	0,5 ± 0,2^{1,2}

Данные представлены в виде среднего значения уровня экспрессии кластерина (M) и стандартного отклонения (SD) в форме M±SD; ¹ – значимые различия, по сравнению с группой пациенток с рубцом на матке (Рубец на матке); ² – значимые различия, по сравнению с группой пациенток с предлежанием плаценты (Предлежание плаценты).

Методом ранговой корреляции Спирмена были обнаружены статистически значимые положительные корреляции содержания кластерина в плазме периферической крови беременных со значениями ΔCt микроРНК, а именно: miR-21-5p (r = 0,74, p <0,001), miR-25-3p (r = 0,54, p = 0,001), miR-92a-3p (r = 0,69, p <0,001), miR-320a (r = 0,64, p <0,001), miR-17-5p (r = 0,53, p = 0,001), что говорит о наличии отрицательных корреляций между уровнем экспрессии данных микроРНК и концентрации кластерина в плазме периферической крови. Также выявлена отрицательная корреляция между уровнем экспрессии альфа-субъединицы кластерина и тяжестью вращающейся плаценты (r = -0,79, p <0,001).

На основе полученных в работе значений содержания кластерина и экспрессии регулирующих его микроРНК miR-21-5p, miR-92a-3p и miR-320a в плазме периферической крови, статистически значимо коррелирующих со степенью тяжести вращающейся плаценты, были построены модели логистической регрессии расчета вероятности наличия у беременной вращающейся плаценты различной степени тяжести на сроке 31-34 недели (рис. 2, рис. 3), общая формула которой может быть представлена следующим

$$\text{образом: } e = \frac{1}{1 + e^{-i - k_1 * x_1 - k_2 * x_2 - \dots}}$$

где i – свободный член; k_1, k_2, \dots - коэффициент для кластера или микроРНК; x_1, x_2, \dots - относительный уровень экспрессии кластера или ΔCt микроРНК.

Коэффициенты построенных моделей, отражающие вклад уровня экспрессии кластера или микроРНК, а также параметры ROC-кривых представлены в таблице 5.

Таблица 5. Диагностическое значение биомаркеров в определении вероятности наличия вращающейся плаценты у беременной на сроке 31-34 недели и результаты ROC-анализа.

Биомаркер	AUC	Sp	Se	cutoff	i	K
Placenta accreta						
“Кластерин”	1	1	1	0,5	1832,89	-2232,65
“miR-21-5p + miR-92a-3p + miR-320a-3p”	1	1	1	0,5	4526,11	-141,53; -868,31; -244,95
“miR-21-5p + miR-92a-3p”	0,995	1	1	0,262	64,43	-3,32; -13,08
“miR-92a-3p + miR-320a-3p”	0,986	0,958	1	0,275	22,9	-4,02; -3,25
“miR-21-5p + miR-320a-3p”	0,958	1	0,888	0,425	11,39	-0,66; -2,19
Placenta increta						
“Кластерин”	1	1	1	0,5	287,91	-372,61
“miR-21-5p + miR-320a-3p”	0,981	0,958	1	0,263	16,70	-1,25; -2,41
“miR-21-5p + miR-92a-3p + miR-320a-3p”	0,981	0,916	1	0,277	16,96	-1,24; -0,16; -2,34
“miR-21-5p”	0,958	1	0,933	0,73	12,35	-1,89
“miR-21-5p + miR-92a-3p”	0,958	1	0,933	0,545	15,59	-1,68; -1,25
Placenta percreta						
“Кластерин”	0,99	1	1	0,219	31,462	-37,63
“miR-21-5p”	1	1	1	0,5	38,92	-10,18
“miR-92a-3p”	1	1	1	0,5	309,76	-133,37
“miR-320a-3p”	1	1	1	0,5	828,41	-298,44

AUC – площадь под кривой, Sp – специфичность, Se – чувствительность, cutoff – пороговый уровень отсечки, i – свободный член уравнения модели, K – коэффициент уравнения модели.

