

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ  
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

*На правах рукописи*

**САРИБЕКОВА**

**Алёна Гарриевна**

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

**3.1.4. Акушерство и гинекология**

**Диссертация**

**на соискание ученой степени кандидата медицинских наук**

**Научные руководители:**

**доктор медицинских наук, профессор**

**ТЮТЮННИК Виктор Леонидович**

**кандидат биологических наук**

**КРАСНЫЙ Алексей Михайлович**

**Москва – 2023**

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

<b>Введение</b>	4
<b>Глава 1. Преждевременные роды: патогенетические аспекты, современные тенденции диагностики и прогнозирования (обзор литературы)</b>	13
1.1. Определение, классификация и факторы риска преждевременных родов	13
1.2. Патогенетические аспекты преждевременных родов и роль системного воспалительного ответа в их реализации	17
1.3. Диагностические и прогностические критерии преждевременных родов	31
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b>	44
2.1. Материалы исследования	44
2.2. Методы исследования	47
2.2.1 Общеклинические методы исследования	47
2.2.2 Клинико-лабораторные методы	48
2.2.3 Функциональные методы исследования	49
2.2.4 Специальные методы исследования	50
2.2.5 Анализ течения неонатального периода у новорожденных	52
2.2.6 Статистические методы	52
<b>Результаты собственных исследований</b>	
<b>Глава 3. Исходная клиническая характеристика</b>	54
3.1. Особенности соматического и акушерско-гинекологического анамнеза беременных	54
3.2. Прогностическая модель наступления преждевременных родов	60
3.3. Особенности течения беременности, родов, послеродового периода при преждевременных родах	63
3.4. Течение раннего неонатального периода	68
<b>Глава 4. Изучение уровней цитокинов и вкДНК в плазме крови у женщин во время преждевременных родов</b>	71

4.1. Содержание уровней цитокинов и вкДНК в плазме крови в исследуемых группах	71
4.2. Корреляционный анализ цитокинов и вкДНК при преждевременных родов	80
<b>Глава 5. Обсуждение полученных результатов</b>	87
<b>Выводы</b>	97
<b>Практические рекомендации</b>	99
<b>Список сокращений</b>	101
<b>Список литературы</b>	103

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

На сегодняшний день преждевременные роды (ПР) считаются одной из самых сложных и актуальных проблем в современной акушерской практике, решение которой сопряжено с улучшением качества последующей жизни детей, родившихся недоношенными. ПР определяют уровень неонатальной смертности и младенческой заболеваемости [3, 34, 42, 50, 62, 90]. За последние десять лет в развитых странах, а также в Европе, уровень преждевременных родов достиг до 5-9%, а в США даже увеличился до 12-13% [6, 20, 25, 40, 45, 49, 154, 158].

За последние пять лет частота преждевременных родов находится в пределах 7-12%, о чем свидетельствуют данные Министерства здравоохранения Российской Федерации [2, 42].

Предотвращение и снижение частоты преждевременных родов остается проблемой, поскольку причины преждевременных родов многофакторны, многочисленны, сложны и не до конца изучены. Важнейшей причиной преждевременных родов инфекционного характера по новейшим представлениям являются малые возможности иммунной системы беременной женщины к своевременному распознаванию и уничтожению этиологического агента инфекции [2, 18, 22, 59]. Вторжение инфекционных факторов может стать пусковым механизмом развития системного воспалительного ответа (ССВО), при котором локальное повреждение тканей в зоне инокуляции инфекционных патогенных факторов, вызывает совокупность системных реакций, одной из которых является дисфункция врожденного и приобретенного иммунного ответа. ССВО определяют, как неспецифический системный ответ организма на инфекционные агенты и иммунодефициты. Система цитокинов играет значимую роль в течение всей беременности, регулируя процессы инвазии трофобласта, межклеточные взаимоотношения в эндометрии, воспалительные реакции [24, 61].

Нарушение соотношения про и противовоспалительных цитокинов является главной особенностью патогенеза ССВО [51, 61, 83, 119]. Возрастает продукция простагландинов и ферментов, способствующих сокращениям и раскрытию шейки матки на фоне увеличения провоспалительных цитокинов [67, 82, 92, 106, 149].

Имеются данные о том, что общая внеклеточная ДНК может являться звеном системного воспалительного ответа, которая приводит к развитию преждевременных родов [20, 56, 69]. В некоторых научных работах показано, что циркулирующая ДНК плода, вызывает воспалительную реакцию, которая приводит к спонтанному развитию родовой деятельности и преждевременным родам. При этом наблюдалась 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 плодовой и свободной внеклеточной ДНК недостаточно изучена. Основной мишенью для свободной ДНК являются TLR-9, взаимодействующие с метилированными CpG последовательностями. Известно, что TLR-9 нейтрофилов способны взаимодействовать с бактериальной ДНК с последующей секрецией интерлейкина-8 и, в меньшей степени интерлейкина-6 и TNF [106, 155, 160].

Возможно установление связи между уровнем внеклеточной ДНК и различных цитокинов в крови у женщин с преждевременными родами на разных сроках беременности, позволит выяснить новые патогенетические механизмы развития преждевременных родов. Достижения современной науки диктуют необходимость комплексного подхода к решению проблемы прогнозирования преждевременных родов.

Таким образом, вышеизложенные данные свидетельствует об актуальности выбранной нами темы исследования и дальнейших перспектив ее изучения с внедрением в клиническую практику полученных результатов.

### **Степень разработанности темы исследования**

Своевременная ранняя диагностика, прогнозирование и выбор правильной тактики при преждевременных родах необходим для снижения частоты перинатальных осложнений. [57, 60, 68, 73, 143, 144]. Учитывая большой процент инвалидизации новорожденных, связанных с досрочным родоразрешением существует необходимость в пересмотре некоторых аспектов акушерской тактики [32, 74, 80, 89, 90].

Целью современных исследований является создание персонифицированного подхода к прогнозированию преждевременных родов. Для этого ведется поиск новых маркеров раннего прогнозирования преждевременных родов [10, 12, 15, 26, 47, 50, 93, 99, 106, 129, 159].

Особое внимание необходимо уделить пролонгированию беременности, так как с помощью адекватной терапии возможно увеличить выживаемость новорожденных и значительно снизить частоту неонатальных осложнений [4, 5, 37, 79, 94, 95].

Одновременно, изучая патогенетические аспекты преждевременных родов, ряд исследователей проводит поиск высокоинформативных неинвазивных способов прогнозирования их развития. Безусловно, чем раньше будут выявлены факторы риска преждевременных родов, тем быстрее можно начать адекватное пролонгирование беременности и тем самым увеличить процент благоприятных перинатальных исходов. [142, 147].

В научных работах М. Pandey et al. (2017), Н.К. Тетруашвили и соавт. (2019) и В.И. Щербакова и соавт. (2020) была показана взаимосвязь интерлейкинов (TLR4, TNF- $\alpha$ , IL-1 и IL-6) с реализацией преждевременных родов. В исследованиях R. Romero et al. (2020) и С.Е. Ramsden (2020), было отмечено, что увеличение уровня общей внеклеточной ДНК в крови беременной женщины говорит 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 IL-6 и IL-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 IL-6 и IL-8 и внеклеточной ДНК, что отражает развитие системного воспалительного ответа.

Доказано, что для повышения диагностической ценности прогнозирования преждевременных родов следует использовать сочетанное определение уровня выявленных цитокинов (IL-6, IL-8) и внеклеточной ДНК (общей и фетальной): с 22 по 27 недель и 6 дней – IL-6, IL-8 и общая внеклеточная ДНК; с 28 по 31 и 6 дней – IL-6, IL-8, общая и фетальная внеклеточная ДНК; с 32 по 33 и 6 дней – IL-6, IL-8, общая и фетальная внеклеточная ДНК; с 34-36 и 6 дней – IL-8, общая и фетальная внеклеточная ДНК.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Разработаны модели, включающие клинико-anamnestические 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 (IL-6, IL-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.

### **Методология и методы исследования**

Научная работа выполнялась на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Клиническая ее часть была выполнена в акушерском отделении (заведующий – д.м.н., профессор Н.Е. Кан). Специальные методы исследования, включающие изучение общей и



фетальной внеклеточной ДНК и цитокинов (IL6, IL8) периферической крови, осуществлялись в лаборатории цитологии (заведующий – к.б.н. А.М. Красный).

Исследование включало 380 беременных женщин, которые обратились в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. На проведение данной научной работы было получено разрешение локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Все пациентки, включенные в исследование, в обязательном порядке подписывали добровольное информированное согласие.

Первый этап заключался в проведении ретроспективного когортного исследования, включающих женщин с угрожающими преждевременными родами и физиологически нормально протекающей беременностью. Стандартные методы исследования проводились в соответствии с приказом Минздрава России № 572н от 01 ноября 2012 года. Второй этап исследования включал в себя специальные методы, а именно: определение уровня общей и фетальной внеклеточной ДНК и содержания цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) в периферической крови. Забор материала проводился за 7 дней до начала наступления родов.

### **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% 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 прогнозировать 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 научного исследования, после анализа данных литературы участвовал в формулировании цели и постановке задач, в разработке дизайне исследования. Диссертантом осуществлялось обследование и ведение беременных с угрозой преждевременных родов, участие в их родоразрешении, а также ведение послеродового периода.

Автором лично проводился забор и обработка биологического материала, а также частичная интерпретация лабораторных результатов и статистическая обработка и интерпретация полученных результатов.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология, а 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.

## **Глава 1. Преждевременные роды: патогенетические аспекты, современные тенденции диагностики и прогнозирования (обзор литературы)**

### **1.1. Определение, классификация и факторы риска преждевременных родов**

Преждевременные роды (ПР), входящие в группу больших акушерских синдромов являются важной медико-социальной проблемой, требующей пристального внимания и решения со стороны различных специалистов медицинского сообщества. Высокий уровень неонатальной смертности и младенческой заболеваемости, несомненно, обуславливает необходимость непрерывного поиска путей решения данной проблемы [3, 34, 42, 50, 62, 90].

Согласно определению, преждевременными принято считать роды, которые наступили в сроки беременности от 22 полных до 36,6 недель, при этом гестационный срок устанавливается на основании следующих данных: первый день последней менструации (с учетом регулярного менструального цикла), а также показатели ультразвукового исследования (УЗИ) плода, выполненное в первом триместре [3, 43, 46, 58].

Многочисленные исследования, направленные на изучение и решение проблемы ПР не приводят к желаемому успеху, в результате чего их частота не имеет тенденции к снижению, и более того, в некоторых странах в последние несколько лет даже увеличивается [26, 36]. Статистические данные Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) свидетельствуют о том, что в развитых странах частота ПР остается примерно одинаковой и составляет 6-12% [2, 42]. В Российской Федерации количество ПР в сроке беременности 22,0-36,6 недель за 2012 год составило около 4% [42, 45]. На протяжении последних 10 лет данный показатель увеличился и в 2018 году ПР в сроке беременности 28-36 недель составили 6% от общего количества родов [6, 43]. Несмотря на положительную динамику развития квалифицированной помощи недоношенным детям, открытие современных перинатальных центров, частота неонатальной смертности продолжает оставаться стабильно высокой.

Согласно статистике, ПР в 70% случаев являются причиной ранней неонатальной и в 36% – младенческой смертности [50]. Кроме того, среди детей, родившихся преждевременно в 25-50% случаев, наблюдаются отдаленные неврологические последствия различной степени тяжести [20, 50, 90]. При ПР примерно в 13 раз чаще отмечается показатель мертворождаемости относительно физиологических родов в срок [15, 31, 43]. Процент смертности среди детей, рождённых в сроке 22,0-23,6 недели, достигает почти 98%, а среди выживших выявляется только 1% без нарушений развития нервной системы [81, 89]. В сроке 24,0-24,6 недель беременности выживаемость среди новорожденных достигает порядка 55%, однако 2/3 из них имеют неврологические дефициты [96, 98]. Рождение детей с экстремально низкой (ЭНМТ) и очень низкой массой тела (ОНМТ) связана с высокими экономическими затратами, направленными на их выхаживание. Кроме того, большой процент инвалидности среди таких детей является не только психологической нагрузкой для членов их семьи, но и социальной нагрузкой для общества, что несомненно делает данную проблему крайне важной и актуальной [28, 120, 132].

По Международной статистической классификации болезней (МКБ-10) преждевременные роды классифицируются следующим образом. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1. Преждевременные роды. МКБ-10

О60	Преждевременные роды и родоразрешение
О60.0	Преждевременные роды без родоразрешения
О60.1	Преждевременные самопроизвольные роды с досрочным родоразрешением
О60.2	Преждевременные самопроизвольные роды со своевременным родоразрешением
О60.3	Преждевременное родоразрешение без самопроизвольных родов
О47.0	Ложные схватки до 37 полных недель беременности
О42	Преждевременный разрыв плодных оболочек

В соответствии со сроками беременности преждевременные роды принято классифицировать на:

- Экстремально ранние, наступившие в сроке 22,0-27,6 недель
- Ранние – 28,0-31,6 недель
- Преждевременные роды – 32,0-33,6 недель
- Поздние – 34,0-36,6 недель
- Кроме того, принято выделять клиническую классификацию, в соответствии с которой ПР делят на:
  - Угрожающие (открытие шейки матки до 3-4 см и нерегулярные маточные сокращения)
  - Начавшиеся (открытие шейки матки  $\geq$  3-4 см и развитие регулярной родовой деятельности)
  - Активные

В соответствии с критериями ВОЗ недоношенность детей определяется по сроку рождения и массе тела новорождённых [43].

- >28 недель – крайне преждевременно
- 28,0-32,0 недель – значительно преждевременно
- 32,0-36,6 недель – незначительно преждевременно
- >1000 г – Экстремально низкая масса тела (ЭНМТ)
- >1500 г – Очень низкая масса тела (ОНМТ)
- >2500 г – Низкая масса тела (НМТ)

Различные причины развития ПР обуславливают необходимость классифицировать их в зависимости от пути возникновения. В связи с этим существует градация ПР на две категории: спонтанные и индуцированные. На долю спонтанных ПР (сПР) приходится около 70-80%, среди которых выделяют начавшиеся роды при целом плодном пузыре и отсутствие регулярной родовой деятельности с излитием околоплодных вод. Остальные 20-30% составляют индуцированные ПР (иПР), имеющие показания со стороны матери и/или плода [44, 76, 79]. Данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Причины преждевременных родов

Спонтанны ПР 70-80%	Регулярная родовая деятельность при целом плодном пузыре (40-50%)		
	Излитие околоплодных вод при отсутствии регулярной родовой деятельности (25-40%)		
Индукцированны е ПР 20-30%	Основные показания со стороны	матери	Тяжелая экстрагенитальная патология с декомпенсацией, тяжелая преэклампсия/эклампсия, HELLP синдром, внутрипеченочный холестаза беременных
		плода	прогрессирующее ухудшение состояния, врожденные пороки развития (ВПР), антенатальная гибель плода

ПР характеризуются многофакторностью и полиэтиологичностью признаков, определяющих их развитие. Инфекционно-воспалительные заболевания, молекулярно-генетические и гормональные нарушения, воздействие механических факторов и др. принято относить к причинам возникновения ПР. В тоже время наличие таких патологических состояний может быть присуще и другим осложнениям беременности, что не делает их специфичными именно для ПР [94, 100].

В современной научной литературе за последние 10 лет представлены весьма обширные данные относительно факторов риска ПР, среди которых выделяют следующие: поздний репродуктивный возраст, а также беременность, наступившая в возрасте менее 18 лет; отягощённая наследственность, низкий социально-экономический уровень, наличие вредных привычек (курение, алкоголизм, наркомания); раннее начало половой жизни и наличие большого количества половых партнеров; психо-эмоциональный статус и стресс; пороки развития матки и мочеполовой системы; наличие отягощенного соматического (артериальная гипертензия (АГ), гиподисфункция щитовидной железы, заболевания сердца, анемия,



наследственные тромбофилии, нарушение жирового обмена, высокий индекс массы тела (ИМТ)), и акушерско-гинекологического (ПР, плацентарная недостаточность, преэклампсия (ПЭ), задержка роста плода (ЗРП) в анамнезе, привычное невынашивание, высокий паритет родов) анамнеза; наступление беременности с использованием методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ); осложненное течение настоящей беременности (инфекционные заболевания различной этиологии, наличие дисбиотических нарушений во влагалище и ИППП, истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН), травмы и/или хирургические операции во время беременности, особенно на органах брюшной полости, плацентарная недостаточность, угроза прерывания во время беременности, многоводие, многоплодие, крупный плод [40, 43, 76, 96, 139].

Большое количество предрасполагающих факторов риска ПР, обуславливают разнообразие предшествующих клинических симптомов, которые, как правило, имеют адаптивный характер и обосновывают имеющиеся на сегодняшний день трудности в поиске патогенетических механизмов и диагностических предикторов данного осложнения.

## **1.2. Патогенетические аспекты преждевременных родов и роль системного воспалительного ответа в их реализации.**

В настоящее время признана полиэтиологическая природа преждевременных родов. Так по мнению ряда авторов, есть множества причин, способствующих наступлению ПР, включая поведенческие, психосоциальные, социально-демографические, генетические, влияние окружающей среды, а также медицинские и связанные с беременностью состояния. Каждый из этих путей имеет свой профиль и механизм начала родов, но в то же время, как для физиологического, так и для патологического запуска родового процесса характерны общие события, включающие активацию сократительной способности матки, изменения в шейке матки (созревание) и разрыв плодных оболочек [9, 16, 19, 34, 41]. Принято считать, что все эти изменения опосредованы простагландинами. Также

предполагается, что активация отдельных компонентов общего пути может происходить синхронно или асинхронно. В случае ПР скорее всего происходит асинхронизация отдельных компонентов, что может привести, например, к изолированной активации децидуальной оболочки и преждевременному разрыву плодных оболочек. Для выяснения патогенетических основ, обуславливающих развитие данных процессов при ПР, необходимо понимать, что является первопричиной, а также какие механизмы и биомолекулярные маркеры могут способствовать их развитию [8, 10, 12, 17, 35, 38, 97, 111, 145].

Особое внимание при изучении ПР уделяется биохимическим и клиническим изменениям, которые подготавливают, а затем вызывают сокращение миометрия. Как известно, миометрий стимулируется повышенными концентрациями простагландинов и окситоцина. Изменение количества, а также активности окситоциновых рецепторов на территории миометрия влияет на открытие кальциевых каналов в миоцитах и способствует сокращению матки [12, 54, 55, 153]. Повышенная продукция стимулирующих простагландинов внутриматочными тканями обычно считается центральным компонентом каскада событий, ведущих к ПР [123, 131].

Шейка матки также играет важную роль во время беременности, выступая в качестве защитного барьера, удерживающего растущий плод. Шейка матки состоит из эпителиального и стромального слоев. Строма в основном представлена коллагеном, внеклеточным матриксом и гладкомышечными волокнами. Наличие гладкомышечных клеток в строме может функционально способствовать сократительной функции шейки матки. При физиологическом течении беременности до второй половины третьего триместра шейка остается твердой и закрытой. Далее происходит постепенное ее размягчение. Считается, что начало родов связано с коллагенолитической деградацией цервикального внеклеточного матрикса и увеличением притока и активации иммунокомпетентных клеток, что в конечном итоге приводит к

раскрытию шейки матки и началу родов. В последние годы, появляется все больше клинических и лабораторных доказательств того, что ПР являются результатом преждевременной активации клеток шейки матки, в ответ на местные медиаторы, в качестве которых могут выступать пептидные гормоны (например, кортикотропин рилизинг-гормон (CRH)), провоспалительные цитокины (в основном интерлейкин-1, -6, -8), эндотелин и др., влияющие на продукцию веществ, стимулирующих выработку окситоцина и способствующие маточным сокращениям, а также увеличивающие экспрессию протеаз, инициирующих изменение шейки матки [33, 47, 52, 62]. Также сократительная функция может быть вовлечена в ремоделирование шейки матки и может способствовать развитию ее патологий, таких как истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН) или укорочение, которые увеличивают риск развития ПР [72, 74, 78, 84, 141].

