

*На правах рукописи*

**САРИБЕКОВА**

**Алёна Гарриевна**

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ  
НА ОСНОВАНИИ ИЗУЧЕНИЯ  
МАРКЕРОВ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ**

**3.1.4. Акушерство и гинекология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

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

**Москва – 2023**

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

Тютюнник Виктор Леонидович  
Красный Алексей Михайлович

Официальные оппоненты:

Доброхотова Юлия Эдуардовна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Минздрава России, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета, заведующая кафедрой

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

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

Защита состоится «18» апреля 2023 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 21.1.022.01 на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика 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 «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России  
<https://science.ncagp.ru/upfiles/pdf/Saribekova%20AG-disser.pdf?1617492498>

Автореферат разослан «    » марта 2023 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук, профессор



Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Преждевременные роды – одна из самых сложных и актуальных проблем в современной акушерской практике, определяющая уровень неонатальной и младенческой заболеваемости [Серов В.Н. и соавт., 2017; Шмаков Р.Г. и соавт., 2019; Байбарина Е.Н., 2020; Abdel Ghany E.A. et al., 2016; Glover A.V., Manuck T.A., 2019; Pizzella S. et al., 2020].

Предотвращение и снижение частоты преждевременных родов остается проблемой, поскольку причины преждевременных родов многофакторны, многочисленны, сложны и не до конца изучены [Ходжаева З.С. и соавт., 2020; Серова О.Ф. и соавт., 2021; Cobo T. et al., 2020; Thain S. et al., 2020; Yang Q. et al., 2023]. Важнейшей причиной преждевременных родов инфекционного характера являются малые возможности иммунной системы беременной женщины к своевременному распознаванию и уничтожению этиологического агента инфекции [Кан Н.Е. и соавт., 2020; Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2021; Jones E.O. et al., 2020; Choi S.R. et al., 2023]. Вторжение инфекционных факторов может стать пусковым механизмом развития системного воспалительного ответа (ССВО), при котором локальное повреждение тканей в зоне инокуляции инфекционных патогенов, вызывает совокупность системных реакций, приводящих к дисфункции врожденного и приобретенного иммунного ответа. Система цитокинов играет значимую роль в течение всей беременности, регулируя процессы инвазии трофобласта, межклеточные взаимоотношения в эндометрии, воспалительные реакции [Сухих Г.Т., 2020; Suff N. et al., 2019]. Нарушение соотношения про- и противовоспалительных цитокинов является главной особенностью патогенеза ССВО [Тетруашвили Н.К. и соавт., 2019; Areia A.L. et al. 2019; Stock S.J. et al., 2021].

Кроме того, имеются данные о том, что общая внеклеточная ДНК может являться звеном системного воспалительного ответа, которая приводит к развитию преждевременных родов [Серов В.Н., 2020; Gomez-Lopez N. et al., 2020; Choi S.R. et al., 2021; Gudnadottir U. et al 2022]. В некоторых работах показано,

что циркулирующая ДНК плода, вызывает воспалительную реакцию, которая приводит к спонтанному развитию родовой деятельности и преждевременным родам. При этом наблюдается активация Толл-подобных рецепторов-9 (TLR-9) и повышение уровня интерлейкина-6. В настоящее время ряд исследователей показывают корреляционную зависимость между повышенным уровнем фетальной внеклеточной ДНК и высоким риском преждевременных родов. Однако взаимосвязь между фетальной и свободной внеклеточной ДНК недостаточно изучена. Основной мишенью для свободной ДНК являются TLR-9, взаимодействующие с неметилованными CpG последовательностями. Кроме того, известно, что TLR-9 нейтрофилов способны взаимодействовать с бактериальной ДНК с последующей секрецией интерлейкина-8 и, в меньшей степени, интерлейкина-6 и TNF- $\alpha$  [Красный А.М. и соавт.2019; Hallman M. et al., 2019; Menon R., Shahin H., 2021].

Таким образом, вышеизложенное диктует необходимость установления связи между уровнем внеклеточной ДНК и различных цитокинов в крови у женщин при преждевременных родах на разных сроках беременности, что позволит не только выяснить новые патогенетические механизмы их развития, но и выделить новые критерии прогнозирования для проведения своевременных лечебно-профилактических мер.

#### Степень разработанности темы исследования

В снижении перинатальной заболеваемости особое значение имеют вопросы, связанные с ранней диагностикой, прогнозированием и выбором рациональной тактики при преждевременных родах [Мальшикина А.И. и соавт., 2018; Кан Н.Е. и соавт., 2019; Brummaier T. et al., 2020; Stock S.J. et al., 2021; Areia A.L., Mota-Pinto A., 2022]. Досрочное родоразрешение является глобальной проблемой современного акушерства, которое сопряжено с высоким уровнем инвалидизации новорожденных, что диктует необходимость пересмотра некоторых аспектов акушерской тактики [Баев О.Р., и соавт., 2018; Доброхотова Ю.Э., и соавт., 2020; Di Renzo G.C., 2018; Dochez V. et al., 2020; Glover A.V. et al., 2020; Conde-Agudelo A., Romero R., 2022; Guerby P. et al., 2022].

При этом все еще недостаточно полно представлены основы персонифицированного подхода к предикции преждевременных родов, что определяет необходимость поиска различных маркеров для их раннего прогнозирования [Серова О.Ф. и соавт., 2018; Красный А.М. и соавт., 2019; Кокоева Д.Н., 2021; Саркисова Л.В., 2021; Борзова Н.Ю. и соавт., 2022; Gründler K. et al., 2020; Pizzella S. et al., Yang X, Meng T., 2021; Helmi H. et al., 2022].

Параллельно с изучением патогенеза преждевременных родов учеными проводится поиск высокоинформативных неинвазивных способов прогнозирования их развития. Очевидно, что наиболее раннее выявление факторов риска преждевременных родов дает возможность проводить своевременную и адекватную медикаментозную коррекцию, что позволяет улучшить перинатальные исходы [Игнатко И.В. и соавт., 2020; Souza R.T., Cecatti J.G., 2020; Thain S. et al., 2020]. В работах М. Pandey et al. (2017) и В.И. Щербакова и соавт. (2020) была отмечена связь интерлейкинов (TLR4, TNF- $\alpha$ , интерлейкин-1 и -6) с реализацией преждевременных родов. В исследованиях А.М. Красного и соавт. (2020), R. Romero et al. (2020), и С.Е. Ramsden et al. (2020), было показано, что повышение уровня общей внеклеточной ДНК в крови беременной женщины свидетельствует о эндотелиальной дисфункции, которая характерна для системного воспалительного ответа, увеличивая при этом вероятность преждевременных родов.