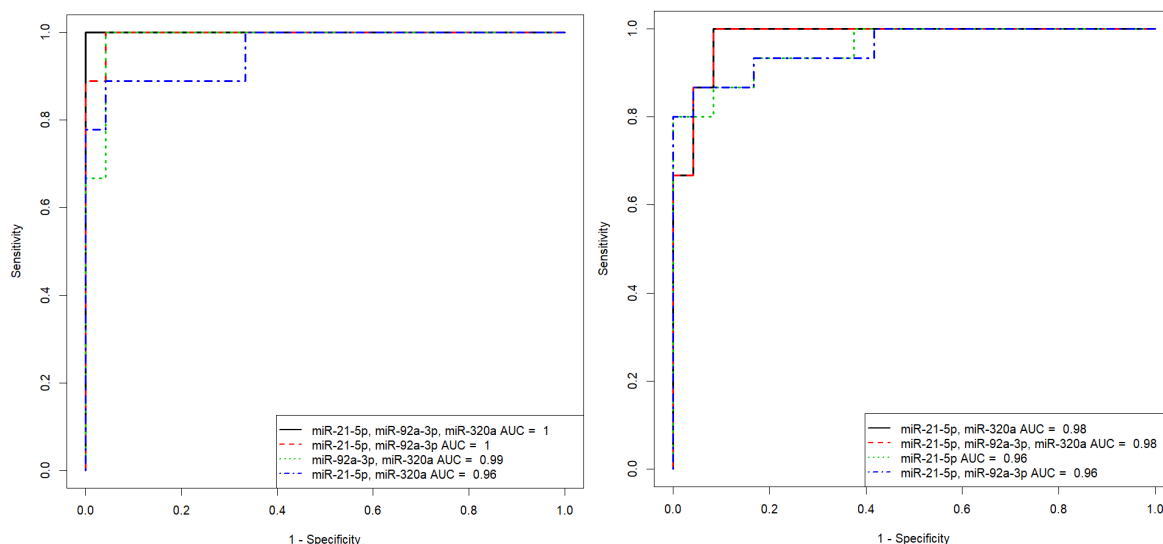


Рисунок 2 (слева). Модель логистической регрессии расчета вероятности наличия у беременной placenta accreta на сроке 31-34 недели по уровню микроРНК в плазме периферической крови.

Рисунок 3 (справа). Модель логистической регрессии расчета вероятности наличия у беременной placenta increta на сроке 31-34 недели по уровню микроРНК в плазме периферической крови.

Согласно построенным моделям логистической регрессии наилучшей диагностической значимостью в расчете вероятности наличия вращающейся плаценты у беременной обладает уровень экспрессии альфа-субъединицы кластерина и регулирующих его микроРНК miR-21-5p, miR-92a-3p и miR-320a в плазме периферической крови, которые при их определении в различных комбинациях с 88.8–100% чувствительностью и 91.6–100% специфичностью диагностируют наличие у беременной вращающейся плаценты различной степени тяжести на сроке 31-34 недели.

В ходе работы была проведена оценка течения беременности у пациенток, вошедших в исследование, значимые различия в частоте возникновения осложнений были выявлены только в 1-м триместре беременности и представляли собой угрозу прерывания беременности, которая значимо чаще наблюдалась у пациенток с вращающейся плацентой – была отмечена у 47,5% пациенток подгруппы placenta accreta, у 40,0%

пациенток подгруппы placenta increta ($p = 0,095$), у 2 из 5 пациенток в подгруппе placenta percreta и у 26,0% пациенток группы сравнения ($p = 0,031$ для сравнения пациенток с вращением плаценты и пациенток группы сравнения).