Известно, что стероидные гормоны, такие как прогестерон, также могут влиять на развитие ПР. Прогестерон – важный гормон, принимающий участие в менструальном цикле, имплантации и необходим для поддержания нормальной беременности. Основными функциями прогестерона во время беременности считается: модуляция материнского иммунного ответа и подавление воспалительного ответа, снижение сократимости матки (адекватные концентрации прогестерона в миометрии способны противодействовать стимулирующей активности простагландинов, а также окситоцина), улучшение маточно-плацентарного кровообращения и поддержка лютеиновой фазы. Ингибирование действия прогестерона (например, введение антагониста рецепторов прогестерона – мифепристона) может привести к началу родовой деятельности [109, 131, 134]. Механизм, с помощью которого приостанавливается действие прогестерона до конца не изучен, однако выделяют несколько основных возможных причин: снижение биодоступности прогестерона за счет связывания с белком с высоким сродством; повышенная концентрация кортизола на поздних сроках беременности, который может конкурировать с прогестероном за связывание

с рецептором глюкокортикоидов; превращение прогестерона в неактивную форму внутри клетки-мишени перед взаимодействием с ее рецептором; количественные и качественные изменения изоформ рецепторов прогестерона (PR-A, PR-B, PR-C); изменения ко-регуляторов рецепторов прогестерона; функциональная отмена прогестерона через NF-κB [4, 64, 77].

Относительно новым и потенциально информативным подходом к выяснению механизмов родов и времени их наступления является исследование генома. Накоплены веские доказательства того, что генетические факторы, в основном лежащие в материнском геноме, вносят до 40% изменений в сроки рождения [32, 37, 48, 117]. Цель генетических исследований состоит в том, чтобы идентифицировать гены, ассоциированные с ПР. Однако проведение генетических исследований и поиск генотипов, связанных с ПР, не простая задача ввиду многофакторности данного осложнения. Большинство проведенных генетических исследований сосредоточено на сравнении частот полиморфизма генов-кандидатов [37, 85, 126, 159].

Принимая во внимание связь между наличием инфекционно-воспалительных процессов и развитием ПР, большой процент научных работ направлен на изучение генов провоспалительных цитокинов, среди которых большое внимание уделяют интерлейкину-1α и интерлейкину-β, интерлейкину-6, ФНО-α [30, 33, 56, 71, 106, 119, 125, 127]. Наиболее частым изменением структуры генов цитокинов считается полиморфизм единичных нуклеотидов (single nucleotide polymorphism, SNP). Генетические изменения вносят вклад в индивидуальные особенности иммунного ответа и течение инфекционных заболеваний. Эти изменения встречаются и при ПР. Большое количество SNP генов цитокинов находятся в регуляторных участках генов и непосредственно имеют влияние на их транскрипционную активность и, как следствие, концентрацию данного цитокина в плазме крови [30, 119]. Одним из наиболее новых данных является – корреляционная зависимость между SNP ФНО-α и ПР. Допустим, что замена аденина на гуанин в промоторной

зоне гена ФНО- $\alpha$  в позиции -308 (ФНО- $\alpha$ -308) приводит к повышению уровня данного цитокина, это и объясняет аномальное течение воспалительной реакции. Существование только этого аллеля, независимо от гомо- или гетерозиготности, удваивает риск ПР, а при сочетании с клиническими симптомами бактериального вагиноза (БВ) риск увеличивается более чем в 6 раз [1, 13, 21, 57]. Интерлейкин-6, второй наиболее изученный цитокин, связанных с ПР. Он считается мощным провоспалительным цитокином, как и интерлейкин-1 и ФНО, но продуцируется несколько позднее последних. Генотип GG полиморфизма -174C/G гена интерлейкина-6 у беременных также ассоциирован с ПР [73, 83, 119].

Опираясь на мнение исследователей о связи коагулопатических нарушений с развитием ПР, активно изучается роль генов системы гемостаза [87, 137]. В недавно проведенном исследовании А. И. Малышкиной и соавт. [37] были изучены однонуклеотидные полиморфизмы генов системы гемостаза (F2 G20210A, F5 G1691A, F7 G10976A, F13A1 G/T, FGB G -455A, PAI-1 -675 5G/4G, ITGA2 C807T, ITGB3 T1565C), которые определяли методом ПЦР в режиме реального времени у женщин с нормальным течением беременности и угрожающими ПР. У ряда авторов есть вывод, что генотип женщин с угрожающими ПР взаимосвязан с увеличением полиморфных вариантов генов системы гемостаза, что непосредственно может быть связано с нарушением маточно-плацентарного кровотока из-за патологической фибринолитической активности крови [37, 85]. Также в работе Ю.А. Шадева и соавт. [59], была определена связь между присутствием полиморфизма в гене ингибитора активатора плазминогена I типа (PAI-I) и развитием ПР с преждевременным разрывом плодных оболочек. Авторы показали, что ген PAI-I содержащий полиморфизм (-675 5G/4G) можно считать значимым фактором риска ПРПО. Было определено, что гетерозиготное носительство полиморфизма PAI-I в 3,6 раза увеличивает риск развития ПРПО (95%-й доверительный интервал (ДИ) 2,4–5,4;  $p = 6 \times 10^{-10}$ ), а гомозиготное в 1,7 раза (95%-й ДИ 1,1–2,6;  $p = 0,01$ ) [59].

Согласно данным литературы, патогенез ПР связан не только с генотипом матери, но и с генотипом плода. В некоторых научных работах были выявлены особенности в генотипах матерей и их детей, рожденных преждевременно. Авторами были изучены полиморфизмы ФНО- $\alpha$  (-238G/A, -308G/A), интерлейкина-1 $\alpha$  (4845G/T), IL-1 $\beta$  (-511C/T). Образцы ДНК были получены из материнской и пуповинной крови. Достоверно более высоким риском развития ПР обладали женщины, имеющие генотип ФНО- $\alpha$ -308GA, и беременные плодом с генотипом ФНО- $\alpha$ -308GG. Кроме того, у женщин с ПР и у детей, рожденных преждевременно, достоверно чаще выявлялась аллель 4845 T гена интерлейкина-1 $\alpha$ . Среди недоношенных детей достоверно чаще выявлялись полиморфизмы 4845 TT гена интерлейкина-1 $\alpha$  и 511 TT гена интерлейкина-1 $\beta$ . Последний указанный полиморфизм также был отмечен у женщин, родивших преждевременно [37, 47, 71].

Несмотря на разносторонний подход и поиск патогенетических механизмов ПР, значительное количество проведенных исследований посвящено изучению роли дисфункционального иммунного ответа, который, в большинстве случаев ассоциирован с инфекционным фактором при данном осложнении беременности [60, 66, 68, 118, 140]. Начало физиологического родового процесса сопровождается сдвигом в передаче сигналов между про- и противовоспалительными путями. Предполагается, что более поздний гестационный возраст связан с прекращением активного подавления провоспалительных сигналов и/или повышенной чувствительностью децидуальной оболочки к сигналам, способным запускать каскад воспаления с высвобождением различных биологически активных медиаторов, в первую очередь простагландинов, что приводит к началу родовой деятельности. Повышенная продукция стимулирующих простагландинов способствует созреванию и раскрытию шейки матки, а также косвенно увеличивает сократимость миометрия с доминированием фундального отдела за счет усиления регуляции щелевых контактов, рецепторов окситоцина, аргинина и вазопрессина [29, 75, 153]. Если по какой-то причине произойдет нарушение

регуляции децидуальной воспалительной передачи сигналов в более ранние сроки, это может привести к реализации ПР.

Как было указано выше, одной из причин активной индукции децидуального воспаления на ранних сроках беременности может выступать инфекция [27, 60, 140]. Кроме того, гистологические и микробиологические данные, полученные в результате ряда исследований, показывают, что очаговая инфекция и воспаление могут играть важную роль в патогенезе как сПР, так и ПРПО [80, 92]. По мнению некоторых ученых ПР связаны с внутриутробной инфекцией, развивающейся на фоне аномальной оральной и/или генитальной колонизации [127, 135].

Хронический периодонтит, который считается наиболее частым заболеванием пародонта, как правило, вызывается грамотрицательными патогенами, способными проникать в системный кровоток [13, 66, 94]. В ряде работ изучалось состояние пародонта у женщин с физиологической и осложненной беременностью. В данных исследованиях, женщины у которых произошли ПР почти в 50% случаев имели нарушение микробиома ротовой полости [135].

Бактериальный вагиноз определяется как нарушение микрофлоры влагалища и характеризуется уменьшением/отсутствием видов *Lactobacillus spp.* и чрезмерным ростом анаэробных и факультативных бактерий. Общие виды, связанные с БВ, включают: *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*, *Prevotella*, *Mobiluncus*, а также некоторые недавно идентифицированные и высокоспецифичные организмы, такие как *Atopobium vaginalis*. Кроме того, отсутствие видов, продуцирующих молочную кислоту, также предрасполагает к чрезмерному росту аэробных организмов, таких как *Escherichia coli*, стрептококки группы В и энтерококки [66, 79]. За последние годы проведено немало работ, посвящённых оценке влияния микробиоты влагалища на риск сПР. В недавно проведенном исследовании Д.Н. Кокоевой [26] также была изучена взаимосвязь между локальной воспалительной реакцией и дисбиотическими нарушениями во влагалище при ПР. В

результате были определены различные сочетания данных параметров – наличие/отсутствие дисбиотических нарушений с наличием/отсутствием локальной воспалительной реакции. Возможность терапии, направленной на пролонгирование беременности при сочетании нормоценоза влагалища без воспаления локального характера составила 81,8%; присутствие дисбиотических нарушений и отсутствие локального воспаления – 63,6%; сочетание нормоценоза с локальным воспалением – 22,2%. Самым прогностически неблагоприятным сочетанием явилось наличие дисбиоза и локальной воспалительной реакции – 7%, которое позволило отнести его к факторам высокого риска развития как сПР, так и ПРПО [57, 63]. В работе Гусейновой Г.Е. также были получены убедительные данные о том, что досрочный ПРПО сопровождается выраженными дисбиотическими нарушениями микробиоты влагалища, которые ассоциируются с условно-патогенными микроорганизмами с доминированием *Escherichia coli* и *Enterococcus faecalis* на фоне дефицита *Lactobacillus crispatus* и роста *Lactobacillus iners* [16].

Существует несколько вероятных факторов, которые могут присутствовать независимо или в сочетании, повышая риск ПР у женщин с БВ. Во-первых, микроорганизмы, связанные с БВ, могут подниматься из нижних отделов половых путей в верхние, что может приводить к хориоамниониту, сПР и ПРПО. Во-вторых, протеолитические ферменты, продуцируемые бактериями во влагалище, могут изменять проницаемость эпителия слизистой оболочки, также способствуя распространению восходящей инфекции (возможно представленную более патогенными видами). В-третьих, во влагалище и шейке матки на присутствие микроорганизмов возникает местный врожденный иммунный ответ, который является генетически опосредованным и реализуется через сеть цитокинов, хемокинов и факторов роста, что может являться ключевым моментом в развитии системного воспалительного ответа (СВО) [79, 88, 100].



Врожденная иммунная система матери играет ключевую роль на всех этапах беременности. Кроме того, клетки врожденного иммунитета преобладают в децидуальной оболочке, где они взаимодействуют с трофобластом, поддерживая рост плода [55]. В месте имплантации нейтрофилы, NK-клетки, макрофаги обеспечивают проангиогенную и провоспалительную среду, необходимую для развития децидуальных клеток и трофобласта. Во время прогрессирования беременности на границе между тканями матери и плода децидуальные врожденные иммунные клетки также активно взаимодействуют с адаптивной ветвью иммунной системы, чтобы перенести аллоантигены плода и позволить плоду расти и развиваться в матке, поддерживая иммунологическую толерантность. Децидуальная активация (высокий уровень простагландинов и провоспалительных цитокинов) считается пусковым фактором в индукции родов [11, 27, 39]. Таким образом, активация иммунных клеток инфекционными или неинфекционными триггерами может привести к нарушению гомеостатического баланса, что может играть важную роль в релизации ПР [102, 108, 115].

Согласно современным данным инфекционный генез ПР может быть обусловлен ограниченными возможностями иммунной системы, в результате которых не происходит своевременное распознавание и уничтожение чужеродных патогенов. Точный механизм, с помощью которого субклиническая (бактериальная или вирусная) инфекция может стимулировать иммунную систему, приводя к дисфункциональному иммунологическому ответу на последующее воспалительное поражение, не до конца понятен, но вероятно он включает в себя рецепторы распознавания врожденного иммунитета и их регуляторы [143, 156, 159]. Также субклиническое течение инфекционного процесса может стать причиной развития СВО. Следует отметить, что важная роль в патогенезе СВО, непосредственно в его индукции отводится тол-подобным рецепторам (TLRs). Считается, что клетки, находящиеся на границе раздела матери и плода, распознают и отвечают на чужеродные микроорганизмы через TLR и Nod-

подобные рецепторы (NLR) [155, 160]. В результате активации TLRs, происходит увеличение продукции цитокинов, хемокинов, металлопротеиназ (MMP) внеклеточного матрикса, приводящие к потере структурной целостности мембран, активации миометрия и созреванию шейки матки [53, 75].

В ходе многочисленных экспериментальных исследований было подтверждено участие TLR в инициации ПР. Среди TLRs особое внимание привлек TLR4, так как это рецептор, ответственный за распознавание основного грамтрицательного бактериального компонента, ЛПС. Не менее важное значение имеют TLR2 (распознает бактериальный пептидогликан, липотейхоевую кислоту, липопротеины и зимозан грибов), TLR3 (распознает вирусную dsRNA), TLR9 (распознает бактериальную ДНК CpG) и Nod1 (распознает бактериальный  $\gamma$ -d – глутамил-мезо диаминопимелиновая кислота) которые по-видимому также принимают участие в сложных механизмах реализации ПР [155, 160]. Исследования на мышах показали, что TLRs являются важными медиаторами бактериальных стимулов, ведущих к ПР. В частности, эндотоксины грамтрицательных бактерий связываются с TLR4, тогда как экзотоксины грамположительных бактерий связываются с TLR2. У людей TLR2 и TLR4 обнаруживаются в шейке матки, эндометрии и фаллопиевых трубах, в плаценте и в других клетках на границе раздела плод-мать, и активируются при хориоамнионите и во время родов. В результате активации TLRs происходит запуск ядерного транскрипционного фактора (NF- $\kappa$ B), который активирует транскрипцию генов цитокинов, включающих интерлейкин-6, -8 и -10, а также фактор некроза опухоли альфа (ФНО- $\alpha$ ) и трансформирующий фактор роста (ТФР) и др. [37, 47, 71].

В одном из исследований [155], была изучена роль TLR2, TLR4, TLR9 в патогенезе сПР неясной этиологии на сроке 25–33 недели беременности. Критериями включения были беременные женщины с одноплодной беременностью и угрожающими спонтанными ПР на сроках гестации 25-33 недель. Критериями исключения послужили беременные с преэклампсией

(ПЭ), плацентарной недостаточностью, инфекцией, предлежанием плаценты, сахарным диабетом (СД), пороками развития плода, преждевременным излитием вод. Методом ПЦР исследовали экспрессию TLR-клетками эпителия цервикального канала. В результате были опубликованы данные о том, что экспрессия TLR2 клетками эпителия цервикального канала у беременных с угрожающими ПР была в 3,65 раз выше, чем у беременных с неосложненным течением беременности (174,9 (132,3; 1996,3) и 48,0 (33,7; 109,1);  $p=0,027$ ), экспрессия TLR4 также была выше (70,9 (28,3; 116,9) и 53,2 (17,7; 111,3);  $p=0,072$ ). В то же время, экспрессия внутриклеточного рецептора TLR9 была несколько ниже у беременных с угрожающими ПР (58,7 (17,1; 100,4) и 76,2 (57,0; 112,6);  $p=0,12$ ). В заключении авторы сделали выводы, что даже при исключении инфекционного фактора и отсутствии очевидного воспалительного процесса во влагалище и в шейке матки в генезе сПР лежит воспалительный процесс, развивающийся в результате активации TLR.

Как упоминалось выше, изменение соотношения цитокинов отражает СВО, играя важнейшую роль в течение всего периода беременности, регулируя процессы инвазии трофобласта, межклеточные взаимоотношения в эндометрии и воспалительные реакции. Патофизиология ПР в присутствии инфекции обусловлена активацией клеток врожденного иммунитета и сопровождается высвобождением повышенного количества провоспалительных цитокинов, в основном – интерлейкин-1, -6 и -8. Дальнейшая их продукция стимулирует выработку MMP, непосредственно MMP-9, которая способствует разрушению внеклеточного матрикса и изменению шейки матки. При ПРПО аналогичные механизмы происходят в оболочках. При наличии инфекционного агента происходит массивная деградация волокон коллагена, активация MMP, продукция провоспалительных цитокинов, что может приводить к «порочному кругу» и еще большему синтезу MMP, в результате чего происходит ослабление и разрыв плодных оболочек [57, 63].

Под влиянием интерлейкин-1 происходит повышенное высвобождение ионов кальция в гладкомышечные клетки в результате чего резко увеличивается сократительная активность миомерия. Система интерлейкина-1 состоит из различных белков, включая рецепторы IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 и эндогенный антагонист рецептора IL-1 (IL-1Ra) [30, 33, 56, 71, 106, 119, 125, 127]. IL-1 $\alpha$  и IL-1 $\beta$  имеют сходные биологические эффекты и связываются с одними и теми же рецепторами, но кодируются разными генами. Активация TLR приводит к индукции нижестоящего воспалительного каскада (включая активацию NF- $\kappa$ B), что способствует выработке цитокинов. При беременности интерлейкин-1 продуцируется в децидуальной оболочке, и его уровни повышаются в присутствии микроорганизмов и бактериальных продуктов. интерлейкин-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$  повышают продукцию ферментов MMP-1, 3, 9, и катепсина S, что приводит к деградации внеклеточного матрикса. К тому же интерлейкин-1 $\beta$  снижает экспрессию тканевого ингибитора металлопротеиназ, способствуя разрушению волокон коллагена и эластина в межклеточном матриксе шейки матки [56, 71, 106]. Одной из дополнительных функций интерлейкина-1 $\beta$  является стимуляция клеток продуцировать циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2) и простагландин E2 (ПГЕ2), которые, влияя на гладкомышечные клетки шейки матки, приводят к их преждевременному созреванию [125, 127].

Интерлейкин-8 является хемоаттрактантом для нейтрофилов. При увеличении продукции интерлейкина-8 происходит миграция нейтрофилов в шейку матки и выработка клетками коллагеназы и эластазы – ферментов, участвующих в разрушении межклеточного матрикса [145, 157, 159]. В ряде исследований, выполненных R. Romero et al., было показано, что риск развития ПР был связан с увеличением уровня ФНО- $\alpha$ , интерлейкин-1 $\beta$ , -6 и -8 в амниотической жидкости [134]. Другими авторами было выявлено, что повышение уровня интерлейкина-6 в плазме крови до 8 пг/мл и выше также ассоциировалось с реализацией ПР, в отличие от женщин с уровнем интерлейкина-6 в сыворотке крови ниже 8 пг/мл [106].

Во многих работах не редко упоминается о роли интерлейкина-10 в патогенезе ПР. Интерлейкин-10 представляет собой противовоспалительный цитокин, который участвует в петле отрицательной обратной связи, чтобы ослабить воспаление. [119]. Основные источники интерлейкина-10 – лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки. Кроме того, во время беременности дополнительными источниками данного цитокина являются – цито- и синцитиотрофобласты и децидуальные мононуклеарные клетки [27]. Эндогенный синтез ИЛ-10 в тканях плаценты может иметь физиологическое значение в индуцированных инфекцией ПР из-за его противовоспалительной роли в дезактивации макрофагов и ингибировании их LPS-индуцированного синтеза воспалительных цитокинов. Механизмы, с помощью которых интерлейкин-10 может задерживать начало ПР, все еще являются предметом дискуссий и могут включать снижение местной выработки провоспалительных медиаторов и синтеза простагландинов [11, 30, 32].