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

#### Цель исследования

Оптимизация прогнозирования преждевременных родов на основании определения содержания внеклеточной ДНК и цитокинов в крови беременных.

#### Задачи исследования

1. Провести анализ клинической характеристики, особенности течения беременности, родов, послеродового и раннего неонатального периода для уточнения факторов риска преждевременных родов.

2. Определить уровни цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) в крови матери при преждевременных родах с определением их диагностической и прогностической значимости.

3. Оценить уровни общей и фетальной внеклеточной ДНК и определить их взаимосвязь с цитокинами при угрожающих преждевременных родах в крови матери.

4. Разработать модели прогноза преждевременных родов на основании сочетанного определения уровня общей внеклеточной ДНК и цитокинов.

5. Оптимизировать алгоритм прогнозирования преждевременных родов для снижения частоты акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

#### Научная новизна

На основании проведенного исследования выделены наиболее значимые клиничко-анамнестические факторы риска реализации преждевременных родов.

Подтверждено, что наибольшую значимость для диагностики преждевременных родов имеет определение уровней интерлейкинов-6 и -8 в периферической крови беременной женщины.

Установлены пороговые уровни общей и плодовой внеклеточной ДНК, ассоциированные с развитием преждевременных родов на различных сроках беременности.

Выявлено однонаправленное повышение содержания уровней цитокинов – интерлейкинов-6 и -8 и внеклеточной ДНК, что отражает развитие системного воспалительного ответа при преждевременных родах.

Доказано, что для повышения диагностической ценности прогнозирования преждевременных родов следует использовать сочетанное определение уровня цитокинов (IL-6, IL-8) и внеклеточной ДНК (общей и фетальной) на различных сроках беременности: экстремально ранние преждевременные роды – IL-6 и IL-8 + общая внеклеточная ДНК; ранние и преждевременные

роды – IL-6 и IL-8 + общая и фетальная внеклеточная ДНК; поздние преждевременные роды – IL-8 + общая и фетальная внеклеточная ДНК.

#### Теоретическая и практическая значимость

Разработаны модели логистической регрессии, включающие клинико-анамнестические факторы риска развития преждевременных родов, позволяющие выделить группу женщин для динамического наблюдения в различные сроки беременности.

Для прогнозирования риска развития преждевременных родов в течение 7 дней целесообразно определять содержание общей, фетальной внеклеточной ДНК и цитокинов (интерлейкина-6 и -8) в периферической крови.

Разработка алгоритма и внедрение его в акушерскую практику позволят оптимизировать прогнозирование и диагностику преждевременных родов, и тем самым, снизить частоту акушерских осложнений и улучшить перинатальные исходы.

#### Положения, выносимые на защиту

1. К значимым факторам риска преждевременных родов относятся: самопроизвольные выкидыши в анамнезе, угроза прерывания с образованием ретрохориальной гематомы, бактериальный вагиноз и острая респираторная вирусная инфекция в I триместре беременности. Разработанные модели позволяют определить вероятность развития экстремально ранних и ранних преждевременных родов с чувствительностью 68,0% и специфичностью 94,1%, преждевременных и поздних преждевременных родов с чувствительностью 87,1% и специфичностью 82,4%.

2. Однонаправленное повышение маркеров системного воспаления – общей и фетальной внеклеточной ДНК и интерлейкинов-6 и -8 отражает активацию ДНК-зависимого сигнального пути, что является одним из механизмов реализации преждевременных родов.

3. Разработанная модель логистической регрессии, включающая комбинированное определение внеклеточной ДНК и цитокинов, позволяет прогно-

зировать развитие преждевременных родов на различных сроках беременности: при экстремально ранних преждевременных родах наибольшую значимость имеет сочетанное определение интерлейкинов-6 и -8 и общей внеклеточной ДНК, после 28 недель беременности – общей и фетальной внеклеточной ДНК и интерлейкинов-6 и -8.

#### Личный вклад автора

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

#### Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2, 3 и 4 паспорта «акушерство и гинекология».

#### Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов исследований определяется достаточным (репрезентативным) объемом выборок обследованных пациентов и качеством исследований, проведенных современными методами клинической лабораторной диагностики; кроме того, достоверность результатов подтверждена методами статистической обработки данных, адекватных поставленным задачам.

Основные положения работы представлены на: XIX<sup>ом</sup> и XX<sup>ом</sup> Российских форумах «Мать и дитя» (Москва, 2018, 2019), XII<sup>ом</sup> Международном конгрессе по репродуктивной медицине» (Москва, 2018), XXVII<sup>ом</sup> Всероссийском

Конгрессе с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 2021), XIV<sup>ом</sup> Региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2021), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Пути сохранения репродуктивного здоровья семьи» (Астрахань, 2021).

Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (28 ноября 2022 года, протокол №12).

#### Внедрение результатов исследования

Разработанная на основании результатов исследования тактика персонализированного подхода и алгоритм диагностики и прогнозирования преждевременных родов 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 13 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, определенных ВАК.

Получены 2 патента на изобретение: № 2645093 от 15 февраля 2018 г. «Прогнозирование преждевременных родов путем определения каталазной активности в плазме периферической крови» и № 2682713 от 21 марта 2019 г. «Прогнозирование преждевременных родов путем совместного определения внеклеточной ДНК и интерлейкина-8 в плазме периферической крови».

## Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 123 страницах компьютерного текста, иллюстрирована 26 рисунками и 10 таблицами, состоит из введения, 5 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, обсуждение полученных результатов), выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Библиографический указатель включает 160 работ цитируемых авторов, из них 61 на русском и 99 на иностранных языках.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материал и методы исследования

Для уточнения факторов риска развития преждевременных родов на I этапе было проведено ретроспективное исследование, в которое были включены 380 беременных женщин, родоразрешенные в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации в период с 2016 г. по 2019 г.

В основную группу вошли 176 пациенток, разделенные на 4 подгруппы: экстремально ранние преждевременные роды – 22-27,6 недель беременности – 38 женщин; ранние преждевременные роды – 28-31,6 недель беременности – 36 женщин; преждевременные роды – 32-33,6 недель беременности – 32 женщины; поздние преждевременные роды – 34-36,6 недель беременности – 70 женщин. В группу сравнения вошли 204 женщины с физиологическим течением беременности и своевременными родами.

На II этапе для проведения молекулярно-генетических и иммунологических исследований было обследовано 199 пациенток, из которых основную группу составили 92 беременных с преждевременными родами и 107 пациенток с физиологически протекающей беременностью и своевременными родами. Основная группа и группа сравнения также были разделены на 4 подгруппы с учетом сроков реализации преждевременных родов. Забор материала проводился за 7 дней до начала наступления родов.