Не менее значимой задачей является возможность профилактики массивной кровопотери во время оперативного родоразрешения как при вращении плаценты, так и при предлежании, что требует оптимизации хирургической техники. В данной работе все пациентки были родоразрешены путем операции кесарева сечения. Наиболее частой тактикой при операции кесарева сечения у пациенток с вращением плаценты был комплексный компрессионный гемостаз с наложением трёх турникетов. У всех пациенток проводилась оценка объема кровопотери как во время операции, так и в раннем послеоперационном периоде. И было выявлено, что средняя интраоперационная кровопотеря была выше в группе вращающейся плаценты, чем в группе сравнения (только предлежании). Она составила 1050 (800 – 1500) мл у пациенток подгруппы placenta accreta, 1200 (850 – 1700) мл у пациенток подгруппы placenta increta ($p = 0,786$), 1900 (1000 – 3650) мл в подгруппе placenta percreta и 700 (600 – 800) мл у пациенток группы сравнения ($p < 0,001$ для сравнения пациенток с вращением плаценты и пациенток группы сравнения). Кроме того, как при сравнении объема послеоперационного кровотечения, так и общей кровопотери более грозные результаты были получены в отношении пациенток с вращением плаценты, нежели в группе сравнения (табл. 6).

Таблица 6. Объем кровопотери при вращении плаценты.

Параметр	Placenta accreta (n = 40)	Placenta increta (n = 55)	Placenta percreta (n = 5)	Предлежание плаценты (n = 50)	p-value*
Интраоперационная кровопотеря, мл	1050 (800 – 1500)	1200 (850 – 1700)	1900 (1000 – 3650)	700 (600 – 800)	<0,001 0,603
Кровопотеря после операции, мл	850 (500 – 1200)	700 (225 – 1350)	NA	250 (100 – 300)	0,001 0,953

Суммарная кровопотеря, мл	1150 (800 – 1850)	1300 (900 – 2000)	1900 (1000 – 3650)	750 (600 – 800)	<0,001 0,505
---------------------------	----------------------	----------------------	-----------------------	----------------------------------	---------------------------

* p₁ – вращание плаценты vs предлежание плаценты; p₂ – placenta accreta vs placenta increta.

Оперативное лечение в большинстве случаев сопровождалось реинфузией аутоэритроцитов (табл. 7). Реинфузия была выполнена всем пациенткам с вращением плаценты и только 17 (34%) пациенткам группы сравнения ($p < 0,001$). Средний объем реинфузии аутоэритроцитов был значимо выше в группе вращающейся плаценты.

Таблица 7. Особенности реинфузии аутоэритроцитов при оперативном родоразрешении.

Параметр	Placenta accreta (n = 40)	Placenta increta (n = 55)	Placenta percreta (n = 5)	Предлежание плаценты (n = 50)	p-value*
Проведение реинфузии аутоэритроцитов, абс. (%)	40 (100%)	55 (100%)	5 (100%)	17 (34%)	<0,001 NA
Объем реинфузии, мл	325 (250 – 500)	300 (250 – 550)	510 (255 – 1275)	250 (250 – 315)	0,007 0,997

* p₁ – вращение плаценты vs предлежание плаценты; p₂ – placenta accreta vs placenta increta.

Значимых различий по уровню гемоглобина среди групп выявлено не было

При оценке эффективности управляемой баллонной тампонады матки при предлежании плаценты пациентки были рандомизированы в 2 группы по 25 человек с предлежанием плаценты. Все операции были проведены в плановом порядке, накануне операции хирург выбирал запечатанный конверт, в котором предполагалась или не предполагалась УБТ. Для УБТ использовался баллон Жуковского. Результатом анализа данных было отсутствие значимых различий по величине интраоперационной кровопотери, частоте возникновения и объему кровопотери в раннем послеоперационном периоде и суммарной кровопотере пациенток подгруппы с УБТ послеродовой матки и пациенток подгруппы без УБТ.

Одной из задач в данной работе было выявление корреляции между степенью выраженности патологического прикрепления плаценты и

состоянием здоровья новорожденного, а также осложнениями раннего неонатального периода. В ходе анализа данных не было выявлено значимых различий новорожденных по их весу и росту, также не было выявлено значимых отличий при оценке по шкале Апгар между подгруппами placenta accreta и placenta increta.

Частота госпитализации детей в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН) была выше в группе врастания плаценты по сравнению с группой предлежания. Она составила 72,5% для подгруппы placenta accreta и 81,8% для подгруппы placenta increta. Все дети, рожденные в подгруппе placenta percreta, также поступили в это отделение. В группе сравнения только 8% детей были госпитализированы в ОРИТН ($p < 0,001$). Срок пребывания новорожденных в стационаре также был значимо выше в группе врастания плаценты, чем в группе сравнения (табл. 8).