В последнее время считается, что местный иммунный ответ, который характеризуется увеличением клеточных и растворимых медиаторов воспаления в шейке матки, миометрии, децидуальной оболочке, а также системная воспалительная реакция матери инициируются внеклеточной фетальной ДНК (cffDNA). Считается, что cffDNA происходит из плаценты в результате гибели клеток, вероятно, в результате апоптоза при нормальной беременности или некроза во время осложненной беременности в слоях синцитиотрофобласта и цитотрофобласта. Известно, что ее концентрация увеличивается с середины и до конца беременности, а самые высокие показатели регистрируются во время родов [27]. В некоторых исследованиях было показано, что существует положительная связь между циркулирующей cffDNA и неблагоприятными исходами беременности, такими как ранняя и поздняя ПЭ, ЗРП, а также ПР. Однако прогностическая ценность cffDNA в материнском кровотоке остается спорной. В некоторых клинических исследованиях, в которых количественно определили уровни cffDNA в кровотоке у женщин, родивших преждевременно, и в срок, показали связь

между ПР и более высокими уровнями cffDNA во 2, 3 триместре и в начале симптомов ПР. [14, 23, 72, 95]. В некоторых исследовательских работах есть данные о том, что циркулирующая cffDNA у мышей вызывает воспалительную реакцию, которая приводит к сПР. При этом прослеживалась активация TLR-9 и повышение уровня интерлейкина-6 [133].

Достаточно интересным подходом в области изучения ПР считается исследование провоспалительных факторов митохондриального происхождения (mtDAMPs). В некоторых исследованиях была показана роль mtDAMPs в патогенезе привычного выкидыша, а также ранних ПР. Так Булатова Ю.С. и соавт. [11], в своем исследовании доказали развитие избыточной воспалительной реакции с участием mtDAMPs, препятствующей нормальной инвазии трофобласта и реализации осложнений беременности, включая ПР.

Исходя из вышеизложенного, с высокой долей вероятности можно сказать, что дисфункциональный иммунный ответ, который имеет многоуровневый характер и обладает крайней сложностью причинно-следственных связей, является фактором высокого риска развития ПР. Тем не менее молекулярные триггеры и механизмы, которые лежат в основе активации иммунных путей, связанных с индукцией ПР, достаточно нехорошо изучены. Для изучения этих сложных взаимосвязей необходимо приложить дополнительные усилия к междисциплинарным подходам, охватывающим дисциплины репродуктивной биологии, инфекционных заболеваний и иммунологии. Такие комбинированные подходы позволят провести подробный механистический анализ биологических процессов на стыке беременности, инфекции/воспаления, иммунологии и их взаимосвязанных и клинически значимых осложнений. Фактически, использование таких подходов к углубленному анализу иммунологических процессов и клеточных и молекулярных механизмов, лежащих в основе индукции родов (доношенных или преждевременных), может привести к открытию новых терапевтических

средств, направленных на снижение заболеваемости и смертности, связанных с ПР [5, 7, 65, 86, 107, 110].

### **1.3. Диагностические и прогностические критерии преждевременных родов**

Прогнозирование и диагностика ПР является актуальной и нерешенной задачей в области акушерства. Неспособность предсказать наступление ПР или проводить профилактические мероприятия для их предотвращения в значительной степени возникает из-за ограниченного понимания причинно-следственных связей, которые могут отражать раннюю активацию нормальных механизмов родов или отдельные патологические воздействия, которые нарушают обычные механизмы определения времени наступления родов. Выявление достоверных предикторов, которые с достаточной точностью могли бы идентифицировать развитие ПР, позволили бы своевременно проводить профилактические мероприятия и улучшить акушерские и перинатальные исходы [103].

Известно, что клиническими признаками угрожающих ПР могут являться схваткообразные боли внизу живота и поясницы, малоболезненные и нерегулярные сокращения матки, ощущение давления во влагалище или малом тазу, выделения слизи из влагалища, которые могут быть прозрачными, розовыми или слегка кровянистыми и др. Однако, ориентироваться на данные симптомы при прогнозировании ПР достаточно сложно и некорректно ввиду их возможной субъективности. На сегодняшний день для возможного прогнозирования ПР принято учитывать имеющиеся факторы риска, проводить оценку динамических изменений состояния шейки матки, а также использовать различные биохимические маркеры [39, 70, 93, 95].

Формирование групп пациенток с высоким риском развития сПР основывается прежде всего на выделении клинико-анамнестических факторов [101, 104]. В 2020 г. Teresa Cobo et al. [76], представили обзор, в котором авторам удалось обобщить имеющиеся данные современной научной литературы и классифицировать основные, значимые факторы риска ПР на

три группы: демографические, акушерские и гинекологические, а также факторы риска, связанные с текущей беременностью.

Демографические показатели:

возраст матери старше 35 лет, расовая и этническая принадлежность, низкие и высокие показатели ИМТ, курение, материнский стресс, низкий социально-экономический статус.

Акушерско-гинекологические показатели:

преждевременные роды в анамнезе, а также рождение самой матери преждевременно, самопроизвольные выкидыши и кюретаж матки, шеечные факторы, связанные с хирургическими манипуляциями (конизация или трахелэктомия), укорочение длины шейки матки и пороки развития матки.

Показатели, связанные с текущей беременностью:

кровотечение в I и II триместрах, пороки развития плода, многоплодная беременность, инфекционные заболевания, хориоамнионит [29, 105].

Аналогичные данные были получены и отечественными коллегами, которые в результате проведенного сплошного продольного клинико-эпидемиологического исследования, включающего 1417 беременных женщин, выявили 25 факторов риска, угрожающих ПР, среди которых наиболее существенными были: беременность в результате ЭКО, угрожающие ПР в анамнезе, лейомиома матки, угрожающий аборт и ПР в анамнезе, бесплодие [40]. Также в опубликованных клинических рекомендациях МЗ РФ «Преждевременные роды» от 2022 г. [43] к наиболее значимым факторам риска развития ПР были отнесены: аборты и индуцированные ПР (иПР) в анамнезе у пациентки, ПР у матери пациентки, поздний репродуктивный возраст, патология шейки матки, аномалии развития матки у пациентки, синдром внезапной детской смерти ранее рожденных детей, данная беременность, наступившая при помощи ВРТ, многоплодие в данной беременности, кровотечения на ранних сроках данной беременности, мочеполовые инфекции [43].



Важно отметить, что существует четкая дифференцировка ПР на две большие категории: сПР, являющиеся наиболее сложными в плане прогнозирования и диагностики, и иПР, происходящие по медицинским показаниям (наличие тяжелой экстрагенитальной патологии, акушерские и фетальные осложнения). В последнее время в научной литературе встречаются публикации, указывающие на необходимость уточнения подтипов ПР [59, 89]. Дополнительное исследование обстоятельств, связанных с родами, может предоставить информацию относительно основной возможной этиологии ПР. Определения фенотипа различаются между исследованиями, и некоторые из них включают переменные, традиционно считающиеся «факторами риска» (например, материнский стресс), с целью группирования женщин, у которых с наибольшей вероятностью будет схожая основная этиология ПР [25, 103].

Учитывая вышеизложенное, можно сделать вывод, что основательный анализ клинико-anamnestических данных является важным и необходимым этапом, который помогает выявить женщин с высоким риском развития ПР. Однако полиэтиологичность данного осложнения обуславливает низкую предсказательную возможность оценки факторов риска для прогнозирования ПР, что требует использования дополнительных прогностических маркеров [62, 108, 123, 142, 145].

Отдельно следует выделить важность прогнозирования преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО) при ПР, на долю которого при доношенном сроке беременности приходится около 10%, в то время как, при недоношенной беременности их процент может достигать до 50% от всех сПР [16, 19, 33, 34, 57, 59]. Многочисленные исследования доказывают, что ведущим фактором риска ПРПО является мочеполовая инфекция, вызванная облигатными и/или факультативными (дисбиоз/бактериальный вагиноз) микроорганизмами [1, 13, 57]. Риск развития ПРПО может зависеть от конкретного возбудителя, в связи с чем, важной задачей является его идентификация. Классическим методом выявления

бактериальной микробиоты является аэробно-анаэробный посев. Этот метод широко используется для диагностики БВ или любой другой инфекции мочевыводящих путей. Однако его основными ограничениями является длительность проведения и невозможность применения в отношении всех бактерий, поскольку некоторые из них трудно или невозможно культивировать [66]. Наиболее доступным методом является микроскопическое исследование, которое позволяет оценить интенсивность воспалительной реакции во влагалище и определить индекс воспаления, то есть соотношение лейкоцитов к клеткам эпителия. Однако данный метод также имеет ряд ограничений и не дает возможности определить ряд возбудителей. Также для оценки состояния микробиоты влагалища используются молекулярные методы, которые включают в себя количественную полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР–РВ), позволяющую с высокой точностью выявить и определить абсолютное количество микроорганизмов, и комплексно оценить состояние микробиоты влагалища. Данный метод имеет высокую чувствительность и специфичность, а также дает возможность максимально быстро получать результаты, по сравнению с культуральным методом.

В настоящее время можно секвенировать весь микробный геном, в частности бактериальный геном, путем амплификации гена 16S рРНК. Ген 16S рРНК является высоко консервативной областью между различными бактериями. Используя специфические праймеры, прикрепленные к консервативной области гена 16S рРНК, можно амплифицировать интересующий сегмент и идентифицировать на филогенетическом уровне, какое семейство бактерий доминирует в микробиоте человека [94].

Наиболее информативным показателем наступления ПР принято считать изменения состояния шейки матки [72, 78, 95, 116]. Степень зрелости шейки матки в клинической практике оценивается по модифицированной шкале Бишопа [43]. Зрелой считается шейка матки с оценкой более 10 баллов, что является одним из предикторов самопроизвольного начала родовой

деятельности. При оценке по данной шкале от 0 до 6 баллов шейка матки считается незрелой. Е.Н. Bishop выделил изменения в шейки матки, которые могут способствовать развитию ПР [124]. Однако, при беременности, которая протекает физиологически, без угроз, шейка матки отмечается длинной, плотной по консистенции и закрытой, а изменения в виде размягчения и укорочения происходят лишь под влиянием простагландинов и гормонов, непосредственно перед родами, поэтому данные вагинального исследования часто могут быть субъективными. Так в исследовании Е.П. Черепяхина и соавт. [58], было показано, что зрелость шейки матки при очень ранних ПР составила  $8 \pm 0,07$  (Me=7; Min-Max=7-11) баллов, при ранних ПР –  $8,55 \pm 0,07$  (9; 7-11) баллов, при ПР –  $9,27 \pm 0,07$  (9; 7-11) баллов, при поздних ПР –  $9,72 \pm 0,09$  (9; 7-13) баллов. В среднем зрелость шейки матки при ПР составила  $8,87 \pm 0,04$  (9; 7-13) баллов, что было достоверно меньше, чем в группе контроля –  $10,82 \pm 0,08$  (11; 7-13) баллов ( $p < 0,05$ ). Таким образом, авторы показали, что у женщин с ПР зрелость шейки матки была прямо пропорциональна сроку беременности ( $r=0,96$ ).

Для истинного начала родовой деятельности, как правило, характерны изменения шейки матки, включающие расширение области внутреннего зева, укорочение, размягчение и централизацию шейки матки. Следует подчеркнуть, что данные изменения при начавшихся ПР происходят в течение нескольких часов, что отличает их от процесса созревания шейки матки, которое происходит в течение нескольких дней или даже недель [129, 138].

Трансвагинальное ультразвуковое исследование (УЗИ) на сегодняшний день считается золотым стандартом, с помощью которого мы можем оценить состояния длины шейки матки после 16-20 недели гестации [39]. Согласно клиническим рекомендациям [43] длина шейки матки  $\leq 25$ мм до 34 недель беременности является прогностическим фактором ПР. В 20 недель беременности длина шейки матки  $\leq 25$ мм ассоциирована с повышением риска ПР в 6 раз. До 34 недель при одноплодной беременности определение длины

шейки матки  $\leq 25$  мм имеет чувствительность 76%, специфичность – 68%, прогностическая ценность положительного результата (PPV) – 20% и прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) – 96% для диагноза ПР соответственно. [144]. В итоге проспективного исследования, включающего почти 3000 беременных женщин, у которых измеряли длину шейки матки методом цервикометрии, было установлено, что имеется взаимосвязь между длиной шейки матки и риском развития ПР [124]. Укорочение шейки матки до 25 мм между 16 и 24 неделями гестации считается самым сильным независимым фактором риска самопроизвольных ПР до 35 недель у женщин без ПР в анамнезе с одноплодной беременностью (ОР: 6,9; 95% доверительный интервал [4,3; 11,1]) [147]. В таких случаях риск ПР составляет 25-30%. У беременных, имевших ранее ПР, этот показатель увеличивается до 35% [84]. Если длина шейки матки составляет меньше 15 мм, вероятность развития ПР возрастает до 50% [111].

Прогнозирование и диагностика ПР с помощью лабораторных исследований позволяет наиболее точно определить этиопатогенетические факторы, что может значительно улучшить тактику ведения пациенток с данным осложнением беременности [35, 55]. В настоящее время разработаны диагностические экспресс-тесты, используемые для диагностики ПРПО. В их основе лежит определение специфических белков, которые можно обнаружить при ПРПО. Среди наиболее известных тест систем можно выделить ПАМГ-1 (плацентарный альфа-микроглобулин-1), лежащий в основе теста AmniSure, тест на плодовый фибронектин (FFN) и ПСИФР-1 (протеин-1 связанный инсулиноподобный фактор роста), лежащий в основе теста Actim PROM.

фПСИФР-1 производится децидуальными клетками. При приближении срока родов плодная оболочка начинает отделяться от децидуальной, в результате чего небольшое количество фПСИФР-1 начинает попадать в цервикальное отделяемое. Положительный результат данного теста свидетельствует об угрозе ПР [80, 113, 148]. Данный тест высоко специфичен

и может применяться с 22й недели беременности. Отрицательный результат предсказывает, что роды не произойдут в ближайшие 2 недели. Пороговое значение в Актим Партус тесте установлено таким образом, что самая низкая обнаруживаемая концентрация фПСИФР-1 в экстрагированной пробе составляет 10 мкг/л. Эта концентрация расценивается как слабо положительный результат. Если проба содержит более 30 мкг/л фПСИФР-1, то результат считают явно положительным [80]. В исследовании George Uchenna Eleje at al. [83] было показано, что использование комбинированного теста определения интерлейкина-6 (IL-6) в сочетании с фПСИФР-1 является точным тестом для прогнозирования сПР при угрозе ПР при одноплодной беременности [1].

ПАМГ-1 представляет собой небольшой белок, образованный децидуальными клетками и высвобождающийся в амниотическую полость в течение всей беременности. Данный белок обнаруживается в высоких концентрациях в амниотической жидкости и в низких концентрациях в нормальных выделениях из влагалища. Тест с определением ПАМГ-1 также можно использовать для быстрой оценки риска ПР. Тест необходимо проводить у беременных с угрозой ПР и целыми плодными оболочками. Дилатация шейки матки не должна превышать 3 см. Сроки проведения – 7-14 дней с момента сбора цервико-вагинального отделяемого. Выполнение теста допускается с 20 до 36,6 недель гестации. В исследовании В.М. Болотских и В.Ю. Борисовой [9] было проанализировано 49 случаев угрожающих ПР. Всем женщинам был выполнен тест на определение ПАМГ-1. Также была проведена цервикометрия. При длине цервикального канала  $\leq 1,5$  см в 100% случаев тест был положительный, при этом в 75% случаев произошли ПР. При длине цервикального канала от 1,5 до 3 см только в 1 случае результат теста оказался положительным. Авторы сделали вывод, о том, что определение ПАМГ-1 в сочетании с цервикометрией является методом для определения возможности амбулаторного лечения угрожающих ПР [9]. Г.Б. Дикке утверждает, что по результатам клинических исследований, опубликованных

в англоязычной и отечественной литературе в открытых базах данных, определено значение и эффективность биохимических тестов для диагностики высокого риска ПР. Для диагностики ПР определение ПАМГ-1 имеет высокие показатели чувствительности, более 80%, и специфичности – более 90%. Таким образом определение ПАМГ-1 наиболее эффективно по сравнению с другими методами, такими как FFN, фПСИФР-1 или измерение длины шейки матки. Кроме того, использование тест-набора ПАМГ-1 является экономически выгодным [17].

Безусловно, ПР связаны не только с материнскими и плацентарными факторами. Все больше данных свидетельствует о роли плода в инициации ПР [146]. Ввиду этого, в прогнозировании ПР особый интерес представляет изучение диагностической значимости маркеров плодового происхождения, среди которых более интересным представляется определение миоглобина в периферической крови, амниотической жидкости и FFN в цервикальном содержимом. Вышеуказанные биохимические маркеры также могут выполнять функцию пускового фактора в возникновении родов [99].

В результате централизации кровообращения плода появляется плодовый миоглобин, сопровождающейся редукцией кровотока в его скелетной мускулатуре и стимулируя синтез простагландинов плодными оболочками, это может способствовать началу родовой деятельности.

FFN – это гликопротеин внеклеточного матрикса, который обнаруживается в амниотических мембранах, децидуальной оболочке и цитотрофобласте [75]. FFN считается одним из информативных биохимических маркеров, определяемых в цервико-вагинальном содержимом до 36 недель беременности, который может быть связан с риском реализации сПР. Таким образом, FFN традиционно использовался в качестве качественного бинарного теста, который дает положительный или отрицательный результат на основании порогового значения 50 нг/мл. Эффективность FFN в прогнозировании сПР была оценена в нескольких

популяциях, включая женщин с подозрением на ПР и женщин без симптомов [112].

Вышеописанные тест-системы имеют ряд преимуществ в большей или меньшей степени, однако среди их общих минусов можно выделить наличие только диагностической возможности ПР. в настоящее время требуется новые подходы и разработка предиктивной панели, с целью своевременного выявления и проведения лечебно-профилактических мероприятий данного осложнения беременности [114, 121, 122].

Многочисленные исследования показали, что генетическая изменчивость влияет на риск ПР [128, 136]. К сожалению, исследования ПР на гены-кандидаты в значительной степени трудно воспроизвести, и некоторые результаты неодинаковы для разных популяций. Расовые и этнические различия в частотах аллелей в геноме могут влиять на расовые различия в ПР. Исследования пар смешанной расы показали, что вероятность ПР увеличивается по мере увеличения доли генов чернокожих, причем наибольшее влияние оказывает генетический вклад матери [112, 136].

Известно, что интенсивность воспалительной реакции также находится под генетическим контролем. Поскольку воспаление часто называют этиологическим фактором сПР, вопрос о том, имеют ли они генетическую предрасположенность в случае патологического воспаления, давно интересовал исследователей. Одна попытка, иллюстрирующая эти принципы, оценила влияние материнского генотипа интерлейкина-6 на rs1800795. В исследование было включено 1165 женщин с ПР и 3830 условно здоровых беременных, родивших в доношенном сроке. В стратифицированном анализе генотип CC был защищен от ПР среди американцев европейского происхождения (OR = 0,68, 95% CI: 0,51–0,91), но не наблюдалось явного эффекта у афроамериканцев (OR = 1,01, 95% CI: 0,72–1,33) [130]. В другом крупном исследовании 1536 SNP было обнаружено, что 7 генов, участвующих в воспалении, внеклеточном ремоделировании и передаче клеточных сигналов, связаны с недоношенностью у афроамериканских женщин. Самая

сильная связь была обнаружена с геном протеинкиназы С-альфа (PRKCA) [75, 83].

В недавно проведенном исследовании В.Л. Тютюнника и соавт. [56] был изучен профиль экспрессии генов в клетках соскоба из цервикального канала у беременных женщин с угрожающими ПР с целью разработки тест-системы прогноза реализации ПР. У всех беременных женщин методом фемофлор была проанализирована структура микробиоценоза влагалища и с помощью метода ПЦР в режиме реального времени с обратной транскрипцией было определено соотношений уровней мРНК генов TLR4, CD68, TNF, GATA3, IL1b, IL10, IL18, TNFa, TLR4, B2M в цервикальном канале. Авторам удалось определить достоверное снижение уровня экспрессии мРНК гена TLR4 ( $p < 0,05$ ) при развитии ПР. Была построена математическая модель с помощью бинарной логистической регрессии, определяющая вероятность развития ПР на основании уровня экспрессии генов TLR4 и IL10. При вероятности большей или равной 15% ожидается развитие ПР в ближайшие 7 дней. Площадь под ROC-кривой составила 0,822,  $p = 0,01$ , где чувствительность и специфичность в точке отсечки составили 100 и 57%. В результате проведенной работы были сделаны выводы, что в качестве предиктора развития ПР может быть использовано соотношение уровней мРНК генов TLR4/IL10 [56].