Критериями включения в исследование являлись: одноплодная беременность при сроке 22-40 недель, возраст беременных от 18 до 45 лет.

Критерии исключения: преждевременное излитие околоплодных вод, многоплодная беременность, врожденные пороки развития плода, тяжелая преэклампсия, декомпенсированная плацентарная недостаточность, тяжелая экстрагенитальная патология, беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий.

Всем пациенткам, включенным в исследование, был выполнен стандартный набор обследования согласно приказам Минздрава РФ № 572н от 01.11.2012 г. Беременные были ознакомлены с целью и методами исследования и подписали информированное согласие на участие в нем. Было проведено изучение клинико-anamnestических данных, особенностей течения и исходы беременностей, а также изучение состояния здоровья новорожденных.

Специальные методы исследования: определение уровня общей и фетальной внеклеточной ДНК с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени и концентрации цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) с помощью мультиплексного метода с использованием стандартной 8-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 в плазме материнской крови.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы «SPSS Statistics 17,0 for Windows». Статистически значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ . Для создания математической модели использовался метод логистической регрессии методом Вальда. Оценка качества полученных моделей проводилась с помощью ROC-анализа.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Все пациентки, включенные в исследование, были сопоставимы по возрасту и антропометрическим показателям. Возраст составил 31,0 (28,7; 34,0) и 30,0 (27,2; 32,0) лет по группам соответственно. Принимая во внимание указания ряда авторов на генетическую предрасположенность к риску развития

преждевременных родов был изучен наследственный анамнез беременных. Было установлено, что при ранних преждевременных родах статистически значимо чаще отмечались сердечно-сосудистые заболевания – 44,4% ( $p < 0,05$ ), а при преждевременных и поздних преждевременных родах – сахарный диабет 25,0% ( $p < 0,05$ ) и 28,6% ( $p < 0,01$ ), соответственно.

Учитывая вклад соматической патологии, была изучена ее структура в исследуемых группах. Статистически значимо чаще встречался хронический бронхит – 21,1% ( $p < 0,05$ ) при экстремально ранних преждевременных родах, хронический тонзиллит – 16,7% ( $p < 0,05$ ) при ранних преждевременных родах и наличие пневмонии – 12,5% ( $p < 0,05$ ) при преждевременных родах.

При анализе структуры гинекологических заболеваний не было выявлено статистически значимых различий в частоте миомы матки, аденомиоза и бесплодия. Вместе с тем, во всех подгруппах установлена более высокая частота ( $p < 0,05$ ) бактериального вагиноза – 34,1% и кандидозного вульвовагинита – 22,7%. Также отмечалась более высокая частота ( $p < 0,05$ ) уреоплазменной инфекции при экстремально ранних преждевременных родах – 26,3%, ранних – 27,8% и поздних преждевременных родах – 22,9%.

Особый интерес представляло изучение акушерского анамнеза, которому отводят наибольший неблагоприятный вклад в развитии преждевременных родов [Малышкина А.И. и соавт., 2018; Тетруашвили Н.К. и соавт., 2019; Cobo T. et al., 2020; Brummaier T. et al., 2020]. Была установлена более высокая частота ( $p < 0,05$ ) преждевременных родов – 22,2% и самопроизвольных выкидышей в анамнезе – 18,7% во всех подгруппах основной группы. При этом неразвивающаяся беременность в анамнезе статистически значимо чаще встречалась при экстремально ранних – 31,6% ( $p < 0,01$ ) и ранних преждевременных родах – 41,7% ( $p < 0,001$ ).

Учитывая выявленные клиничко-анамнестические факторы риска, был применен метод множественной логистической регрессии, на основании которых были разработаны прогностические модели развития преждевременных родов с учетом сроков реализации:

Для срока с 22 по 31 неделя и 6 дней беременности:

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

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

$$z=0,713-21,373*X1-2,453*X2+2,686*X3$$

где  $X1$  – самопроизвольные выкидыши в анамнезе,  $X2$  – угроза прерывания в I триместре беременности,  $X3$  – острая респираторная вирусная инфекция в I триместре беременности. Чувствительность – 68,0% и специфичность – 94,1%. Оптимальный порог (cut off) – 0,15.

Для срока с 32 по 36 недель и 6 дней беременности:

$$z=1,946-21,596*X1-2,234*X2-21,93*X3-21,459*X4$$

где  $X1$  – самопроизвольные выкидыши в анамнезе,  $X2$  – угроза прерывания в I триместре беременности,  $X3$  – ретрохориальная гематома в I триместре беременности,  $X4$  – бактериальный вагиноз в I триместре беременности. Чувствительность 87,1% и специфичность 82,35%. Оптимальный порог (cut off) – 0,43.

Учитывая данные ряда авторов о большом количестве осложнений во время беременности, которые могут вносить дополнительные риски в развитие преждевременных родов, нами была проведена оценка течения беременности [Какорина Е.П. и соавт., 2018; Ходжаева З.С. и соавт., 2020; Собо Т. et al., 2020; Gates M. et al., 2019; Helmi H et al., 2022].

Следует отметить, что среди особенностей течения беременности при преждевременных родах отмечалась более высокая частота угрозы прерывания беременности – 61,9% ( $p<0,05$ ), что обусловлено критериями включения в исследование, с образованием ретрохориальной гематомы – 56,8% ( $p<0,05$ ). Вместе с тем, установлена более высокая частота ( $p<0,05$ ) бактериального вагиноза – 17,1%, истмико-цервикальной недостаточности – 33,5% и острой респираторной вирусной инфекции – 50,0%.

Особый интерес представлял изучение течения настоящей беременности с учетом сроков реализации преждевременных родов.

При экстремально ранних преждевременных родах в I триместре достоверно чаще ( $p<0,05$ ) отмечалась угроза прерывания беременности – 47,4% ( $p<0,05$ ) и бактериальный вагиноз – 15,8%.

При ранних преждевременных родах статистически значимо чаще встречалась угроза прерывания в I триместре – 66,7% ( $p < 0,001$ ), истмико-цервикальная недостаточность – 55,6% ( $p < 0,001$ ) с ее хирургической коррекцией – 44,4% ( $p < 0,001$ ).

В группе преждевременных родов также отмечалась более высокая частота угрозы прерывания – 68,8% ( $p < 0,001$ ) и бактериального вагиноза в I триместре беременности 18,8% ( $p < 0,05$ ), что согласуется с данными других исследователей, которые рассматривают данную патологию как одну из причин самопроизвольного прерывания беременности [Кан Н.Е. и соавт., 2020; Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2021; Долгушина В.Ф. и соавт., 2021; Areia A.L. et al., 2019; Choi S.R. et al., 2023].