Таблица 8. Отделение поступления новорожденных детей.

Отделение поступления новорожденного	Placenta accreta (n = 40)	Placenta increta (n = 55)	Placenta percreta (n = 5)	Предлежание плаценты (n = 50)	p-value*
Отделение физиологии новорожденных	10 (25,0%)	10 (18,2%)	0 (0%)	45 (90,0%)	<0,001 0,290
Отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных	29 (72,5%)	45 (81,8%)	5 (100%)	4 (8,0%)	<0,001 0,203
Отделение патологии новорожденных и недоношенных детей	1 (2,5%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,0%)	0,557 0,421
Срок пребывания в стационаре, суток	15 (8,25 – 22,75)	17 (12 – 20)	14 (10 – 16,5)	10 (5 – 14)	0,003 0,490

* p₁ – вращение плаценты vs предлежание плаценты; p₂ – placenta accreta vs placenta increta.

Большинству детей, рожденных у женщин с вращением плаценты, потребовалось проведение респираторной терапии (табл. 9). Частота первичного назначения: высокочастотной осцилляторной вентиляции легких (ВЧОВЛ) составила 22,5% в подгруппе placenta accreta, 25,5% – в подгруппе placenta increta ($p = 0,467$) и 2 из 5 пациенток в подгруппе placenta percreta; искусственной вентиляции легких с переменным потоком (ИВЛ Biphasic)

составила 25,0% в подгруппе placenta accreta, 38,2% – в подгруппе placenta increta ($p = 0,129$), 2 из 5 пациенток в подгруппе placenta percreta; искусственной вентиляции легких с контролируемой поддержкой (ИВЛ А/С) составила 15,0% в подгруппе placenta accreta, 20,0% – в подгруппе placenta increta ($p = 0,587$) и 1 из 5 пациенток в подгруппе placenta percreta. Среди неинвазивных методов респираторной поддержки в подавляющем большинстве случаев назначали применение неинвазивной искусственной вентиляции лёгких постоянным положительным давлением (СИПАП) – частота первичного назначения СИПАП составила 35% в подгруппе placenta accreta, 20% – в подгруппе placenta increta ($p = 0,081$) и 10% – в группе сравнения ($p = 0,022$ для сравнения новорожденных группы вставания плаценты и группы сравнения).

Таблица 9. Первичная респираторная терапия новорожденных.

Вид респираторной терапии	Placenta accreta (n = 40)	Placenta increta (n = 55)	Placenta percreta (n = 5)	Предлежание плаценты (n = 50)	p-value*
ВЧОВЛ (HFOV)	9 (22,5%)	14 (25,5%)	2 (40,0%)	0	<0,001 0,467
ИВЛ (Biphasic)	10 (25,0%)	21 (38,2%)	2 (60,0%)	0	<0,001 0,129
ИВЛ (A/C)	6 (15,0%)	8 (14,6%)	1 (20,0%)	0	<0,001 0,587
СИПАП (CPAP)	14 (35,0%)	11 (20,0%)	0	5 (10,0%)	0,022 0,081
ВПК	1 (2,5%)	1 (1,8%)	0	1 (2,0%)	0,707 0,667

* p₁ – вставание плаценты vs предлежание плаценты; p₂ – placenta accreta vs placenta increta; СИПАП – режим неинвазивной искусственной вентиляции лёгких постоянным положительным давлением (англ. – Constant Positive Airway Pressure); ВЧОВЛ – высокочастотная осцилляторная вентиляция легких (англ. – High-frequency Oscillatory Ventilation); ИВЛ (Biphasic) – искусственная вентиляция легких с переменным потоком; ИВЛ А/С – искусственная вентиляция легких с контролируемой поддержкой (англ. – Assist Controlled Ventilation); ВПК – высокопоточные канюли.