Особое значение в патогенезе ПР отводится роли системного воспалительного ответа (СВО) и оксидативного стресса в связи с чем активно изучаются возможные маркеры, связанные с их развитием [144]. Малоновый диальдегид (МДА) является маркером перекисного окисления жиров и оксидативного стресса. Каталаза – фермент, который катализирует разложение образующегося в процессе биологического окисления пероксида водорода на воду и молекулярный кислород, а также окисляет в присутствии пероксида водорода низкомолекулярные спирты и нитриты. Содержится почти во всех организмах. Участвует в тканевом дыхании. Существуют исследования, в которых изучали взаимосвязь между развитием ПР и определением уровня малонового диальдегида и активности каталазы. Так в



проведенном исследовании М.Ю. Высоких и соавт. [12], определяли диагностическую значимость уровня малонового диальдегида и активности при угрожающих ПР или при их реализации. Всего было обследовано 112 беременных. Пациентки были разделены на три группы: I – 36 пациенток, у которых произошли роды в течение 7 дней после обследования (срок беременности 22–36 недель), II – 42 пациентки с угрозой ПР с последующим родоразрешением в доношенном сроке и III – 34 женщины, с нормально протекающей беременностью и родами в срок. Отмечалось повышение активности каталазы в плазме крови в группах с угрозой и/или ПР. Концентрация МДА была статистически значимо выше при ПР относительно группы III в 22–27 недель. Авторы предположили, что такие результаты отражают компенсаторные реакции в организме беременной, направленные на снижение продукции активных форм кислорода каталазой при угрожающих ПР. В случае снижения активности данного фермента происходит нарушение системы регуляции продукции активных форм кислорода, которые могут свидетельствовать об истощении адаптационных ресурсов матери и плаценты. Авторы сделали заключение, что повышение уровня МДА и снижение активности каталазы могут являться негативными прогностическими признаками при угрозе ПР [12].

Еще одним интересным и перспективным направлением в диагностике и прогнозировании больших акушерских синдромов, в том числе и ПР является роль внеклеточной ДНК плода (cff-DNA). В обзорной статье Грачевой М.И. и соавт. [14], был проведен анализ современной научной литературы, в котором удалось найти 84 источника, посвященных изучению cff-DNA и ее связи с ПР. Авторами был сделан вывод, что cff-DNA является новейшим перспективным биомаркером, который применяется при изучении различных состояний в акушерстве, в частности в пренатальной диагностике и при осложненном течении беременности. Его легко обнаружить с помощью полуколичественной ПЦР с таргетным геном SRY. Высвобождение cff-DNA происходит благодаря механизму апоптоза клеток трофобласта, хотя

последние исследования *in vivo* подтверждают существование дополнительных механизмов. Повышение уровня cff-DNA может быть использовано для прогнозирования развития осложнений беременности и обладает большой ценностью в области пренатальной диагностики и диагностики наиболее распространенных осложнений, так как предшествует появлению клинических симптомов. Гестационный возраст является фактором, определяющим повышение уровня cff-DNA в ответ на патологическое состояние, а изменения уровня cff-DNA при осложненной беременности могут быть использованы в дальнейшем для определения потенциального прогностического и диагностического применения данного биомаркера [14].

В исследовательской работе А.О. Карапетян и соавт. [23], была проанализирована концентрация внеклеточной ДНК (оДНК) и ее фракций в плазме крови на разных сроках беременности с учетом возможного влияния индекса массы тела (ИМТ) женщины, анемии беременных, массы плода и плаценты. В периферической крови женщины в промежутках 11–14, 24–26 и 30–32 недели была определена концентрация оДНК, ДНК плода (пДНК) и ДНК матери (мДНК). Уровень оДНК был оценен количественной ПЦР путем определения концентрации гена RASSF1A, уровень пДНК – путем определения гиперметилованной части RASSF1A гена. Концентрация внеклеточной оДНК и мДНК существенно не изменялась в течение беременности по данным исследования. пДНК была сравнительно стабильна до половины срока гестации (в среднем  $1265,11 \pm 577,51$  ГЕ/мл в 11–14 недель и  $1309,09 \pm 561,01$  ГЕ/мл в 24–26 недель) и в значительной степени возрастала во второй середине беременности. Уровень внеклеточной ДНК и ее фракций не менялся в зависимости от ИМТ женщины, массы плода и плаценты. При анемии беременных концентрация мДНК составила в среднем  $12362,33 \pm 5533,22$  ГЕ/мл и была достоверно меньше, чем у здоровых женщин (в среднем  $15268,49 \pm 5973,43$ ) ( $p < 0,05$ ). Ряд авторов сделали вывод, что полученные ими данные доказывают изменение концентрации внеклеточной

ДНК в динамике беременности и это следует учитывать при прогнозировании ее осложнений [23].

Есть данные, которые указывают, что увеличение уровня пДНК в крови матери может быть использовано, как прогнозирующий маркер ПР. Усиление апоптотических, некротических и воспалительных процессов в плаценте является наиболее вероятным механизмом повышения пДНК в крови матери. Тем не менее, не все исследования подтверждают взаимосвязь развития ПР с повышением концентрации пДНК. Скорее всего противоречия обусловлены применением нескольких методик определения пДНК, которые уменьшают выборку по полу и резус фактору. Кроме того, нет единого мнения о сроках, с которых начинается увеличение ее концентрации, также не изучено влияние конфаундеров. Плодовая фракция внеклеточной ДНК в материнской крови является многообещающим маркером прогнозирования ПР, однако необходимы дальнейшие исследования с использованием методик, не ограничивающих выборку и с учетом факторов, которые влияют на концентрацию внеклеточных фрагментов пДНК в крови матери [82, 92, 106, 126, 133, 149].

## Глава 2. Материалы и методы исследования

### 2.1. Материалы исследования

Данная исследовательская работа выполнялась на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН Г.Т. Сухих). Клиническая ее часть со стандартными методами исследования осуществлялась в одном из акушерских отделений Центра (заведующий – д.м.н., профессор Н.Е. Кан). Специальные методы исследования были проведены в лаборатории цитологии (заведующий – к.б.н. А.М. Красный). Период выполнения исследования с 2016 года по 2019 года.

Работа состояла из двух этапов. Первый этап – ретроспективное исследование, включающее анализ клинико-anamnestической характеристики, особенности течения беременности и ее исходов у 380 женщин, которые наблюдались в научно-поликлиническом отделении и были родоразрешены в акушерских отделениях ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В соответствии с полученными данными клинико-лабораторного обследования, поставленным диагнозом и разработанными критериями включения в исследование, беременные женщины, которые участвовали в исследовании были разделены на 2 группы:

I – основная (преждевременные роды на сроках от 22 до 36 недель 6 дней беременности) – 176 женщин. Основная группа делилась на 4 подгруппы:

подгруппа 1 – экстремально ранние ПР – 22-27 недель 6 дней беременности – 38 женщин,

подгруппа 2 – ранние ПР – 28-31 недель 6 дней беременности – 36 женщин,

подгруппа 3 – преждевременные роды – 32-33 недель 6 дней беременности – 32 женщин.

подгруппа 4 – поздние преждевременные роды – 34-36 недель 6 дней беременности – 70 женщин.

И группа II – сравнения, включающая 204 женщин с физиологическим течением беременности и своевременными родами.

Для поиска диагностических маркеров и неинвазивных предикторов данного патологического состояния был проведен второй этап исследования. Забор крови проводился за 7 суток до родов.

Основную группу I составили 92 беременные женщины с ПР, а группу II – сравнения – 107 пациенток. Основная группа и группа сравнения были также подразделены на 4 подгруппы с учетом развития сроков реализации преждевременных родов. (Рисунок 1).

Учитывая, что сочетанное определение фетальной и общей внеклеточной ДНК с цитокинами проводилось впервые при преждевременных родах, для получения нормативных показателей была выделена группа пациенток в сроке от 37 до 40 недель беременности.

Критерия включения в исследование:

- Одноплодная беременность при сроке от 22 – 40 недель
- Возраст беременных от 18 до 45 лет
- Информированное согласие на участие в исследовании

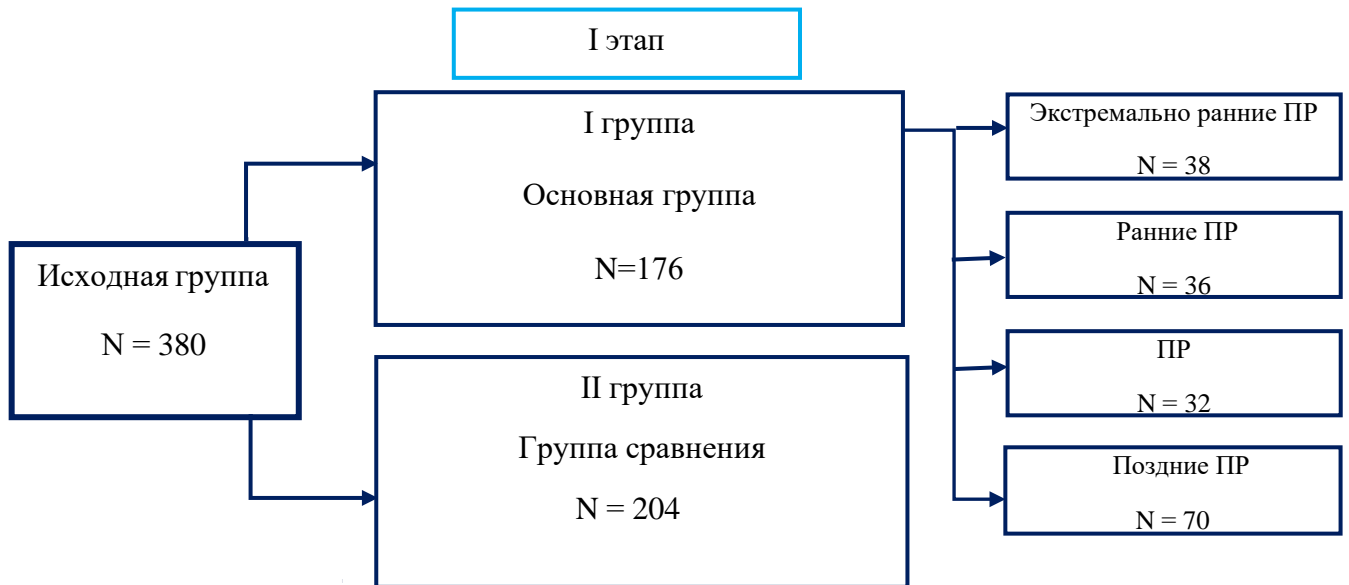
Критерии исключения:

- Преждевременное излитие околоплодных вод.
- Многоплодная беременность
- Врожденные пороки развития плода
- Тяжелая преэклампсия (ПЭ).
- Декомпенсированная плацентарная недостаточность
- Тяжелая экстрагенитальная патология
- Беременность, наступившая в результате ВРТ

Все беременные, предварительно ознакомившись с целью и методами исследования, дали письменное согласие на участие в научно-исследовательской работе.

Все женщины, включенные в исследование, прошли стандартный набор обследований. Для исполнений задач, поставленных в научной работе, проводился забор следующего биологического материала: цельная кровь, плазма, сыворотка крови.

### Ретроспективное когортное исследование



### Когортное проспективное исследование цитокинов и вкДНК в плазме крови

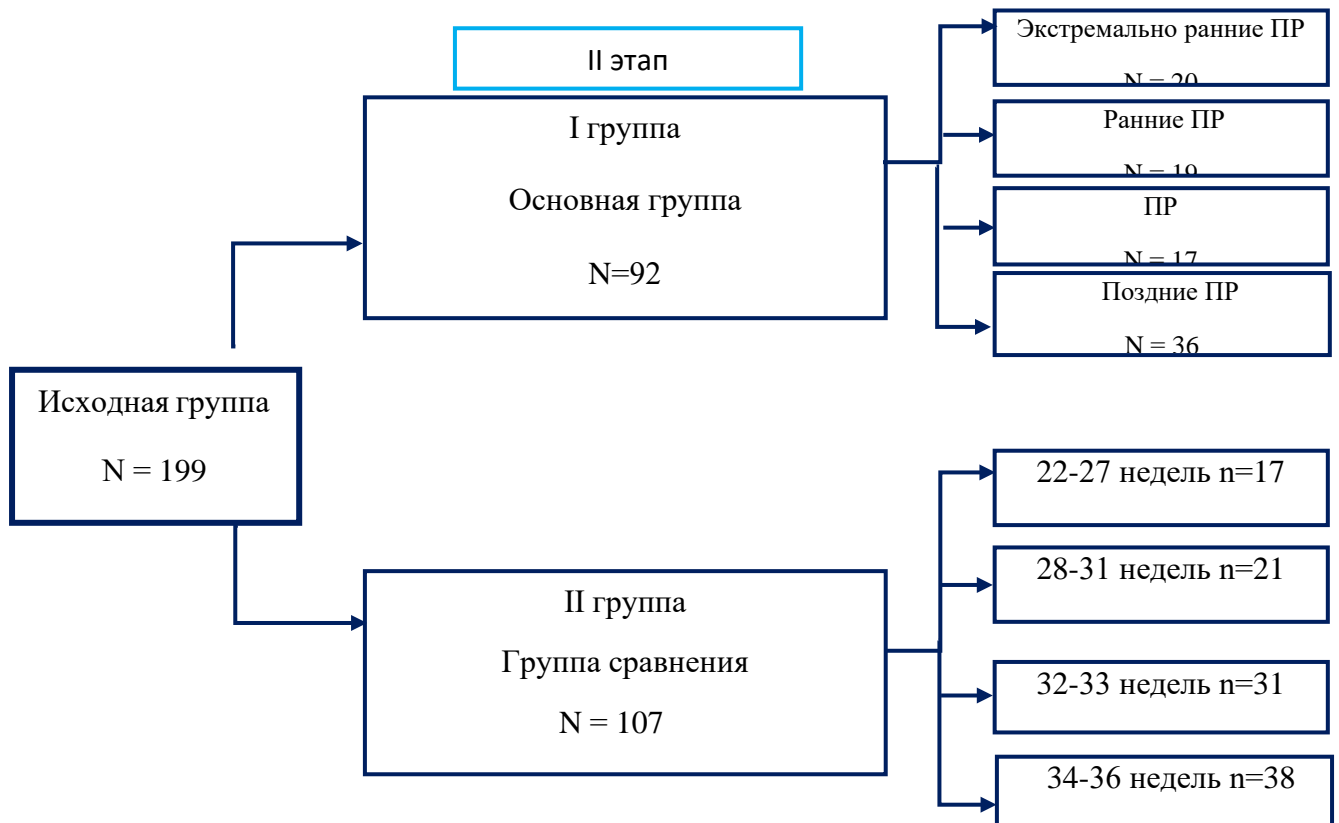


Рисунок 1. Дизайн исследования

В процессе работы были использованы общеклинические (клинико-анамнестические, лабораторные), специальные (УЗИ, доплерометрия, КТГ), иммунологические, молекулярно-генетические и статистические методы исследования, которые представлены ниже.

## **2.2. Методы исследования**

В ходе работы использовались современные высокоинформативные методы, с применением реактивов и аппаратуры ведущих фирм производителей лабораторного оборудования.

Главными принципами при выполнении исследований были:

1. Сравнение течения беременности, родов, состояния плода и новорожденного у беременных женщин с преждевременными и своевременными родами;
2. Максимально схожие друг к другу сроки исследования основных физиологических и биохимических параметров, кроме этого, проведение специальных методов исследования.
3. Использование различных методов статистической обработки для обработки и анализа полученных результатов.

В научной работе были использованы следующие методы исследования.

### **2.2.1 Общеклинические методы исследования**

Общеклинические методы исследования включали в себя тщательный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотр.

#### **Изучение клинико-анамнестических данных**

У всех пациенток при сборе анамнеза особое внимание отводилось изучению семейного и личного анамнеза. Проводили оценку массо-ростовых показателей, исходного АД (Измерение АД производилось по методу Н.С. Короткова на обеих руках в состоянии покоя (после 5-минутного отдыха) 2 раза с интервалом не менее минуты), анализировали наличие хронических

заболеваний сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной, пищеварительной и других систем органов.

При оценке факторов риска ПР учитывали наличие или отсутствие проведения предгравидарной подготовки, течение и исход предыдущих беременностей (самопроизвольные выкидыши, неразвивающаяся беременность малого срока, невынашивание беременности, ПР в анамнезе, пороки развития плода в анамнезе).

### **Изучение течения настоящей беременности**

Анализ течения настоящей беременности включал особенности развития плода по триместрам, осложнения, развившиеся у матери и плода, данные ультразвуковых и доплерометрических исследований, кардиотографии, цервикометрии. Также проводили оценку объективных показателей всех жизненно важных органов и систем.

Наружное акушерское исследование включало определение положения, предлежания, позиции плода, ЧСС и характер его двигательной активности.

Проводилась оценка наличия тонуса матки, соотношение её размеров к гестационному сроку, а также измерение окружности живота и высоты стояния дна матки. Для определения предполагаемой массы плода использовались формулы Жорданиа, Джонсона и Якубовой.

В стандартный гинекологический осмотр входило определение длины шейки матки и её консистенции, а также уделялось особое внимание на характер выделений, наличие или отсутствие высыпаний на кожных покровах и слизистой половых губ, промежности, влагалища.

### **2.2.2 Клинико-лабораторные методы**

В соответствии с требованиями приказа №572 от 01.11.2012 года всем беременным было проведено клинико-лабораторное обследование на различных сроках гестации.

Исследование включало:

- анализ крови на антитела к сифилису, ВИЧ, гепатиту В и С,



- клинический анализ крови,
- биохимический анализ крови,
- общий анализ мочи, исследование протеинурии
- гемостазиограмма,
- определение группы крови и резус фактора,
- изучение маркеров ПЭ (PLGF, sFlt-1, sFlt-1/PLGF),
- мазок на флору из влагалища и бактериологическое исследование посева из цервикального канала с определением чувствительности к антибиотикам.

С использованием стандартных компьютерных программ и реактивов осуществлялось изучение основных биохимических показателей в сыворотке крови на биохимическом анализаторе «Ультра», производства фирмы «КОНЕ» (Финляндия).

Концентрацию PAPP-A, b-ХГЧ, PlGF и sFlt-1 в сыворотке крови беременных женщин определяли с помощью электрохемилюминесцентных диагностических тест – систем Elecsys PlGF и Elecsys sFlt-1 концерна «Ф. Хоффманн-Ля Рош» (Швейцария) на автоматическом анализаторе Cobas e 411 той же фирмы.

### **2.2.3 Функциональные методы исследования**

#### **Ультразвуковое исследование**

Женщинам, включённым в исследование, проводилось ультразвуковое исследование на аппаратах экспертного класса, таких как: Hitachi HI VISION Preirus (Япония), GE Voluson E8 (США), Mindray DC-8 (КНР). Проведение ультразвукового исследования проводилось в установленные скрининговые сроки беременности, а именно: 11-14, 24-26 и 30-32 недели беременности. Исследование соответствовало стандартному ультразвуковому протоколу с изучением фетометрических показателей, включающих анатомию плода, состояние и локализацию плаценты, оценку объема и характер околоплодных вод, длину и особенности шейки матки.

### **Допплерометрическое исследование**

Допплерометрическое исследование параметров фето-плацентарного и маточно-плацентарного кровотоков в режиме пульсовой доплеровской волны во втором и третьем триместре беременности проводилось всем женщинам. Для исследования использовали аппараты экспертного класса – Hitachi HI VISION Preirus (Япония), GE Voluson E8 (США), Mindray DC-8 (КНР).

### **Аntenатальная кардиотокография**

Для пренатальной оценки внутриутробного состояния плода проводили кардиотокографическое исследование с использованием методов антенатальной и интранатальной диагностики. С помощью кардиотокографии исследовали характер базального ритма, а также вариабельность, количество акцелераций и децелераций, их характер и амплитуду. Кроме того, анализ вышеуказанных параметров проводился с учётом сократительной активности матки. Исследования были выполнены на аппаратах «УНИКОС-01» и «Sonicaid Team» (Великобритания), с использованием дополнительных параметров, включающих автоматический математический анализ кардиотокограмм в режиме реального времени.