Следует отметить, что при поздних преждевременных родах помимо угрозы прерывания достоверно чаще отмечалось формирование ретрохориальной гематомы 57,1% ( $p < 0,05$ ) в I триместре беременности. Во II триместре наряду с бактериальным вагинозом – 14,3% ( $p < 0,05$ ), выявлялась анемия – 14,3% ( $p < 0,05$ ).

У большинства пациенток обеих групп роды произошли через естественные родовые пути. Однако, в основной группе статистически значимо чаще имело место родоразрешение путем операции кесарева сечения – 45,5% ( $p < 0,05$ ), к основным показаниям которой относились: прогрессирующая гипоксия плода и преждевременная отслойка плаценты. Объем кровопотери с учетом метода родоразрешения в исследуемых группах статистически не отличался. Течение послеродового периода также не различалось, послеоперационных осложнений выявлено не было.

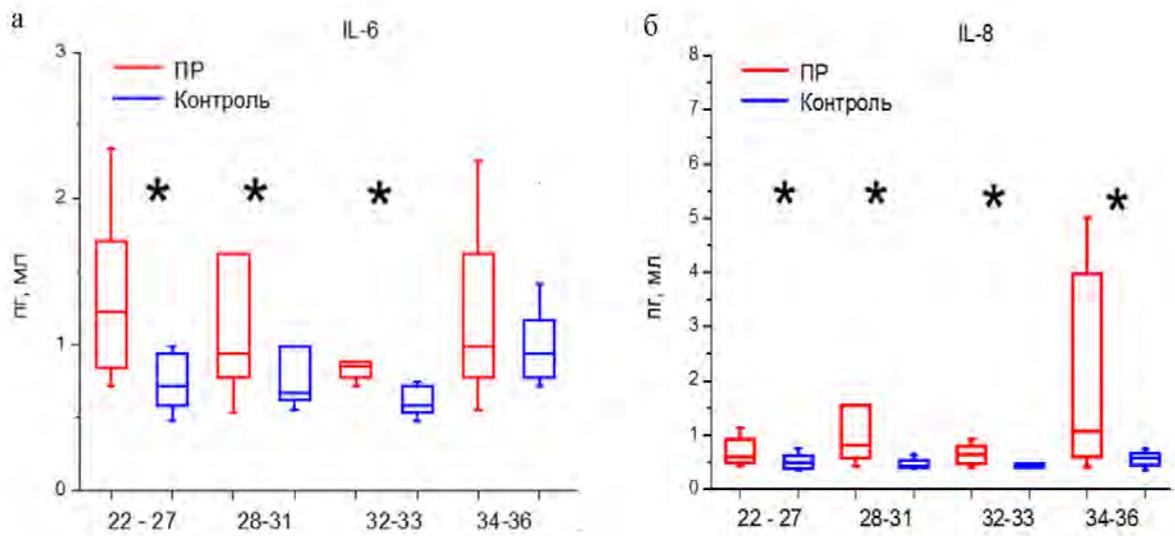
Известно, что преждевременные роды сопряжены с высокой частотой неблагоприятных перинатальных исходов, в связи с чем, особый интерес представляло изучение течения раннего неонатального периода. Все дети родились живыми. Однако, при преждевременных родах во всех подгруппах отмечались более низкие массо-ростовые показатели и оценка состояния по шкале Апгар, что, связано с более ранними сроками родоразрешения у этих пациенток.

В структуре неонатальной заболеваемости при экстремально ранних и ранних преждевременных родах статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) отмечались респираторный дистресс-синдром – 21,1% и 41,1% (по группам соответственно), асфиксия средней степени тяжести – 10,5% и 41,1%, врожденная пневмония – 47,4% и 72,2% и анемия недоношенных – 42,1% и 47,1%. Также при экстремально ранних преждевременных родах была установлена более высокая частота внутрижелудочковых кровоизлияний I степени – 47,4% ( $p < 0,05$ ) и экстремально низкая масса тела при рождении – 21,1% ( $p < 0,05$ ), что обусловлено ранним сроком родоразрешения. При преждевременных и поздних преждевременных родах у новорожденных статистически значимо чаще ( $p < 0,05$ ) отмечали асфиксию легкой степени тяжести 34,4% и 20,0% и неонатальную желтуху 34,4% и 28,6% (по группам соответственно).

Пациентки, включенные в проспективное исследование по клинико-анамнестической характеристике, были сопоставимы с группой ретроспективного наблюдения. Также не выявлено значимых отличий в течение беременности, родов, послеродового периода и состояния новорожденных.

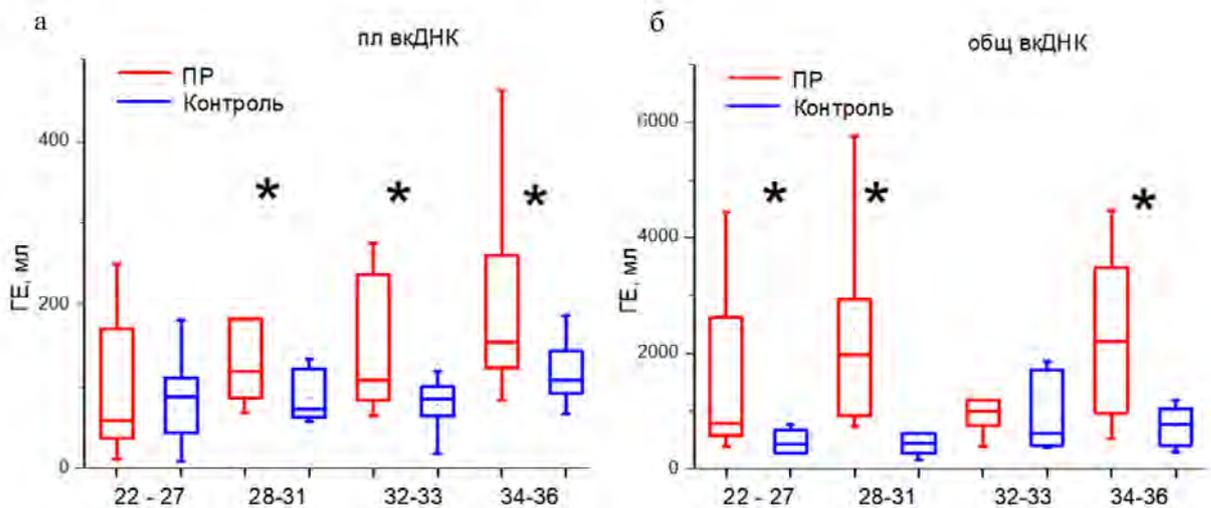
Следует отметить, что забор крови для проведения молекулярно-генетических и иммунологических исследований проводился за 7 суток до начала родов. Было установлено, что уровни интерлейкина-2, -4, -10, GM-CSF, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  на всех сроках преждевременных родов статистически не различались относительно группы сравнения.