Наиболее частой сопутствующей патологией детей, рожденных у женщин с вставанием плаценты, были такие заболевания дыхательной системы, как пневмония, респираторный дистресс-синдром (РДС) и транзиторное тахипное новорожденных (ТТН). Частота пневмонии составила 32,5% и 27,3% в подгруппах placenta accreta и placenta increta, соответственно ($p = 0,444$), она имела место у 1 из 5 новорожденных подгруппы placenta

percreta и у 8% новорожденных группы сравнения ($p < 0,001$ для сравнения новорожденных группы врастания плаценты и группы сравнения).

ВЫВОДЫ

1. Основным фактором риска развития врастания плаценты у пациенток с предлежанием плаценты является рубец на матке, после кесарева сечения. Каждое перенесенное кесарево сечение повышает риск развития врастания плаценты при последующей беременности в 1,5-2 раза. Экстренная операция кесарева сечения в анамнезе является более высоким риском, чем плановая операция. Гинекологические операции, внутриматочные вмешательства, аборты, выкидыши и неразвивающиеся беременности в анамнезе не повышают риск развития врастания плаценты.
2. Точность ультразвуковой и МР-диагностики врастания плаценты сопоставимы, МРТ (84%), УЗИ (78%) При этом чувствительность диагностики placenta accreta сопоставима для МРТ (61,5%) и УЗИ (62,5%), тогда как чувствительность диагностики placenta increta выше для МРТ (97,4%), чем для УЗИ (87,3%), что позволяет рекомендовать данный метод обследования с целью диагностики степени инвазии для определения сроков родоразрешения.
3. Чувствительность и специфичность диагностики различных форм врастания плаценты при определении уровней экспрессии секреторной формы α -субъединицы кластерина или микроРНК miR-21-5p, miR-320a и miR-92a-3p в различных сочетаниях в плазме периферической крови беременных на сроке 31-34 недели достигают 88,8-100% и 91,6-100%, соответственно.
4. Целесообразно проведение комплексной диагностики врастания плаценты начиная с ультразвукового метода исследования в 30-32 недели беременности с последующим проведением магнитно-резонансного исследования для подтверждения диагноза и определения

молекулярных маркеров в плазме крови (α -субъединицы кластерина или сочетанного определения уровней экспрессии микроРНК miR-21-5p, miR-320a и miR-92a-3p) для подтверждения глубины врастания плаценты.

5. Рост, вес, оценка по шкале Апгар у новорожденных пациенток с врастанием плаценты не отличаются от таковых у пациенток без врастания, однако выявлена более частая госпитализация в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных (ОРИТН), необходимость дыхательной поддержки и более длительный срок пребывания новорожденных в стационаре.
6. Величина интраоперационной кровопотери напрямую зависит степени выраженности глубины инвазии плаценты, однако предоперационная подготовка, интраоперационная реинфузия аутоэритроцитов и адекватная инфузионно-трансфузионная терапия позволяют минимизировать снижение уровня гемоглобина вне зависимости от наличия и степени тяжести врастания плаценты.
7. УБТ послеродовой матки является одним из современных методов лечения послеоперационного и послеродового кровотечения, однако не позволяет снизить величину интраоперационной или послеоперационной кровопотери при профилактическом его использовании при предлежании плаценты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для всех пациенток с предлежанием плаценты и рубцом на матке после операции кесарева сечения необходимо проведение антенатального обследования, включающего УЗИ и МРТ в начале III триместра беременности, с целью выявления признаков врастания плаценты.
2. Ультразвуковое исследование для выявления признаков врастания плаценты рекомендовано проводить в 30-32 недели беременности. Наиболее значимыми признаками являются: истончение миометрия,

нарушение целостности стенки мочевого пузыря, расширение межворсинчатого пространства, бугристость материнской поверхности плаценты, плацентарная грыжа, нарушение сосудистой архитектоники плаценты и снижение дифференциации миометрия.