#### **2.2.4 Специальные методы исследования**

##### **Исследование внеклеточной фетальной ДНК в плазме крови матери**

Для количественного определения внеклеточной фетальной ДНК проводился сбор образцов венозной крови беременных женщин в вакуумные пробирки, которые содержали этилендиаминтетрауксусную кислоту (ЭДТА), в объеме 5 мл. В течение 60 минут после забора биологического материала производилась обработка образцов. Выделение плазмы проходило в два этапа путем центрифугирования при 4°C: на первом этапе – в течение 10 минут при ускорении 200 g, на втором – в течение 10 минут при ускорении 4500 g. Образцы плазмы хранились при температуре -80 °C.

Выделение внеклеточной фетальной ДНК проводилось также в два этапа. Определение концентрации внеклеточной фетальной ДНК основано на

том, что в геноме плода промотор гена RASSF1A гиперметилирован, что означает, что концентрация его гиперметилированной части в крови матери будет соответствовать количеству геномных единиц внеклеточной фетальной ДНК. Первым этапом проводилось количественное определение концентрации промотора гена RASSF1A методом ПЦР для оценки уровня общей внеклеточной ДНК. В соответствии с рекомендациями изготовителя проводилось выделение общей внеклеточной ДНК из 1000 мкл плазмы с использованием магнитных частиц («Силекс», Россия). После предварительной очистки хлороформом полученную ДНК переосаждали этанолом с соосаждителем нуклеиновых кислот «Satellite Red» («Евроген», Россия) и разводили в 13 мкл воды. Для выделения гиперметилированного промотора гена RASSF1A использовалась реакция метилчувствительной рестрикции со 10 мкл раствора ДНК. В исследовательской работе использована была эндонуклеаза рестрикции BstUI («New England Biolabs», США) 60 Е (единиц активности). При температуре 60°C в течение 6 часов проводилась реакция рестрикции. При помощи хлороформа после предварительного удаления рестриктаз выполнялось осаждение ДНК этанолом и дальнейшее ее растворение в 10 мкл воды. Для регулирования рестрикции 2 мкл раствора, который был получен, использовали в реакции ПЦР с праймерами к гену АСТВ. Оставшийся раствор ДНК при отсутствии ответа использовали в реакции ПЦР с праймерами к RASSF1A. ПЦР-анализ проводился одновременно с 5 различными концентрациями стандарта ДНК, который был изготовлен с использованием магнитных частиц («Силекс», Россия). С помощью спектрофотометра «DeNovix» (США) была определена концентрация стандарта ДНК. Для реализации ПЦР был использован амплификатор CFX96 («BioRad», США). Программа ПЦР: 95 °С - 3 мин., 45 циклов: 95 °С 10 с, 60 °С, 30 с 72 °С.

### **Исследование про- и противовоспалительных цитокинов**

Определение концентрации ряда цитокинов (IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, GM-CSF, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ ) в плазме периферической крови проводили с

помощью мультиплексного метода с использованием стандартной 8-плексной тест-системы Bio-Plex Pro Human Cytokine 8-plex Assay (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 (Bio-Rad, США). Результаты обрабатывали благодаря приложению Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США). Содержание интерлейкинов представлено в пг/мл.

### **2.2.5 Анализ течения неонатального периода у новорожденных**

Детальное изучение состояния здоровья новорожденных детей считается одним из важных показателей эффективности различных методов профилактики и лечения на антенатальном этапе. У 380 новорожденных, которые были рождены в ходе работы у женщин, включенных в исследование, была осуществлена оценка раннего и позднего неонатального периода. Все дети в обязательном порядке были осмотрены неонатологом сразу после рождения. В родильном зале состояние новорожденных оценивали по шкале Апгар и проводили антропометрические измерения, включая вес, рост, окружность головы, плеч и грудной клетки. На основе кривой роста Т. Фентона (2013 год) и шкалы INTERGROWTH-21 для мальчиков и девочек оценивались постнатальные показатели веса и роста. Значения антропометрических показателей, которые находятся между 10-ым и 90-ым перцентилями считаются соответствующими гестационному возрасту. Затем изучалась динамики антропометрических показателей, течение раннего адаптационного периода, нутритивного статуса, динамики состояния новорожденных при возникновении осложнений в раннем неонатальном периоде.

### **2.2.6 Статистические методы**

Полученные результаты исследования были внесены в специально разработанные тематические карты и в электронные таблицы в приложении MicrosoftExcel. Статистическая обработка результатов выполнялась с применением статистических программ «Attestat» (Россия), «SPSS Statistics 17» и «OriginPro 8.5» (USA).

На первом этапе определяли к какой статистической шкале (номинальной, порядковой или интервальной) относятся рассматриваемые переменные. В работе встречались непрерывные и категориальные данные. Проверка нормальности распределения осуществлялась с использованием критериев Колмогорова и Шапиро-Уилка. При нормальном распределении использовали т-критерий Стьюдента. Если распределение отличалось от нормального оценивались критерии Манна-Уитни. Сравнение групп по качественным признакам проводилось с помощью точного критерия Фишера.

Для описания количественных параметров в зависимости от закона распределения определяли среднее значение, среднеквадратическое отклонение, минимальное и максимальное значения, медиану, интерквартильный интервал, для качественных данных – частоты (%). С целью определения степени взаимосвязи (корреляции) между количественными показателями рассчитывали ранговый коэффициент корреляции по Спирману. Достоверность полученных различий данных, а также выявленных корреляционных зависимостей определяли при помощи расчета вероятности ошибки –  $p$ . Согласно общепринятой в аналитической статистике терминологии при  $p \leq 0.05$  выводы считались значимыми, при  $p \leq 0.01$  очень значимыми, при  $p \leq 0.001$  – максимально значимыми. Оценка прогностической значимости исследуемых показателей проводилась по результатам ROC-анализа. Для исследования влияния различных независимых между собой переменных на развитие одного признака применялся метод регрессионного анализа (бинарная логистическая регрессия, множественная логистическая регрессия). Вероятность события определялась по формуле:  $p = 1 / (1 + e^{-z})$  где  $p$  – вероятность наступления события,  $e$  – основание натурального логарифма равное 2.718281828,  $z$  – регрессионная функция, имеющая вид:  $z = b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + \dots + b_n * X_n + a$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Глава 3. ИСХОДНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

#### 3.1. Особенности соматического и акушерско-гинекологического анамнеза беременных

Согласно целям и задачам нашего научного исследования, на начальном этапе был выполнен сравнительный анализ клинико–анамнестических данных 380 беременных женщин, которые наблюдались всю беременность и были родоразрешены в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 2016 по 2019 гг.

Были сформированы две группы:

I – основная (преждевременные роды на сроках от 22 до 36 недель 6 дней беременности) – 176 женщин. Основная группа делилась на 4 подгруппы:

подгруппа 1 – экстремально ранние-22-27 недель 6 дней беременности,

подгруппа 2 – ранние-28-31 недель 6 дней беременности,

подгруппа 3 – преждевременные – 32-33 недель 6 дней беременности.

подгруппа 4 – поздние преждевременные – 34-36 недель 6 дней беременности.

II – группа сравнения, которая включала в себя 204 женщин с физиологическим течением беременности и своевременными родами.

Все пациентки, которые участвовали в исследовании строго соответствовали критериям включения и исключения. В обязательном порядке каждая женщина подписывала информированное добровольное согласие на участие в данном научном исследовании. Клинико-лабораторное обследование пациенток проводилось в полном объеме, согласно приказам Минздрава РФ № 572н от 01.11.2012 года.

Основная группа и группа сравнения были сопоставимы по клинической характеристике. У каждой пациентки был собран тщательный анамнез, который включал в себя наследственный анамнез, аллергоанамнез и анамнез

перенесенных заболеваний и операций. Также немаловажным было изучение соматической и гинекологической патологии с оценкой акушерского статуса.

Возраст беременных женщин находился в пределах от 18 до 45 лет и составил в I подгруппе 29,0 (27,0; 31,5), II подгруппе 32,5 (30,0; 35,0), III подгруппе 33,0 (29,0; 35,3) года, IV подгруппе 30,0 (28,0; 33,5). В группе сравнения – 30,0 (28,0; 32,0) лет. При анализе распределения беременных женщин внутри подгрупп статистически достоверных различий выявлено не было. Из вывода следует, что все пациентки, включенные в исследование, в обеих группах были сопоставимы по возрасту.

Таблица 3 - Возраст и антропометрические данные обследованных женщин

	Основная группа*	Группа сравнения (n=204)	p – значение
Возраст, лет	29,0 (27,0; 31,5)	30,0 (28,0; 32,0)	0,42
	32,5 (30,0; 35,0)		0,032
	33,0 (29,0; 35,3)		0,068
	30,0 (28,0; 33,5)		0,59
Рост, см	166,0 (163,0; 170,0)	164,0 (170,0; 160,0)	0,69
	164,0 (160,0; 169,0)		0,94
	164,5 (162,0; 170,0)		0,52
	165,0 (162,5; 170,0)		0,56
Вес, кг	65,0 (64,0; 77,0)	71,0 (66,0; 75,0)	0,67
	74,0 (64,0; 82,0)		0,50
	78,0 (71,5; 84,3)		0,018
	72,0 (64,5; 78,5)		0,50
ИМТ, кг/м <sup>2</sup>	25,7 (22,9; 27,5)	25,3 (25,0; 28,0)	0,68
	27,0 (24,3; 30,1)		0,28
	29,0 (26,0; 31,0)		0,021
	27,0 (23,1; 28,4)		0,57
	<i>Примечание:</i> *первая строка – 22-27 и 6 нед. (n=38) вторая строка – 28-31 и 6 нед. (n=36) третья строка – 32-33 и 6 нед. (n=32) четвертая строка – 34-36 и 6 нед. (n=70)		

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

Анализ массо-ростовых соотношений у обследованных беременных отклонений от популяционных норм не выявил. Рост пациенток в основной I

подгруппе составил 166,0 (163,0; 170,0), II подгруппе 164,0 (160,0; 169,0), III подгруппа 164,5 (162,0; 170,0), IV подгруппа 165,0 (162,5; 170,0). В группе сравнения – 164,0 (170,0;160,0) см. Вес в основной I подгруппе 65,0 (64,0; 77,0), II подгруппе 74,0 (64,0; 82,0), III подгруппа 78,0 (71,5; 84,3), IV подгруппа 72,0 (64,5; 78,5). В группе сравнения 71,0 (66,0; 75,0) кг. ИМТ в основной I подгруппе составил 25,7 (22,9; 27,5), II подгруппе 27,0 (24,3; 30,1), III подгруппа 29,0 (26,0; 31,0), IV подгруппа 27,0 (23,1; 28,4). В группе сравнения – 25,3 (25,0; 28,0) см. Данные представлены в таблице 3.

При анализе социально экономических особенностей, которые включали уровень образования, семейное положение, наличие или отсутствие работы, условия места жительства, вредные привычки (курение, употребление алкоголя) статистических различий между группами выявлено не было.

Нами был исследован наследственный анамнез беременных женщин. Среди заболеваний у родственников первой линии у женщин с преждевременными родами чаще отмечался наследственный сахарный диабет ( $p < 0,05$ ). Особый интерес представлял изучение по срокам, в зависимости от реализации преждевременных родов. Оказалось, что при ранних преждевременных родах статистически значимо чаще выявлялись сердечно-сосудистые заболевания в молодом возрасте: 16 (44,4%) и 24 (11,8%) ( $p < 0,05$ ), тогда как наследственный сахарный диабет чаще встречался при преждевременных и поздних преждевременных родах: 8 (25,0%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ) и 20 (28,6%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,01$ ).

Изучая аллергоанамнез, нами были проанализированы следующие показатели: аллергические реакции на медикаментозные препараты, поствакцинальные осложнения, пищевая, бытовая аллергии, поллинозы. Было установлено, что достоверных различий среди исследуемых групп выявлено не было.

Ряд детских инфекций отмечался в анамнезе с одинаковой частотой в исследуемых группах и не имел статистически значимых различий.

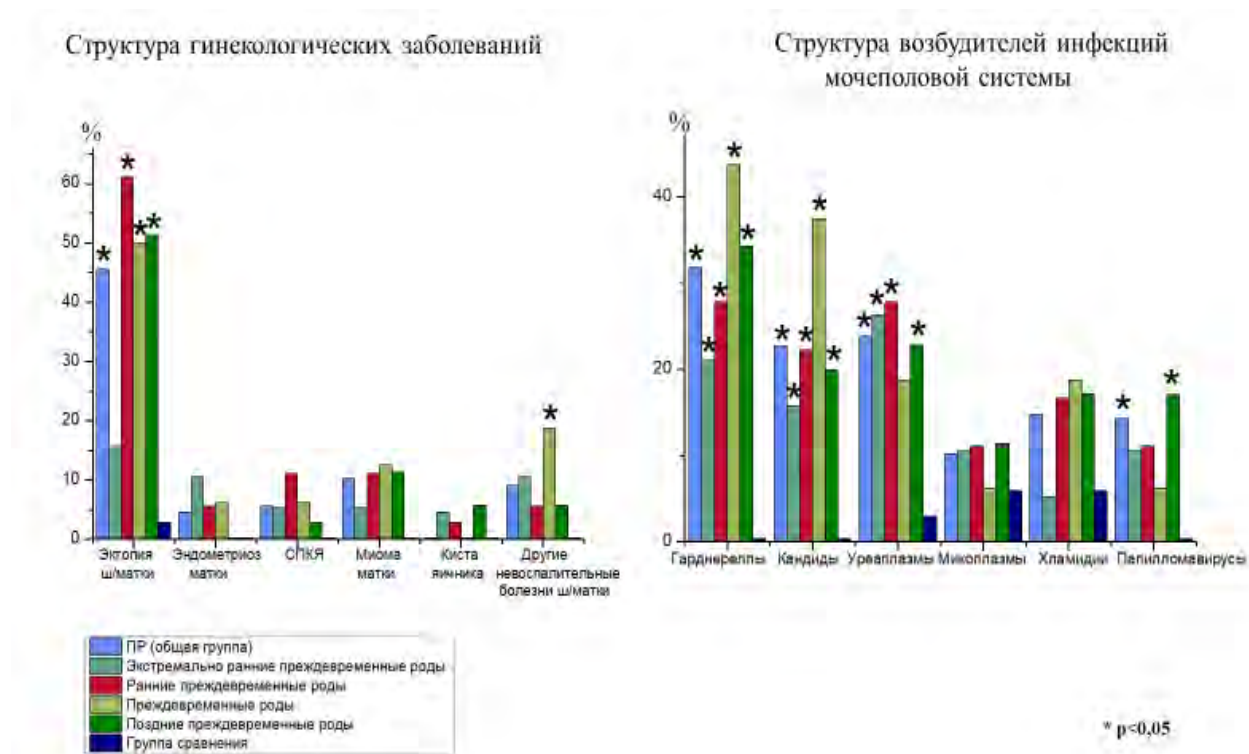


Также был проявлен интерес к анализу частоты и структуры соматических заболеваний. Данный анализ структуры заболеваний показал, что у женщин в общей группе преждевременных родов значительно чаще встречался хронический тонзиллит ( $p < 0,05$ ), тогда как у беременных основной группы I подгруппы статистически значимо чаще относительно группы сравнения выявлялись хронические бронхиты 8 (21,1%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ), во II подгруппе хронический тонзиллит 6 (16,7%) и 0 (0%) ( $p < 0,05$ ), а в III подгруппе наличие пневмоний 4 (12,5%) ( $p < 0,05$ ) в анамнезе. В целом, полученные нами данные показывают более высокую частоту заболеваний среди системы органов дыхания в основной группе относительно группы сравнения.

Затем был исследован акушерско-гинекологический анамнез для определения состояния репродуктивного здоровья женщин, участвующих в нашем исследовании. Не было выявлено достоверных различий по группам в возрасте наступления менархе и характере менструальной функции.

При анализе гинекологических заболеваний (рисунок 2) в общей группе преждевременных родов значительно чаще встречался бактериальный вагиноз, кандидозный вульвовагинит, уреоплазменная инфекция и эктопия шейки матки. Изучая структуру гинекологических заболеваний по подгруппам, мы получили следующие данные: при экстремально ранних преждевременных родах была отмечена более высокая частота встречаемости бактериального вагиноза 8 (21,1%) ( $p < 0,05$ ), кандидозного вульвовагинита 6 (15,8%) ( $p < 0,05$ ) и уреоплазменная инфекция 10 (26,3%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ). При ранних преждевременных родах встречался также бактериальный вагиноз 10 (27,8%) ( $p < 0,01$ ), кандидозный вульвовагинит 8 (22,2%) ( $p < 0,05$ ), уреоплазменная инфекция 10 (27,8%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ) и эктопия шейки матки 22 (61,1%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,01$ ). При преждевременных родах на сроке 32-33 недели и 6 дней достоверно чаще встречался бактериальный вагиноз 14 (43,8%) ( $p < 0,001$ ), кандидозный вульвовагинит 12 (37,5%) ( $p < 0,001$ ) и эктопия шейки матки 16 (50,0%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,001$ ). При поздних преждевременных

родах относительно чаще встречались следующие заболевания: бактериальный вагиноз 24 (34,3%) ( $p < 0,001$ ), кандидозный вульвовагинит 14 (20,0%) ( $p < 0,05$ ), уреоплазменная инфекция 16 (22,9%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ), вирус папилломы человека 12 (17,1%) ( $p < 0,05$ ) и эктопия шейки матки 36 (51,4%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ). При анализе таких заболеваний как синдром поликистозных яичников (СПКЯ), хронический сальпингоофорит, дисфункция придаточного аппарата различного генеза, апоплексия в анамнезе, воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТТ), наружный генитальный эндометриоз (НГЭ), аденомиоз, гиперплазия эндометрия, бесплодие II в анамнезе статистически значимых различий между группами обнаружить не удалось.



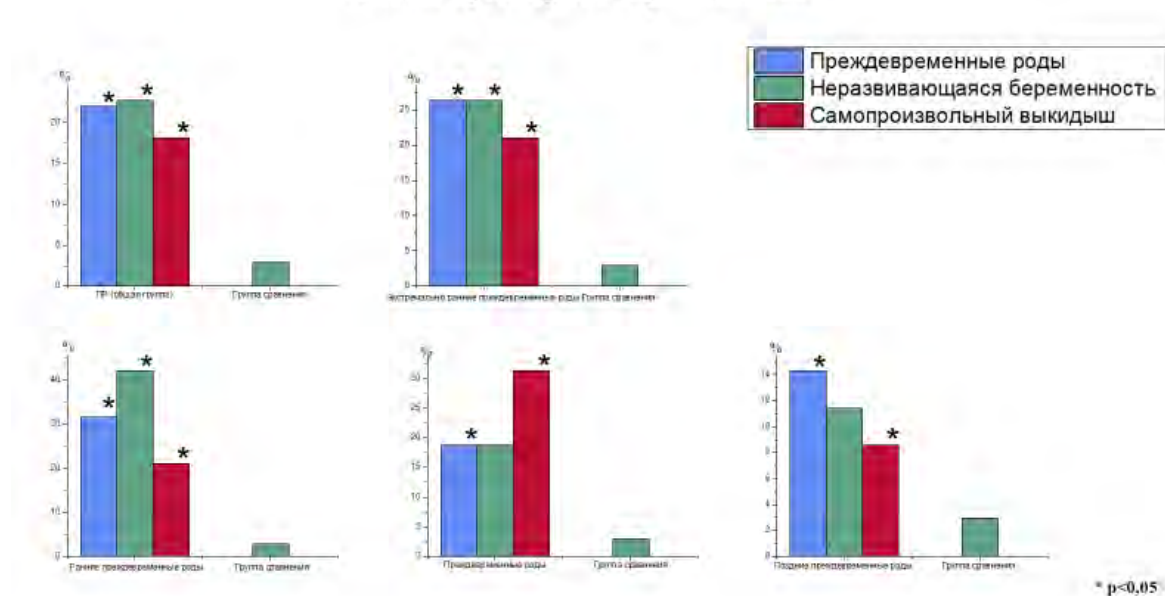
\*Достоверные различия между группами  $p < 0,05$

Рисунок 2. Структура гинекологических заболеваний

Далее был изучен акушерский анамнез, который представлен на рисунке 3. В общей группе преждевременных родов была выявлена высокая частота преждевременных родов, самопроизвольных выкидышей и неразвивающихся беременностей. В I основной подгруппе относительно группы сравнения в

анамнезе значительно чаще встречались следующие данные: неразвивающаяся беременность 12 (31,6%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,01$ ), преждевременные роды в анамнезе 10 (26,3%) ( $p < 0,01$ ) и самопроизвольные выкидыши 8 (21,1%) ( $p < 0,05$ ). Во II основной подгруппе относительно чаще группы сравнения были следующие показатели: преждевременные роды в анамнезе 12 (33,3%) ( $p < 0,001$ ), самопроизвольные выкидыши 8 (22,2%) ( $p < 0,05$ ) и неразвивающаяся беременность 15 (41,7%) ( $p < 0,001$ ). В III основной подгруппе относительно группы сравнения в анамнезе чаще встречались следующие особенности: преждевременные роды в анамнезе 6 (18,8%) ( $p < 0,05$ ), самопроизвольные выкидыши 10 (31,3%) ( $p < 0,01$ ). В IV основной подгруппе относительно группы сравнения чаще всего встречались преждевременные роды в анамнезе 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ) и самопроизвольные выкидыши 14 (20,0%) ( $p < 0,01$ ).