Согласно результатам исследования, в течение физиологической беременности уровень интерлейкина-6 в крови матери не изменяется и происходит его значительное снижение в родах. Содержание данного маркера при экстремально ранних, ранних и преждевременных родах было статистически значимо повышено, при этом наиболее высокие значения наблюдались при экстремально ранних преждевременных родах (рис. 1а). Концентрация интерлейкина-8 в крови матери при преждевременных родах во всех подгруппах статистически значимо повышалась за 7 суток до их реализации, также повышалось его содержание при своевременных родах (в момент родов) (рис. 1б).



**Рис. 1.** Содержание уровня интерлейкина-6 (а) и интерлейкина-8 (б) в плазме крови

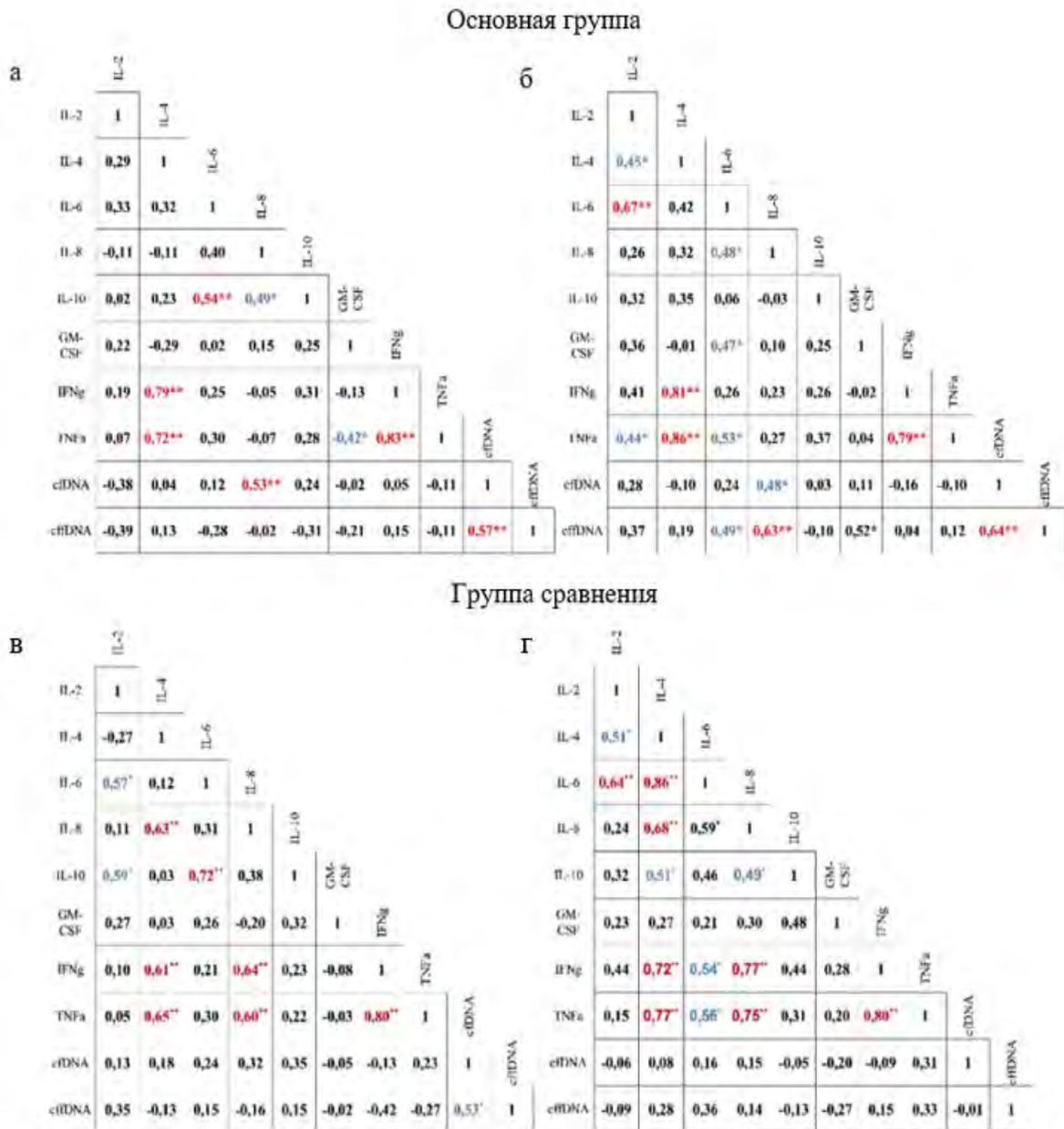
В процессе физиологической беременности с 22 до 40 недели отмечается постепенное возрастание содержания как общей, так и плодовой внеклеточной ДНК в крови матери (рис. 2).



**Рис. 2.** Содержание уровня плодовой (а) и общей (б) внеклеточной ДНК в плазме крови.

Содержание плодовой внеклеточной ДНК при ранних, поздних и преждевременных родах было статистически значимо выше, и наиболее высокие значения наблюдались во время поздних преждевременных родов (рис. 2а).

Уровень общей внеклеточной ДНК было статистически значимо выше во всех подгруппах за исключением срока 32-33,6 недели (рис. 2б).

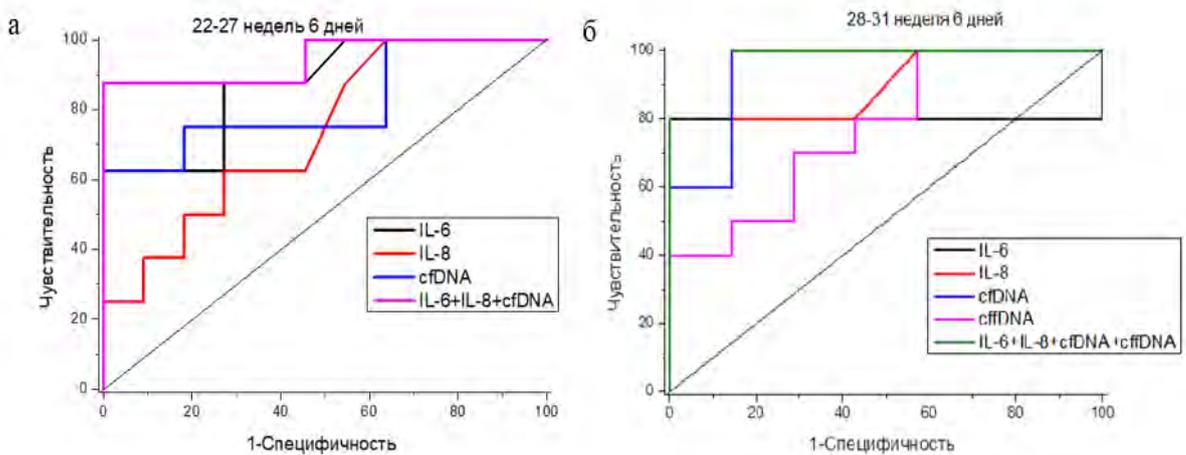


**Рис. 3.** Корреляционный анализ цитокинов и внеклеточной ДНК в основной группе: (а) 22-31,6 недели гестации, (б) 32-36,6 недель гестации. \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$  и группе сравнения: (в) 22-31,6 недели гестации, (г) – 32-36,6 недель гестации. \*  $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