3. МРТ-исследование для выявления признаков врастания плаценты рекомендовано проводить в 31-33 недели беременности. Наиболее значимыми признаками являются: множественные лакуны, выбухание стенки матки, цервико-тригональная гиперплазия и истончение миометрия в зоне предполагаемого врастания плаценты.
4. Молекулярные маркеры (α -кластерин, miR-21-5p, miR-320a и miR-92a-3p) плазмы крови, позволяющие подтвердить глубину врастания плаценты, рекомендованы к определению в сроках 31-34 недели беременности в качестве дополнительного метода исследования для определения наиболее оптимальных сроков родоразрешения и определения хирургической тактики.
5. При выявлении УЗ- или МР-признаков врастания плаценты, целесообразна дородовая госпитализация всех пациенток в сроке 33-34 недели беременности с целью проведения дополнительного обследования, подготовки к родоразрешению и минимизации рисков кровотечения вне стационара.
6. При выявлении на этапе диагностики предполагаемой глубины инвазии по типу placenta accreta или placenta increta рекомендуемые сроки для планового родоразрешения составляют 35-36 недель беременности при условии низкого риска развития кровотечения (отсутствие преждевременных родов у пациентки в анамнезе, угрозы прерывания данной беременности, а также угрожающих преждевременных родов во время данной беременности); при диагностике placenta percreta оптимальными сроками родоразрешения являются 34-35 недель беременности независимо от риска развития кровотечения.

7. При наличии высокого риска развития кровотечения оптимальными сроками для планового родоразрешения являются 33-35 недель беременности независимо от степени выраженности вращающейся плаценты.
8. С целью минимизации послеоперационного снижения уровня гемоглобина, всем пациенткам с вращающейся плацентой целесообразно проведение операции в условиях интраоперационной реинфузии аутоэритроцитов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Прогностическая значимость МРТ в диагностике различных форм вращающейся плаценты / Веницкий А.А., Кулабухова Е.А., Быченко В.Г., Шмаков Р.Г., Ежова Л.С., Учеваткина П.В., **Пирогова М.М.** // **Акушерство и гинекология.** - 2018. - № 1. - С. 41-47.
2. Анализ факторов риска развития патологического прикрепления плаценты. / **Пирогова М.М.** // Сборник тезисов Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых, - Москва. - 2018. - С. 31-32.
3. Менеджмент крови пациентки в акушерской практике при вращающейся плаценте. / Федорова Т.А., Шмаков Р.Г., Рогачевский О.В., Пырегов А.В., Веницкий А.А., Королев А.Ю., Иванец Т.Ю., **Пирогова М.М.** // **Медицинский совет.** – Москва. - 2019. - №7. - С. 134-141.
4. Органосохраняющие операции при аномальной инвазии плаценты (5-летний опыт Национального медицинского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова). / Шмаков Р.Г., **Пирогова М.М.**, Васильченко О.Н., Чупрынин В.Д., Пырегов А.В., Ходжаева З.С., Клименченко Н.И., Федорова Т.А., Ежова Л.С., Быченко В.Г., Бойкова Ю.В. // **Доктор.ру.** – Москва. - 2019. - №11(166). - С.29-34.

5. Хирургическая тактика при вращании плаценты с различной глубиной инвазии. / Шмаков Р.Г., **Пирогова М.М.**, Васильченко О.Н., Чупрынин В.Д., Ежова Л.С. // **Акушерство и гинекология**, - Москва. - 2020. - №3. - С.228-237.
6. Эффективность комплексного компрессионного гемостаза при различных степенях вращаия плаценты. / Забелина Т.М., Васильченко О.Н., Шмаков Р.Г., **Пирогова М.М.**, Каримова Г.Н., Чупрынин В.Д., Щеголев А.И., Ежова Л.С., Гус А.И., Бойкова Ю.В., Быченко В.Г., Учеваткина П.В. // **Акушерство и гинекология**. – 2020. - №6. - С.30-36.
7. MirNA expression profile in abnormally invasive placenta: accreta, increta and percreta cases / A. Timofeeva, O. Vasilchenko, **M. Pirogova**, I. Fedorov, V. Chagovets, L. Ezhova, R.Shmakov,G. Sukhikh // *Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\ Systems Biology — BGRS\SB-2020*. – 2020. – p. 18.