#### Исходы предыдущих беременностей



\*Достоверные различия между группами  $p < 0,05$

Рисунок 3. Структура акушерского анамнеза

Итак, при изучении клиничко-анамнестических данных беременных женщин, вошедших в исследование, были сделаны следующие выводы:

1. При изучении наследственного анамнеза в основной группе наследственность достоверно чаще была отягощена по сердечно-сосудистым заболеваниям и наличию сахарного диабета у родственников 1 линии.
2. Среди соматических заболеваний в группе с ПР чаще отмечались заболевания среди системы органов дыхания, такие как: хронические бронхиты, хронические тонзиллиты и наличие пневмоний в анамнезе.
3. Принимая во внимание роль инфекционного фактора в развитии преждевременных родов стоит отметить более высокую частоту встречаемости бактериального вагиноза, кандидозного вульвовагинита, уреоплазменной инфекции в анамнезе у женщин основной группы.
4. К факторам риска ПР стоит отнести преобладание в анамнезе у женщин наличие преждевременных родов, неразвивающихся беременностей и самопроизвольных выкидышей в предыдущих беременностях.

### **3.2. Прогностическая модель наступления преждевременных родов**

Для определения прогностической модели на основании изученных клинико-анамнестических факторов преждевременных родов был использован метод множественной логистической регрессии, который позволил определить оптимальные факторы риска для развития ПР, представленных в таблицах 4 и 5.

Таблица 4. Клинико-анамнестические факторы на сроках 22-31 неделя и 6 дней

	Коэффициент	Стандартная ошибка	Тест Вальда	Экспонента коэффициента
X1	-21,373	13035,5	0	0
X2	-2,453	0,711	11,887	0,086
X3	2,686	1,253	4,593	14,687
Константа	0,713	0,352	4,104	2,041

Модель была определена по формуле:

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

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.

Согласно проведенному ROC-анализу, представленному на рисунке 4, площадь под кривой составила  $AUC=0,83$ , что характеризует качество модели как «очень хорошее». Оптимальный порог (cut off) составил 0,15 при уровне чувствительности 68% и специфичности 94,1%.

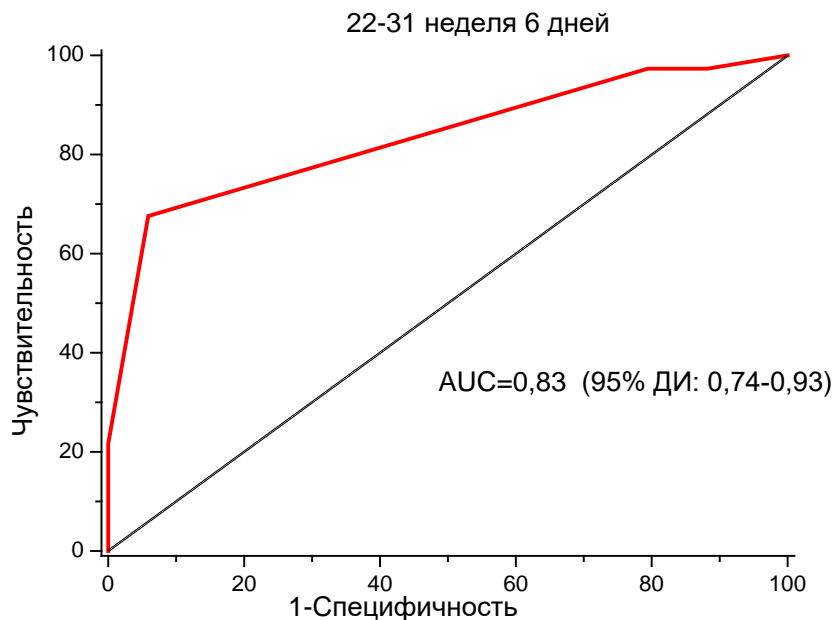


Рисунок 4. ROC-кривая прогноза развития преждевременных родов на сроке 22-31 неделя и 6 дней беременности.

Таблица 5. Клинико-anamнестические факторы риска развития преждевременных родов на сроках 32-36 недель и 6 дней беременности

	Коэффициент	Стандартная ошибка	Тест Вальда	Экспонента коэффициента
X1	-21,596	12134,352	0	4,18E-10
X2	-2,234	0,760	8,641	0,107
X3	-21,93	10259,312	4,6E-06	3E-10
X4	-21,459	15666,039	0	4,8E-10
Константа	1,946	0,535	13,253	7

Модель определена по формуле:

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

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

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

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.

Согласно, выполненному ROC-анализу, который представлен на рисунке 5, площадь под кривой составила AUC=0,9, это характеризует качество модели как «отличное». Оптимальный порог (cut off) составил 0,43 при уровне чувствительности 87,1 % и специфичности 82,35%.

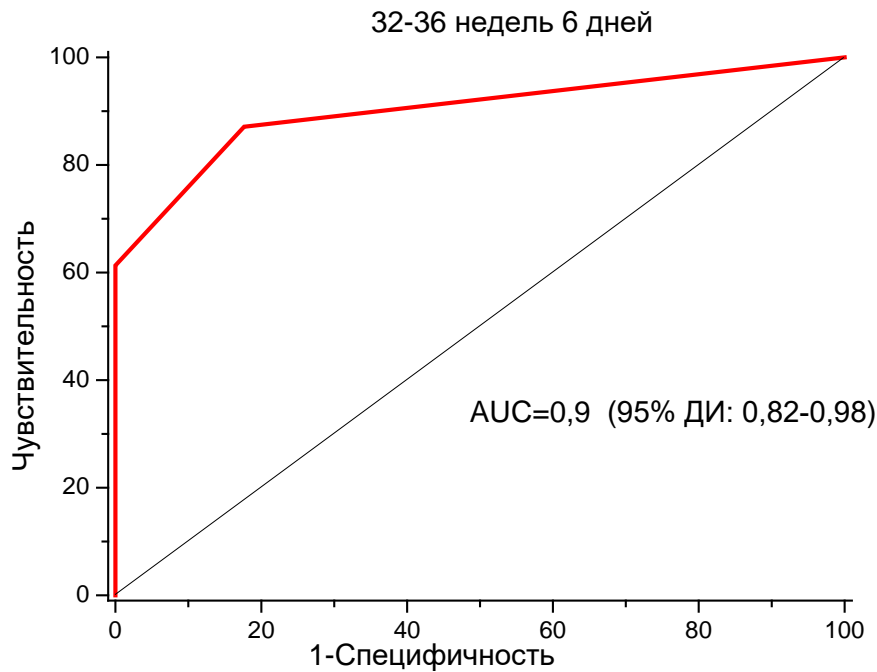


Рисунок 5. ROC-кривая прогноза развития преждевременных родов на сроке 32-36 недель и 6 дней беременности.

Для прогнозирования преждевременных родов нами были разработаны две модели «очень хорошего» и «отличного» качества, но из-за недостаточной предсказательной способности клинических факторов риска есть необходимость в проведении дальнейшего изучения дополнительных параметров, которые направлены на прогнозирование и диагностику ПР.

### **3.3. Особенности течения беременности, родов, послеродового периода при преждевременных родах**

Исходя из большого количества осложнений во время беременности, которые могут быть причинами преждевременных родов, нами была проведена оценка течения беременности у всех женщин, участвующих в исследовании.

При анализе особенностей течения беременности в общей группе преждевременных родов у пациенток в I триместре статистически значимо чаще выявлялась угроза прерывания беременности 109 (61,9%) и 32 (15,7%) с образованием ретрохориальной гематомы 100 (56,8%), а также бактериальный

вагиноз 30 (17,1%). Во II триместре беременность осложнилась угрозой прерывания 124 (70,5%) и 38 (18,6%), истмико-цервикальной недостаточностью 59 (33,5%) и острой респираторной вирусной инфекцией 88 (50%) и 45 (22%). В III триместре была выявлена высокая частота угрожающих преждевременных родов 110 (62,5%) и 32 (15,7%) относительно группы сравнения. Структура особенности течения настоящей беременности представлена на рисунке 6.

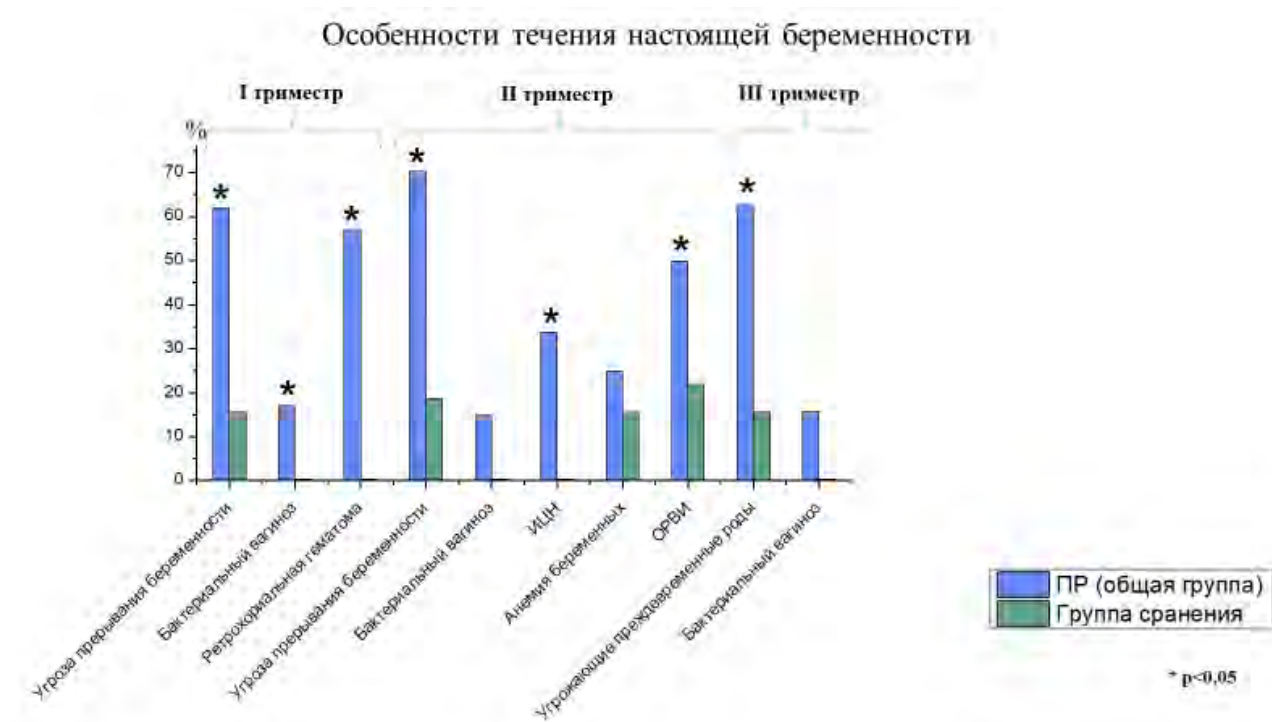


Рисунок 6. Структура особенности течения настоящей беременности

Особый интерес представлял изучение течения настоящей беременности по срокам с учетом сроков реализации преждевременных родов. В I триместре настоящей беременности статистически значимо чаще в I подгруппе основной группы отмечалась угроза прерывания беременности 18 (47,4%) и 10 (4,9%) ( $p < 0,05$ ) и бактериальный вагиноз 6 (15,8%) ( $p < 0,05$ ). Во II триместре этой же подгруппы чаще всего встречался бактериальный вагиноз 6 (15,8%) ( $p < 0,05$ ). Структура осложнений настоящей беременности данной подгруппы представлена в таблице 6.



Таблица 6. Осложнения гестационного периода у пациенток в группах исследования (n, %).

Осложнение беременности	Экстремально ранние ПР n=38 (%)	Группа сравнения n=204 (%)
Угроза прерывания беременности	18 (47,4%)	10 (4,9%)
Бактериальный вагиноз		
I триместр	6 (15,8%)	0 (0%)
II триместре	6 (15,8%)	0 (0%)

\*Статистически значимые различия между группами  $p < 0,05$

Во II подгруппе преждевременных родов в I триместре значительно чаще встречалась угроза прерывания беременности 24 (66,7%) и 30 (14,7%) ( $p < 0,001$ ). Во II триместре этой же группы значительно чаще встречалась истмико-цервикальная недостаточность 20 (55,6%) ( $p < 0,001$ ) и наложение швов на шейку матки 16 (44,4%) ( $p < 0,001$ ). В III триместре этой же группы отмечался также бактериальный вагиноз 6 (16,7%) ( $p < 0,05$ ). Структура осложнений настоящей беременности данной подгруппы представлена в таблице 7.

Таблица 7. Осложнения гестационного периода у пациенток в группах исследования (n, %).

Осложнение беременности	Ранние ПР n=36 (%)	Группа сравнения n=204 (%)
Угроза прерывания беременности	24 (66,7%)	30 (14,7%)
ИЦН во II триместре	20 (55,6%)	0 (0%)
Хирургическая коррекция ИЦН	16 (44,4%)*	0 (0%)
Бактериальный вагиноз в III триместре	6 (16,7 %)	0 (0%)

\*Статистически значимые различия между группами  $p < 0,05$

В III подгруппе преждевременных родов в I триместре значимо чаще встречалась угроза прерывания беременности 22 (68,8%) и 12 (5,9%) ( $p < 0,001$ ), бактериальный вагиноз 6 (18,8%) ( $p < 0,05$ ), а также наложения швов на шейку матки во II триместре 24 (75,0%) ( $p < 0,01$ ). Структура осложнений настоящей беременности данной подгруппы представлена в таблице 8.

Таблица 8. Осложнения гестационного периода у пациенток в группах исследования (n, %).

Осложнение беременности	ПР n=32 (%)	Группа сравнения n=204 (%)
Угроза прерывания беременности	22 (68,8%)	12 (5,9%)
Бактериальный вагиноз в I триместре	6 (18,8 %)	0 (0%)
Хирургическая коррекция ИЦН	24 (75,0%)*	0 (0%)

\*Статистически значимые различия между группами  $p < 0,05$

В IV подгруппе преждевременных родов в I триместре стоит отметить частую встречаемость угрозы прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы 40 (57,1%) ( $p < 0,05$ ). Во втором триместре этой же подгруппы встречалась анемия беременных 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ) и бактериальный вагиноз 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ). Структура осложнений настоящей беременности данной подгруппы представлена в таблице 9.

Таблица 9. Осложнения гестационного периода у пациенток в группах исследования (n, %).

Осложнение беременности	Поздние ПР n=70 (%)	Группа сравнения n=204 (%)
Угроза прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы	40 (57,1%)	0 (0%)
Бактериальный вагиноз в I триместре	10 (14,3 %)	0 (0%)
Анемия беременных во II триместре	10 (14,3%)*	0 (0%)

\*Статистически значимые различия между группами  $p < 0,05$

При сравнении метода родоразрешения в исследуемых группах была установлена более высокая частота естественных родов в каждой из групп. Основная группа: естественные роды 96 (54,5%), абдоминальное родоразрешение 80 (45,5%). Группа сравнения: естественные роды 192 (94,1%), абдоминальное родоразрешение 12 (5,9%). Данные представлены на рисунке 7.

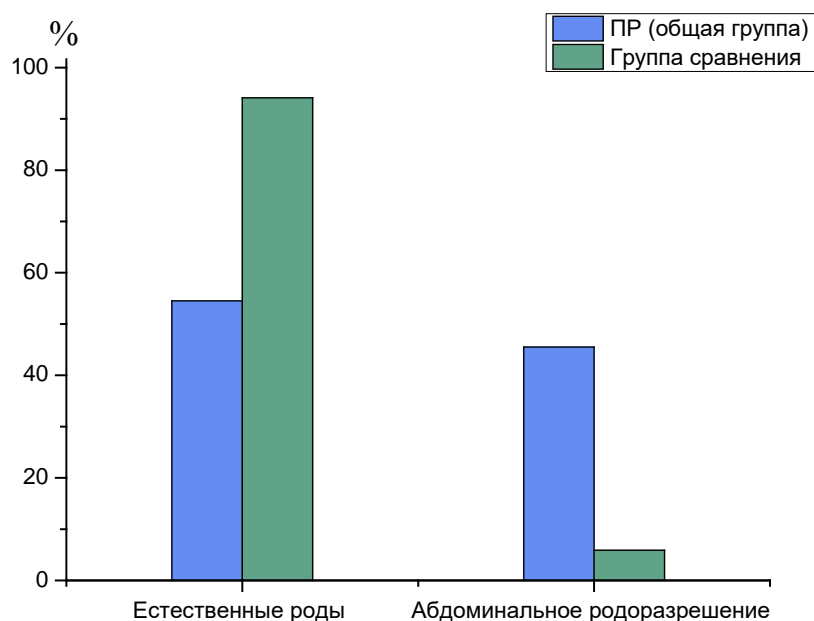


Рисунок 7. Особенности родоразрешения

При анализе частоты абдоминального родоразрешения между ПР и группой сравнения были получены статистически значимые различия 80 (45,5%) и 12 (5,9%) ( $p < 0,05$ ), по группам соответственно. Основными причинами были прогрессирующая гипоксия плода и преждевременная отслойка плаценты. Не было выявлено достоверных различий по группам по продолжительности родового акта и объему кровопотери. Данные представлены на рисунке 8.

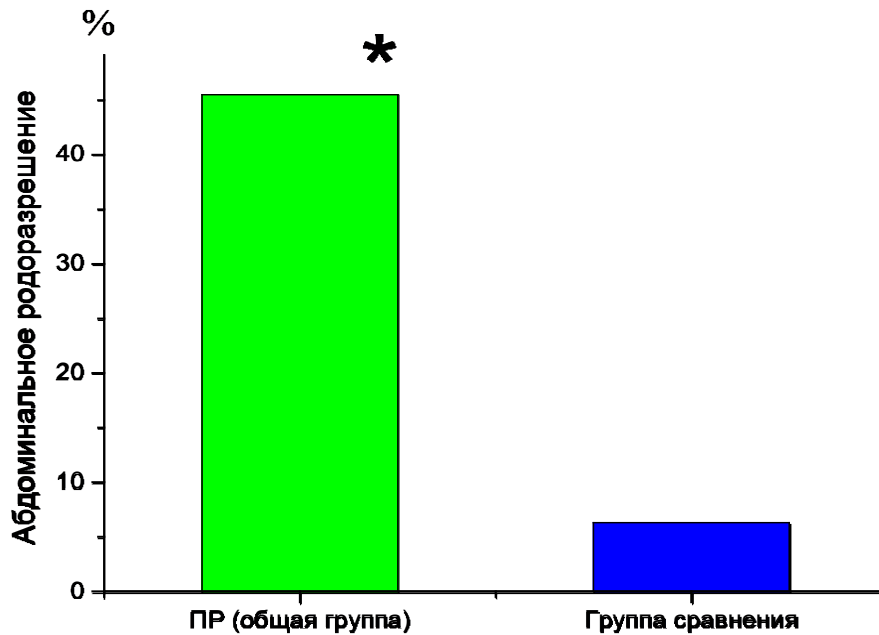


Рисунок 8. Особенности родоразрешения

Объем кровопотери с учетом метода родоразрешения в исследуемых группах не был превышен допустимой нормы. Не было выявлено особо важных различий в послеродовом периоде во всех исследуемых группах. Также в послеродовом периоде, как в раннем, так и в позднем, послеоперационных осложнений выявлено не было.