Полученные результаты указывают на то, что при преждевременных родах активируется сигнальный путь, опосредованный внеклеточной ДНК, как плодовой, так и общей, приводящей к увеличению продукции лейкоцитами интерлейкина-8.

Изучение взаимосвязей методом ранговой корреляции Спирмена показало, что интерлейкин-8 коррелирует с общей внеклеточной ДНК во всех подгруппах преждевременных родов (22-31,6 неделя беременности  $rs=0,53$ ,  $p=0,025$ ; 32-36,6 недель беременности  $rs=0,48$ ,  $p=0,03$ ), значимая корреляция с плодовой внеклеточной ДНК также наблюдается при сроке 32-36,6 недель беременности ( $rs=0,63$ ,  $p=0,001$ ) (рис. 3а, б). Следует отметить, что корреляция между интерлейкином-8, общей и плодовой внеклеточной ДНК отсутствовала на всех сроках группе сравнения (рис. 3в, г).

Для оценки диагностической ценности изучаемых факторов нами был проведен ROC-анализ сочетанного определения интерлейкинов-6 и -8; плодовой и общей внеклеточной ДНК при преждевременных родах с учетом сроков их реализации.

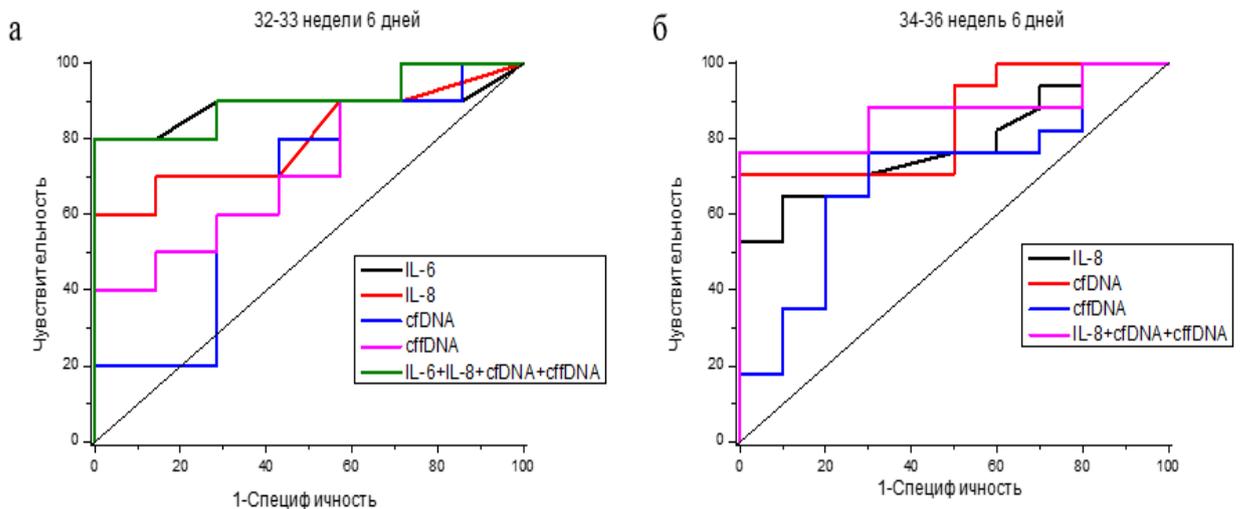


**Рис. 4.** Оценка диагностической значимости определения IL-6, IL-8, cfDNA и cffDNA при преждевременных родах на основании логистической регрессии: площадь под кривой на сроке 22-27,6 дней (а): IL-6 – 0,86 (95% ДИ: 0,69-1); IL-8 – 0,73 (95% ДИ: 0,49-0,97); cfDNA – 0,86 (95% ДИ: 0,61-1); при одновременном использовании IL-6, IL-8 и cfDNA – 0,94 (95% ДИ: 0,82-1); площадь под кривой на сроке 28-31,6 недель (б): IL-6 – 0,8 (95% ДИ: 0,58-1); IL-8 – 0,87 (95% ДИ: 0,7-1); cfDNA – 0,92 (95% ДИ: 0,82-1); cffDNA – 0,77(95% ДИ: 0,54-1); при одновременном использовании IL-6, IL-8, cfDNA и cffDNA – 0,96 (95% ДИ: 0,86-1).

На основании проведения логистической регрессии методом Вальда, было установлено, что на сроке 22-27,6 недель наиболее высокую диагностическую ценность имеет комбинированное использование интерлейкинов-6 и -

8 и общей внеклеточной ДНК, площадь под кривой составила на 0,94 (95% ДИ: 0,82-1) с чувствительностью 86% и специфичностью 100% (рис. 4а). На сроке с 28 по 31,6 недель: интерлейкинов-6 и -8 и общей и плодовой внеклеточной ДНК, площадь под кривой составила на 0,96 (95% ДИ: 0,86-1) с чувствительностью 100% и специфичностью 89% (рис. 4б).

На сроке с 32 по 33,6 недель: интерлейкинов-6 и -8 и общей и плодовой внеклеточной ДНК, площадь под кривой составила на 0,9 (95% ДИ: 0,75-1) с чувствительностью 81% и специфичностью 100% (рис. 5а). На сроке с 34 по 36,6 недель: интерлейкина-8 и общей внеклеточной ДНК, площадь под кривой составила на 0,88 (95% ДИ: 0,74-1) с чувствительностью 78% и специфичностью 100% (рис. 5б).