### 3.4. Течение раннего неонатального периода

При анализе неонатальных исходов нами были отмечены объяснимые статистически значимые различия массо-ростовых показателей новорожденных. Анализ определил, что в основной группе среднее значение (стандартное отклонение) массы новорожденных составило 1866,9 (777) г, рост 41,8 (6,5;) см, а в группе сравнения 3162,9 (334) г и 45,5 (5,5) см соответственно ( $p < 0,001$ ). Как мы и подразумевали, показатель массы был самым низким в группах высокого риска, где женщины были родоразрешены преждевременно. Оценка новорожденного по шкале Апгар на 1-ой минуте составила в основной группе 6 (1,8), а в группе сравнения 8 (0) ( $p < 0,001$ ), на 5-ой минуте жизни 7 (1,6) и 9 (0,3) баллов соответственно ( $p < 0,001$ ). Структура

массо-ростовых показателей и оценки новорожденных по шкале Апгар представлена на рисунке 9.

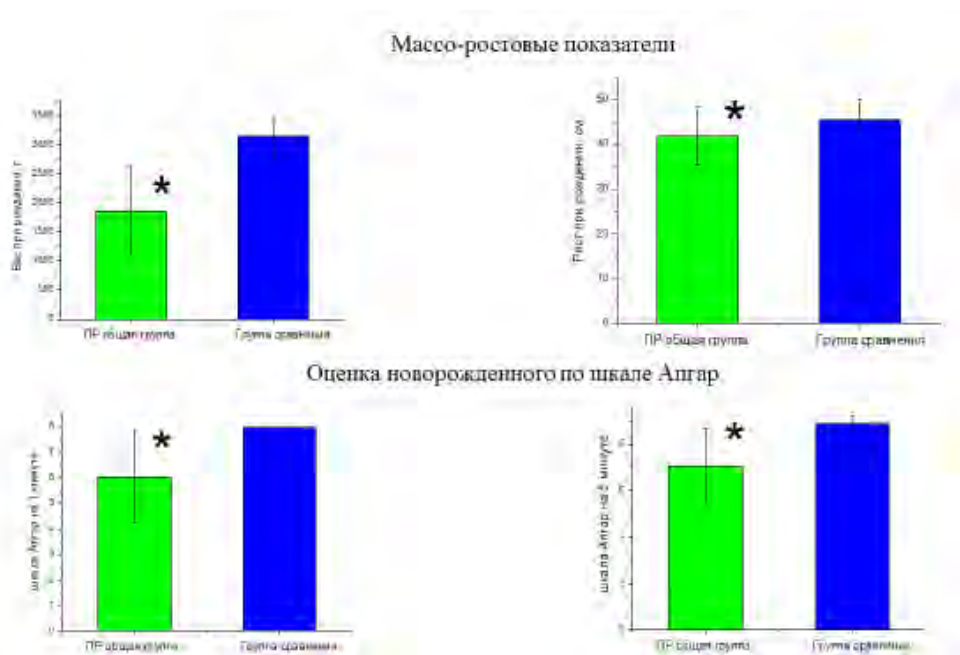


Рисунок 9. Структура массо-ростовых показателей и оценки новорожденных по шкале Апгар.

При анализе исходов родов для плода отмечалось, что общая неонатальная заболеваемость статистически выше была у новорожденных основной группы. У детей, рожденных женщинами в I подгруппе основной группы достоверно чаще диагностируется респираторный дистресс-синдром 8 (21,1%), асфиксия средней степени тяжести 4 (10,5%), врожденная пневмония 18 (47,4%), внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) I степени 18 (47,4%), экстремально низкая масса тела (ЭНМТ) при рождении 8 (21,1%) и анемия недоношенных 16 (42,1%). Также стоит отметить более высокую частоту ДВС синдрома 14 (37,0%) у детей в данной группе.

Во II основной подгруппе у недоношенных детей были диагностированы следующие патологии: респираторный дистресс-синдром 16 (42,1%), асфиксия средней степени тяжести 16 (42,1%), врожденная пневмония 26 (72,2%), очень низкая масса тела (ОНМТ) при рождении 14 (38,9%), анемия недоношенных 17 (47,1%), неонатальная желтуха 8 (22,2%), и кровоизлияния в кожу 8 (21,1%).

В III и IV подгруппах основной группы у новорожденных статистически значимо чаще была диагностирована асфиксия легкой степени тяжести и неонатальная желтуха. А также в III основной подгруппе, как и в первых двух подгруппах у детей была диагностирована врожденная пневмония и респираторный дистресс синдром.

Также нами был проведен анализ неонатальных осложнений в общей группе преждевременных родов, где статистически чаще была выявлена врожденная пневмония, респираторный дистресс-синдром, неонатальная желтуха, неуточненная асфиксия при рождении, тяжелая асфиксия при рождении и анемия недоношенных. Структура осложнений раннего неонатального периода представлена в таблице 10.

Таблица 10. Структура осложнений раннего неонатального периода

Нозологические формы	Общая группа ПР n= 176 (%)	Группа сравнения n= 204 (%)
Врожденная пневмония	57 (32,4%)*	0 (0%)
Неуточненная асфиксия при рождении	28 (15,9%)*	0 (0%)
Асфиксия тяжелой степени	32 (18,2%)*	0 (0%)
Респираторный дистресс-синдром	45 (25,6%)*	0 (0%)
Неонатальная желтуха	43 (23,9%)*	9 (4,4%)
Анемия недоношенных	45 (25,6%)*	9 (4,4%)

Анализ перинатальных исходов показал статистически значимую высокую частоту осложнений при преждевременных родах. Большой процент детей из групп преждевременных родов находились под наблюдением и получали лечение в условиях ОРИТН. В группе сравнения все новорожденные дети находились в физиологическом отделении. У недоношенных детей из группы экстремально ранние ПР отмечались наиболее неблагоприятные осложнения, обусловленные недоношенностью и требующие реанимационных мероприятий в 100 % случаев. По мере увеличения срока беременности данные показатели значительно улучшались.

## Глава 4 ИЗУЧЕНИЕ УРОВНЕЙ ЦИТОКИНОВ И вкДНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН ВО ВРЕМЯ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

### 4.1. Содержание уровней цитокинов и вкДНК в плазме крови в исследуемых группах

Интерлейкин-2 проявляет плейотропные эффекты, определяя, как провоспалительные, так и противовоспалительные функции. Интерлейкин-2 усиливает гибель цитотоксических клеток, по FasL зависимому сигнальному пути. С другой стороны интерлейкин-2 может увеличивать активность, как естественных клеток-киллеров, так и цитотоксических Т-клеток. Как видно из рисунка 10, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели наблюдается постепенный рост содержания интерлейкина-2 в крови матери со значительным увеличением в момент родов. При ПР содержание интерлейкина-2 не показывает изменений относительно группы сравнения.

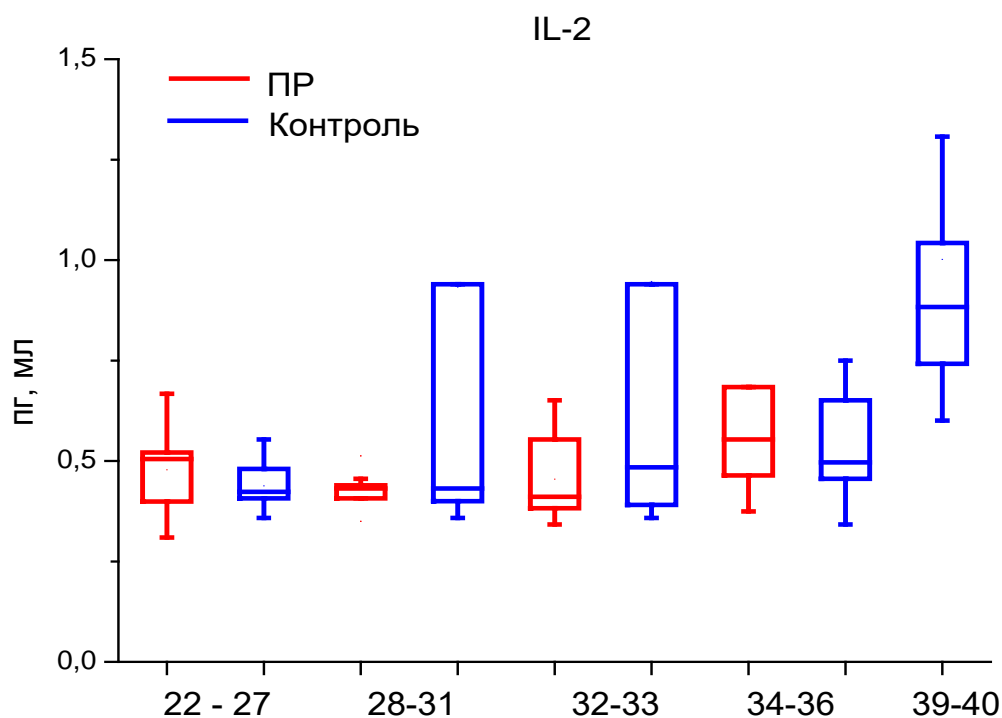


Рисунок 10. Содержание уровня IL-2 в плазме крови

Интерлейкин-4 способствует альтернативной активации макрофагов в клетки M2 и ингибирует классическую активацию макрофагов в клетки M1. В процессе беременности и родов это может приводить к значительному снижению цитотоксической активности макрофагов и способствовать малотравматичному процессу родов. Как видно из рисунка 11, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания интерлейкина-4 в крови матери со значительным увеличением в момент родов. При ПР содержание интерлейкина-4 не показывает изменений относительно группы сравнения.

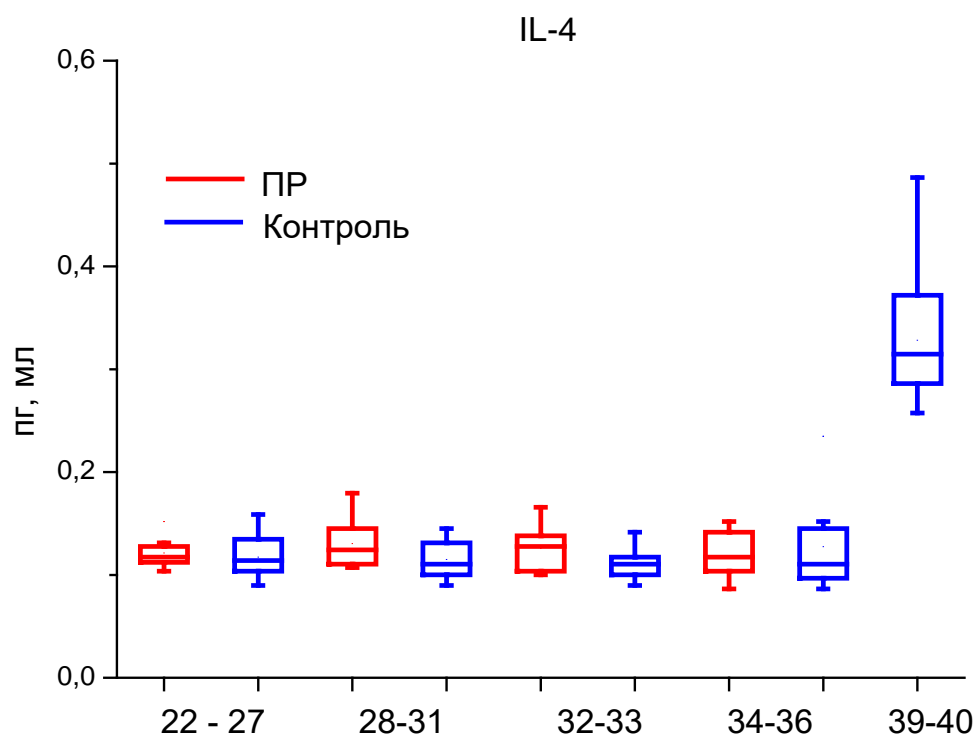


Рисунок 11. Содержание уровня IL-4 в плазме крови

Интерлейкин-6 секретируется макрофагами в ответ на специфические молекулы патогенов или патоген-ассоциированный молекулярный патерн (PAMP). Интерлейкин-6 стимулирует воспалительные и аутоиммунные



процессы и его повышение во время беременности может оказывать негативное воздействие, как на плод, так и на мать. Как видно из рисунка 12, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания интерлейкина-6 в крови матери, однако в момент родов происходит его значительное снижение. Содержание интерлейкина-6 при экстремально ранних ПР, ранних ПР и ПР было статистически значимо повышено, наиболее высокие значения наблюдались во время экстремально ранних ПР.

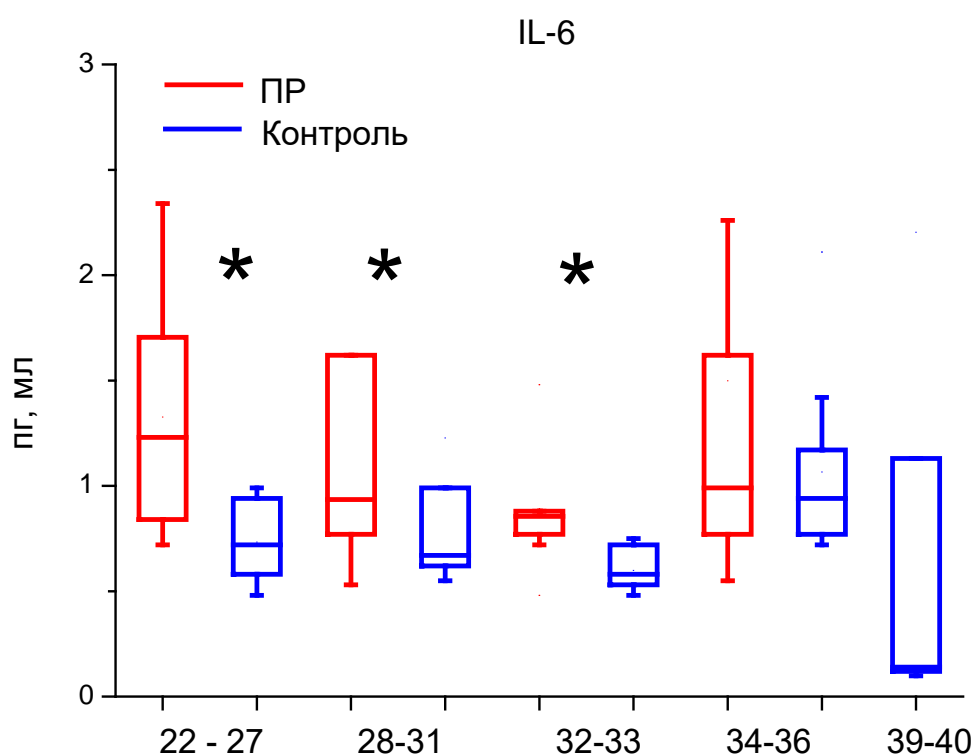


Рисунок 12. Содержание уровня IL-6 в плазме крови

Интерлейкин-8 является хемоаттрактантом для нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов и эозинофилов и при высвобождении приводит к миграции этих клеток к участку с наибольшей концентрацией интерлейкина-8. Интерлейкин-8 играет решающую роль в процессе своевременных родов. Как видно из рисунка 13, в процессе физиологической беременности, начиная с 22

до 40 недели не наблюдается изменений содержания интерлейкина-8 в крови матери, однако в момент родов происходит его значительное увеличение. Также содержание интерлейкина-8 во всех группах ПР было статистически значимо повышено.

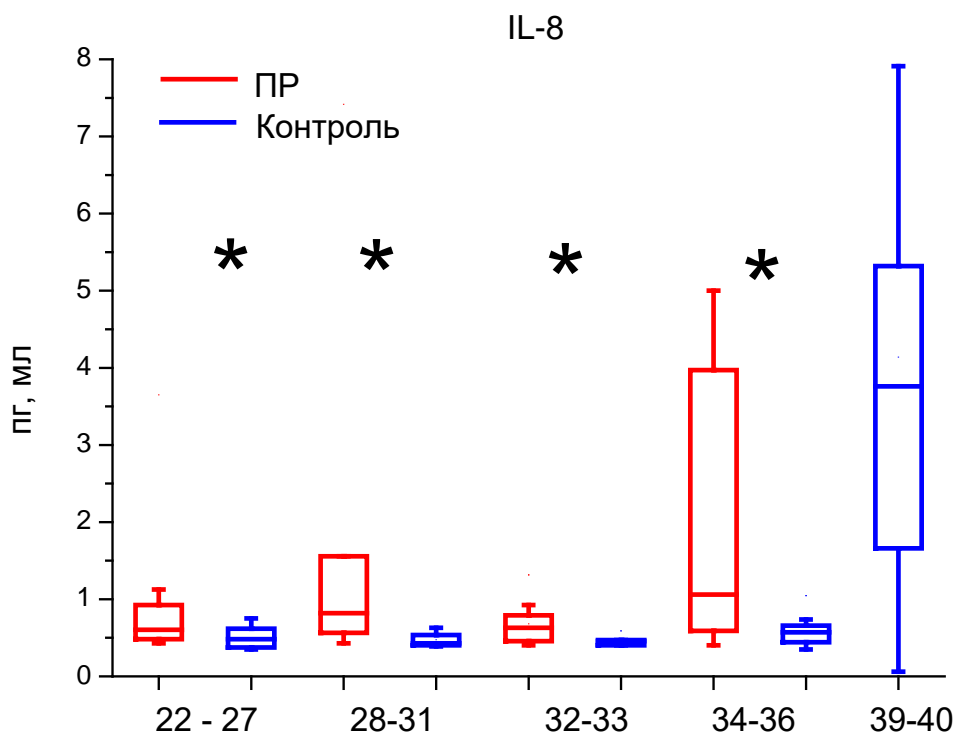


Рисунок 13. Содержание уровня IL-8 в плазме крови

Интерлейкин-10 обладает множественными плейотропными воздействиями на иммунорегуляцию и воспаление. Способен снижать активность лейкоцитов. Как видно из рисунка 14 в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания интерлейкина-10 в крови матери со значительным снижением в момент родов. При ПР содержание интерлейкина-10 не показывает изменений относительно группы сравнения.

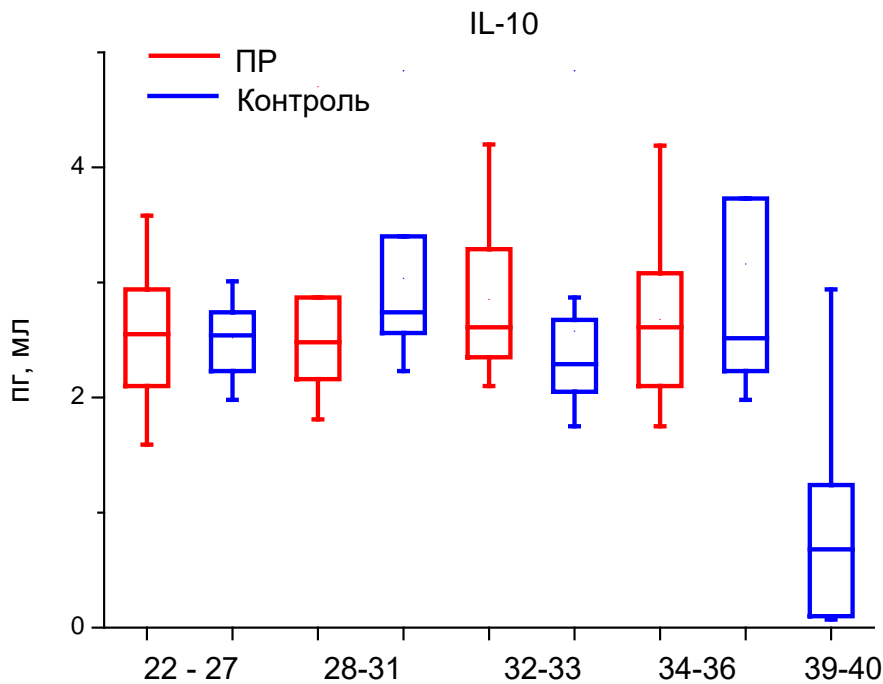


Рисунок 14. Содержание уровня IL-10 в плазме крови

Полипептидный цитокин (GM-CSF), относится к группе гранулоцитарно-макрофагальных колониестимулирующих факторов. Стимулирует рост и дифференцировку гранулоцитов, макрофагов, эозинофилов. В комбинации с эритропоэтином участвует в дифференцировке эритроцитов. Как видно из рисунка 15, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания GM-CSF в крови матери, однако в момент родов происходит его значительное увеличение. При ПР содержание GM-CSF не показывает изменений относительно группы сравнения.