**Рис. 5.** Оценка диагностической значимости определения IL-6, IL-8, cfDNA и cffDNA при преждевременных родах на основании логистической регрессии: площадь под кривой на сроке 32-33,6 недель (а): IL-6 – 0,88 (95% ДИ: 0,72-1); IL-8 – 0,8 (95% ДИ: 0,59-1); cfDNA – 0,66 (95% ДИ: 0,4-0,92); cffDNA – 0,73 (95% ДИ: 0,49-0,97); при одновременном использовании IL-6, IL-8, cffDNA, cfDNA – 0,9 (95% ДИ: 0,75-1); площадь под кривой на сроке 34-36,6 недель (б): IL-8 – 0,79 (95% ДИ: 0,61-0,96); cfDNA – 0,85 (95% ДИ: 0,7-1); cffDNA – 0,71 (95% ДИ: 0,51-0,9); при одновременном использовании IL-8, cfDNA и cffDNA – 0,88 (95% ДИ: 0,74-1).

Однонаправленное повышение уровня цитокинов (интерлейкинов-6 и -8) и общей и плодовой внеклеточной ДНК отражает их вовлеченность в развитие системного воспалительного ответа при преждевременных родах, и обосновывает целесообразность их использования в качестве предикторов их

реализации. В проведенном нами исследовании были определены значимые факторы риска развития преждевременных родов и также разработаны модели ее прогноза, с учетом срока реализации данного осложнения, что позволит своевременно выявить группу риска среди беременных женщин.

Таким образом, вышеизложенное позволяет предлагать использование внеклеточной ДНК в качестве потенциального маркера преждевременных родов и показать, что aberrантная связь между общей и плодовой внеклеточной ДНК и цитокинами (интерлейкин-6 и -8) может играть важную роль в патогенезе преждевременных родов. Полученные результаты в ходе исследования имеют большое значение в клинической практике для прогнозирования преждевременных родов, снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

### Выводы

1. Риск развития преждевременных родов обусловлен наличием в анамнезе самопроизвольного выкидыша в 18,7%, неразвивающейся беременности – в 22,7%, преждевременных родов – в 22,2%, и следующих осложнений в I триместре беременности: угрозы прерывания – в 61,9% с формированием ретрохориальной гематомы – в 56,8%, острой респираторной вирусной инфекции – в 50,0% и бактериального вагиноза – в 17,1% случаев ( $p < 0,05$ ).

2. Разработанная модель логистической регрессии, включающая самопроизвольные выкидыши в анамнезе, угрозу прерывания и острая респираторная вирусная инфекция в I триместре беременности позволяет прогнозировать развитие экстремально ранних и ранних преждевременных родов с чувствительностью 68,0% и специфичностью 94,1%.

3. Модель логистической регрессии, включающая самопроизвольные выкидыши в анамнезе, угрозу прерывания с формированием ретрохориальной гематомы и бактериальный вагиноз в I триместре беременности позволяет прогнозировать развитие преждевременных после 32 недель беременности с чувствительностью 87,1% и специфичностью 82,4%.

4. Преждевременные роды ассоциированы с высокой частотой перинатальных осложнений в виде асфиксии различной степени тяжести (34,1%), респираторного дистресс-синдрома (25,6%), врожденной пневмонии (32,4%), неонатальной желтухи (23,9%) и анемии (25,6%). По мере увеличения срока беременности при родоразрешении данные осложнения значительно снижаются.

5. Реализация преждевременных родов характеризуется статистически значимым повышением уровней интерлейкина-6 и -8 на всех сроках беременности.

6. Преждевременные роды сопровождаются статистически значимым увеличением уровня общей внеклеточной ДНК в периферической крови матери: при экстремально ранних в 1,8 раза, при ранних преждевременных родах – в 4,5 раза, при поздних преждевременных родах – в 2,9 раза.

7. Содержание фетальной ДНК увеличивается при преждевременных родах составляя при экстремально ранних – 58,9 (42,1; 130,8) ге/мл, при ранних – 118,3 (91,1; 178,7) ге/мл, при преждевременных – 107,2 (84,8; 215,0) ге/мл и при поздних преждевременных родах – 153,8 (122,3; 260,5) ге/мл.

8. Комбинированное определение внеклеточной ДНК и цитокинов, позволяет прогнозировать развитие преждевременных родов на различных сроках беременности: экстремально ранних преждевременных родов – интерлейкинов-6 и -8 + общая внеклеточная ДНК (чувствительность 86%, специфичность 100%); ранних и преждевременных родов – интерлейкинов-6 и -8 + общая и фетальная внеклеточная ДНК (чувствительность 81%, специфичность 100%); поздних преждевременных родов – интерлейкинов-8 + общая и фетальная внеклеточная ДНК (чувствительность 78%, специфичность 100%).

9. Разработанный алгоритм прогнозирования 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.

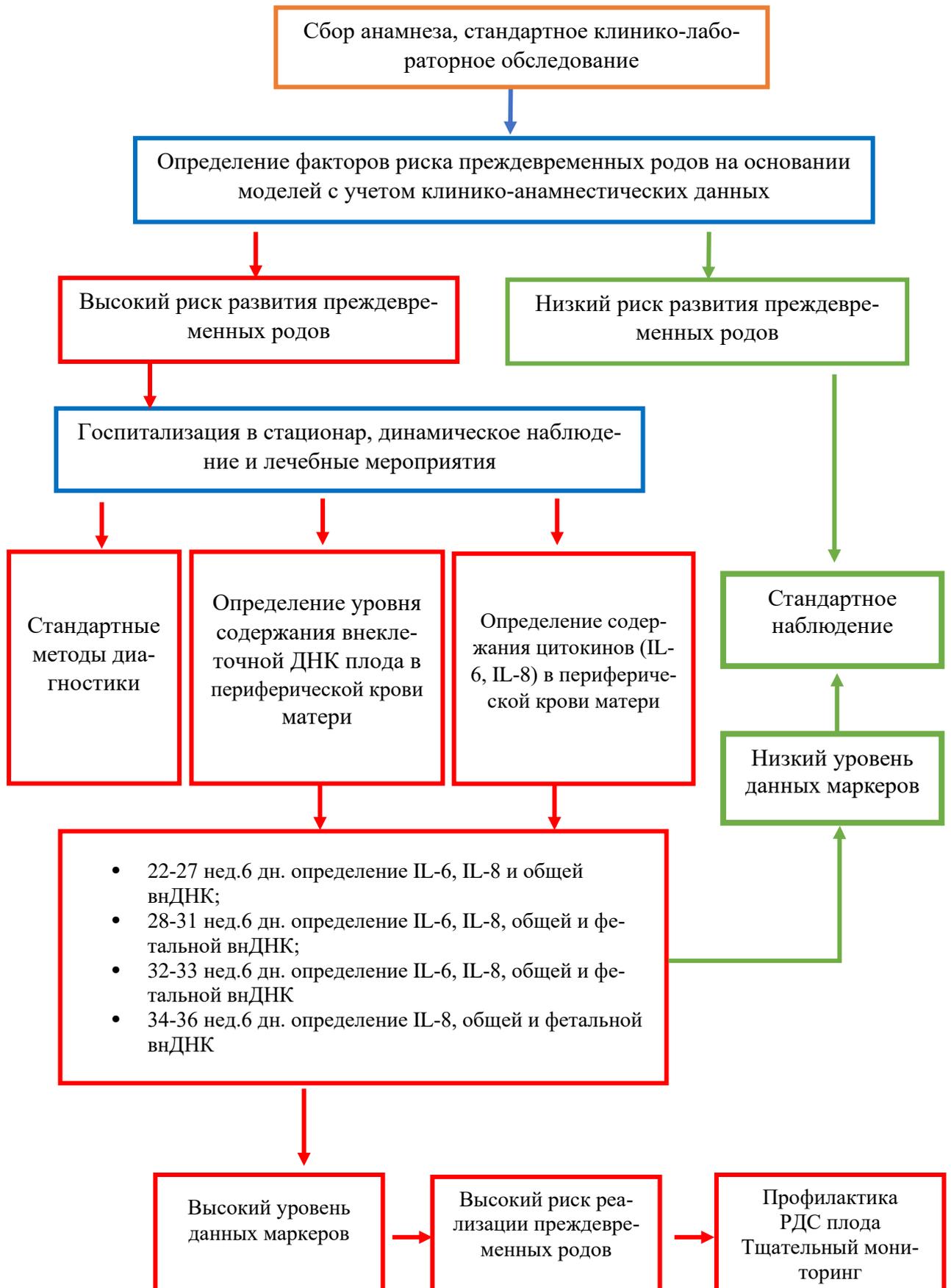
### Практические рекомендации

1. Для определения риска развития преждевременных родов в различные сроки беременности целесообразно использовать модели, включающие самопроизвольные выкидыши, неразвивающейся беременности и преждевременные роды в анамнезе, а также угроза прерывания с образованием ретрохориальной гематомы, бактериальный вагиноз и острая респираторная вирусная инфекция в I триместре беременности.

2. Беременным из группы риска для персонализированного подхода и возможности выбора тактики ведения, помимо стандартного перечня исследований, целесообразно комбинированное определение общей и фетальной внеклеточной ДНК и интерлейкинов-6 и -8 в периферической крови.

3. Ведение беременных группы риска рекомендуется согласно разработанному алгоритму прогнозирования и диагностики преждевременных родов для определения дальнейшей тактики ведения пациенток с целью снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

## Приложение 1

**Алгоритм прогнозирования и диагностики преждевременных родов**

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. **Арушанова А.Г.**, Меджидова М.К., Ломова Н.А., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. Преждевременные роды и преждевременный разрыв плодных оболочек: современные принципы диагностики. **Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология.** 2016; 43 (5): 22-24.
2. Тютюнник В.Л., **Арушанова А.Г.**, Михайлова О.И., Кокоева Д.Н., Меджидова М.К., Салпагарова З.Х. Вагинальные инфекции как фактор риска преждевременных родов. **Эффективная фармакотерапия. Эпидемиология и инфекции.** 2017; 1 (10): 20-23.
3. 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.
4. **Арушанова А.Г.**, Курчакова Т.А., Меджидова М.К., Кокоева Д.Н., Тютюнник В.Л. Факторы врожденного иммунитета при преждевременных родах. X<sup>ый</sup> Юбилейный региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя». Геленджик, 28-30 июня, 2017: 63-64.
5. Тютюнник В.Л., Высоких М.Ю., Володина М.А., Кан Н.Е., Курчакова Т.А., Балашов И.С., Боровиков П.И., **Арушанова А.Г.** Прогнозирование преждевременных родов путем определения каталазной активности в плазме периферической крови. **Патент на изобретение № 2645093** от 15 февраля 2018 г. (заявка 2017111607 от 06 апреля 2017 г.).
6. **Сарибекова А.Г.**, Кокоева Д.Н., Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Тютюнник В.Л., Донников А.Е. Особенности врожденного иммунитета в ранней диагностике преждевременных родов. XII<sup>ый</sup> международный конгресс по репродуктивной медицине. Москва, 16-19 января, 2018: 336-337.
7. Красный А.М., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Садекова А.А., **Сарибекова А.Г.**, Кокоева Д.Н., Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Вторушина В.В., Кречетова Л.В. Прогнозирование преждевременных родов путем комбинированного определения цитокинов и внеклеточной ДНК. **Акушерство и гинекология.** 2019; 1: 86-91.
8. Тютюнник В.Л., Красный А.М., Кан Н.Е., **Сарибекова А.Г.**, Садекова А.А., Кокоева Д.Н., Салпагарова З.Х., Меджидова М.К. Прогнозирование преждевременных родов путем совместного определения внеклеточной ДНК и интерлейкина-8 в плазме периферической крови. **Патент на изобретение № 2682713** от 21 марта 2019 г. (заявка 2018108827 от 13 марта 2018 г.).

9. Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Высоких М.Ю., Кокоева Д.Н., Донников А.Е., **Сарибекова А.Г.**, Меджидова М.К. Возможности прогнозирования преждевременных родов путем определения содержания митохондриальной ДНК и структурно-функционального белка VDAC1. **Акушерство и гинекология.** 2021; 3: 58-65.

10. **Сарибекова А.Г.**, Красный А.М., Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. Общая и плодовая внеклеточная ДНК и цитокины – прогностические маркеры преждевременных родов. XXVII<sup>ой</sup> Всероссийский Конгресс с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы». Москва, 21-23 апреля, 2021: 117-118.

11. Кокоева Д.Н., Высоких М.Ю., **Сарибекова А.Г.**, Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. Значимость определения митохондриальной ДНК при прогнозировании преждевременных родов. Прикаспийский вестник медицины и фармации. Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Пути сохранения репродуктивного здоровья семьи». Астрахань, 28-29 мая, 2021: 2 (1): 40-41.

12. Мирзабекова Д.Д., Салпагарова З.Х., Меджидова М.К., **Сарибекова А.Г.**, Кан Н.Е., Тютюнник В.Л. Взаимосвязь соотношения экспрессии генов TLR4 и IL-10 в цервикальном канале с риском преждевременных родов. XIV<sup>ый</sup> Региональный научно-образовательный форум «Мать и Дитя», Пленум Правления РОАГ. Москва, 28-30 июня, 2021: 32-34.

13. Салпагарова З.Х., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Красный А.М., **Сарибекова А.Г.**, Меджидова М.К. Возможность прогнозирования преждевременных родов путем оценки окидативного стресса и уровня антиоксидантов. XIV<sup>ый</sup> Региональный научно-образовательный форум «Мать и Дитя», Пленум Правления РОАГ. Москва, 28-30 июня, 2021: 42-44.