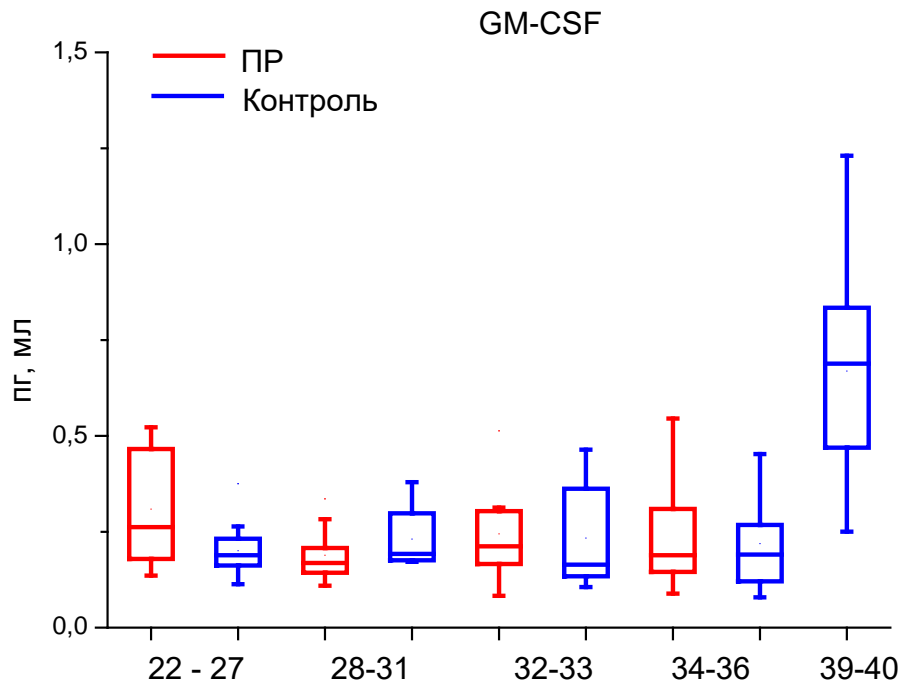


Рисунок 15. Содержание уровня GM-CSF в плазме крови

IFN $\gamma$  (интерферон гамма) является интерфероном II типа, имеет одно из важных значений для врожденного и приобретенного иммунитета против вирусных, некоторых бактериальных и протозойных инфекций. IFN $\gamma$  также является главным активатором макрофагов и индуктором экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса. Аберрантная экспрессия IFN $\gamma$  ассоциирована с рядом аутоиммунных заболеваний. Как видно из рисунка 16, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания IFN $\gamma$  в крови матери, однако в момент родов происходит его значительное увеличение. При ПР содержание IFN $\gamma$  не показывает изменений относительно группы сравнения.

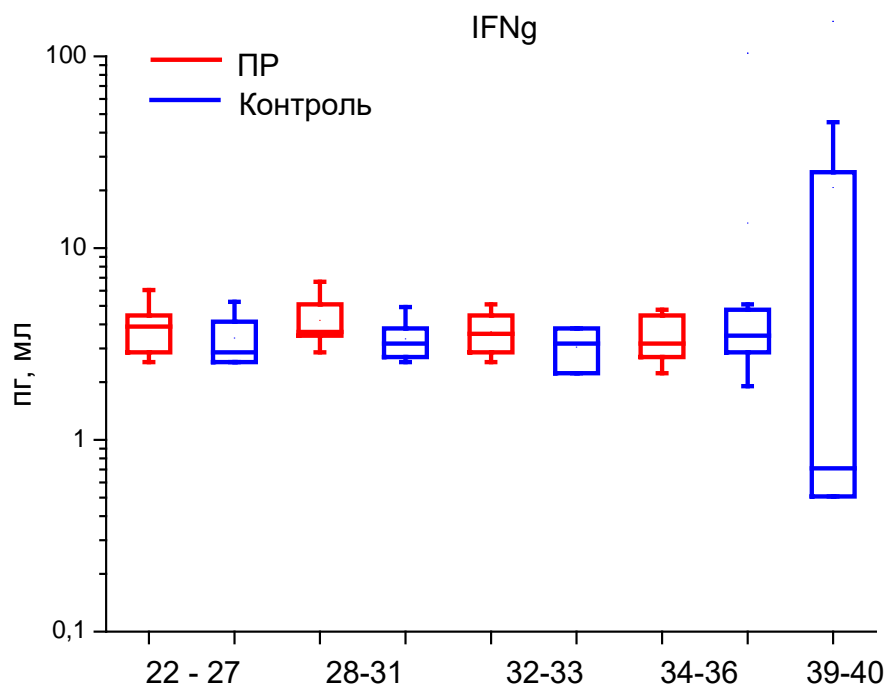


Рисунок 16. Содержание уровня IFN $\gamma$  в плазме крови

TNF $\alpha$  (фактор некроза опухоли-альфа) многофункциональный провоспалительный цитокин, синтезирующийся в основном моноцитами и макрофагами. Как видно из рисунка 17, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели не наблюдается изменений содержания TNF $\alpha$  в крови матери, однако в момент родов происходит его значительное увеличение. При ПР содержание TNF $\alpha$  не показывает изменений относительно группы сравнения.

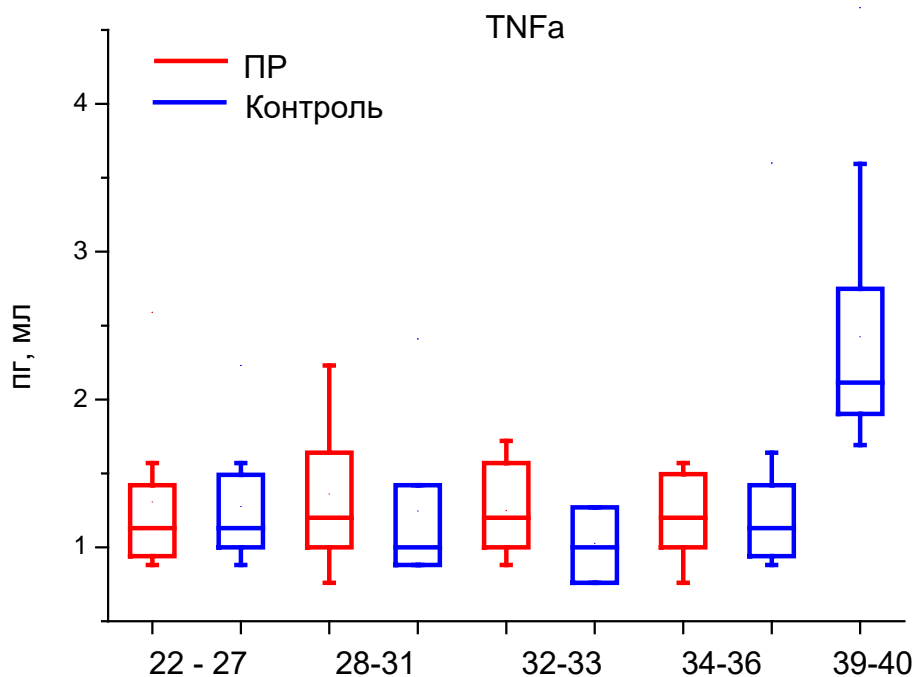


Рисунок 17. Содержание уровня TNFα в плазме крови

Таким образом, при тщательном изучении ряда противовоспалительных цитокинов были получены следующие данные: наибольшую значимость имеет определение уровня интерлейкина-6 и интерлейкина-8 для диагностики преждевременных родов в периферической крови беременной женщины. Уровень содержания данных цитокинов в крови матери статистически значимо повышается в момент родов.

Немаловажным является изучение концентраций общей и плодовой внеклеточной ДНК в материнской крови.

Источником плодовой вкДНК в плазме матери являются клетки трофобласта. Предполагается, что при разрушении клеток трофобласта при апоптозе или некрозе, плодовая вкДНК попадает в кровоток матери. Как видно из рисунка 18, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели наблюдается постепенное возрастание содержания плодовой вкДНК в крови матери. Содержание плодовой вкДНК при ранних ПР, ПР и

поздних ПР было статистически значимо повышено, наиболее высокие значения наблюдались во время поздних ПР.

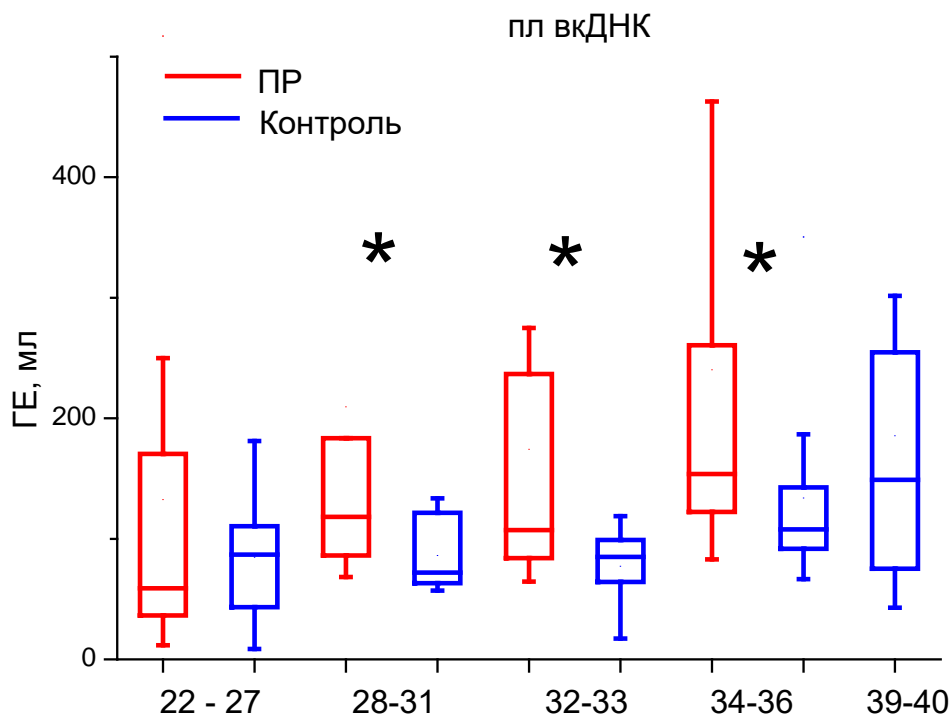


Рисунок 18. Содержание уровня плодовой вкДНК в плазме крови

Общая вкДНК представляет собой суммарную фракцию свободной материнской и плодовой ДНК. Наиболее вероятно, что основным источником общей вкДНК является эндотелий материнских сосудов. Как видно из рисунка 19, в процессе физиологической беременности, начиная с 22 до 40 недели наблюдается постепенное возрастание содержания общей вкДНК в крови матери. При ПР содержание общей вкДНК во всех группах было статистически значимо выше, кроме группы ПР 32-33 недели 6 дней.

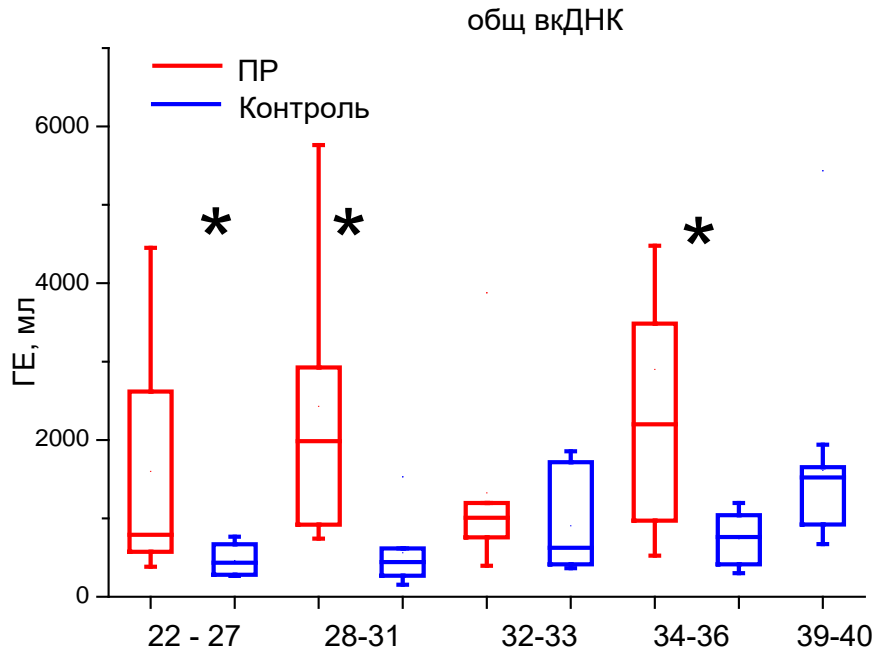


Рисунок 19. Содержание уровня общей вкДНК в плазме крови

#### 4.2. Корреляционный анализ цитокинов и вкДНК при преждевременных родах

Для выявления общих взаимосвязей при преждевременных родах четыре группы были объединены в две:

- 22–31 неделя 6 дней гестации – экстремально ранние преждевременные роды и ранние преждевременные роды;
- 32–36 недель 6 дней гестации – преждевременные роды и поздние преждевременные роды.



a										
IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	GM-CSF	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	cDNA	cfDNA	
IL-2	1									
IL-4	0,29	1								
IL-6	0,33	0,32	1							
IL-8	-0,11	-0,11	0,40	1						
IL-10	0,02	0,23	0,54**	0,49*	1					
GM-CSF	0,22	-0,29	0,02	0,15	0,25	1				
IFN $\gamma$	0,19	0,79**	0,25	-0,05	0,31	-0,13	1			
TNF $\alpha$	0,07	0,72**	0,30	-0,07	0,28	-0,42*	0,83**	1		
cDNA	-0,38	0,04	0,12	0,53**	0,24	-0,02	0,05	-0,11	1	
cfDNA	-0,39	0,13	-0,28	-0,02	-0,31	-0,21	0,15	-0,11	0,57**	1

b										
IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	GM-CSF	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	cDNA	cfDNA	
IL-2	1									
IL-4	0,45*	1								
IL-6	0,67**	0,42	1							
IL-8	0,26	0,32	0,48*	1						
IL-10	0,32	0,35	0,06	-0,03	1					
GM-CSF	0,36	-0,01	0,47*	0,10	0,25	1				
IFN $\gamma$	0,41	0,81**	0,26	0,23	0,26	-0,02	1			
TNF $\alpha$	0,44*	0,86**	0,53*	0,27	0,37	0,04	0,79**	1		
cDNA	0,28	-0,10	0,24	0,48*	0,03	0,11	-0,16	-0,10	1	
cfDNA	0,37	0,19	0,49*	0,63**	-0,10	0,52*	0,04	0,12	0,64**	1

Рисунок 20. Корреляционный анализ цитокинов и вкДНК в основной группе: а - 22–31 недели 6 дней гестации; б- 32–36 недель 6 дней гестации. \*  $P < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

a										
IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	GM-CSF	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	cDNA	cfDNA	
IL-2	1									
IL-4	-0,27	1								
IL-6	0,57*	0,12	1							
IL-8	0,11	0,63**	0,31	1						
IL-10	0,59*	0,03	0,72**	0,38	1					
GM-CSF	0,27	0,03	0,26	-0,20	0,32	1				
IFN $\gamma$	0,10	0,61**	0,21	0,64**	0,23	-0,08	1			
TNF $\alpha$	0,05	0,65**	0,30	0,60**	0,22	-0,03	0,80**	1		
cDNA	0,13	0,18	0,24	0,32	0,35	-0,05	-0,13	0,23	1	
cfDNA	0,35	-0,13	0,15	-0,16	0,15	-0,02	-0,42	-0,27	0,53*	1

b										
IL-2	IL-4	IL-6	IL-8	IL-10	GM-CSF	IFN $\gamma$	TNF $\alpha$	cDNA	cfDNA	
IL-2	1									
IL-4	0,51*	1								
IL-6	0,64**	0,86**	1							
IL-8	0,24	0,68**	0,59*	1						
IL-10	0,32	0,51*	0,46	0,49*	1					
GM-CSF	0,23	0,27	0,21	0,30	0,48	1				
IFN $\gamma$	0,44	0,72**	0,54*	0,77**	0,44	0,28	1			
TNF $\alpha$	0,15	0,77**	0,56*	0,75**	0,31	0,20	0,80**	1		
cDNA	-0,06	0,08	0,16	0,15	-0,05	-0,20	-0,09	0,31	1	
cfDNA	-0,09	0,28	0,36	0,14	-0,13	-0,27	0,15	0,33	-0,01	1

Рисунок 21. Корреляционный анализ цитокинов и вкДНК в группе сравнения: а - 22–31 недели 6 дней гестации; б- 32–36 недель 6 дней гестации. \*  $P < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ .

	IL-2												
IL-2	1	IL-4											
IL-4	0,18	1	IL-6										
IL-6	0,47	0,36	1	IL-8									
IL-8	-0,20	0,75**	0,28	1	IL-10								
IL-10	0,33	0,57*	0,19	0,61**	1	GM-CSF							
GM-CSF	0,35	0,09	0,4	0,09	0,48*	1	IFNg						
IFNg	-0,02	0,74**	0,42	0,54*	0,30	-0,13	1	TNFa					
TNFa	0,09	0,67**	0,50*	0,45	0,24	-0,08	0,93**	1	cfDNA				
cfDNA	-0,18	-0,01	0,05	0,09	-0,04	0,24	0,16	0,18	1	cfDNA			
cfDNA	0,14	-0,19	0,19	-0,12	-0,01	0,52*	-0,02	0,05	0,85**	1	cfDNA		

Рисунок 22. Корреляционный анализ цитокинов и вкДНК в контрольной группе во время родов. 37-40 недель гестации. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ .

Изучение взаимосвязей методом ранговой корреляции Спирмена показало, что интерлейкин-8 коррелирует с общей вкДНК во всех группах с ПР (22–31 неделя беременности  $r_s = 0,53$ ,  $p = 0,025$ ; 32-36 недель беременности  $r_s = 0,48$ ,  $p = 0,03$ ), и значимая корреляция с плодовой вкДНК также наблюдается на 32–36 неделях группы ПР ( $r_s = 0,63$ ,  $p = 0,001$ ) (рис.20). Корреляция между интерлейкином-8, общей вкДНК и плодовой вкДНК отсутствовала на всех сроках у женщин с нормальной беременностью (рис.21), а также в контрольной группе во время родов (рис. 22).

Данные результаты указывают на то что в периферической крови, в случае преждевременных родов, активируется сигнальный путь опосредованный внеклеточной ДНК, как фетальной, так и общей, приводящей к увеличению продукции лейкоцитами интерлейкина-8. В случае

физиологической беременности и физиологических родов данные корреляции отсутствуют.

На основании полученных данных был получен патент №2682713 от 21 марта 2019 года. «Прогнозирование преждевременных родов путем совместного определения внеклеточной ДНК и интерлейкина-8 в плазме периферической крови».

Для оценки диагностической ценности изучаемых факторов был проведен ROC-анализ интерлейкина-6; интерлейкина-8; плодовой вкДНК и общей вкДНК на сроках 22–27 недель 6 дней, 28-31 неделя 6 дней, 32–33 недель 6 дней и 34-36 недель 6 дней гестации.

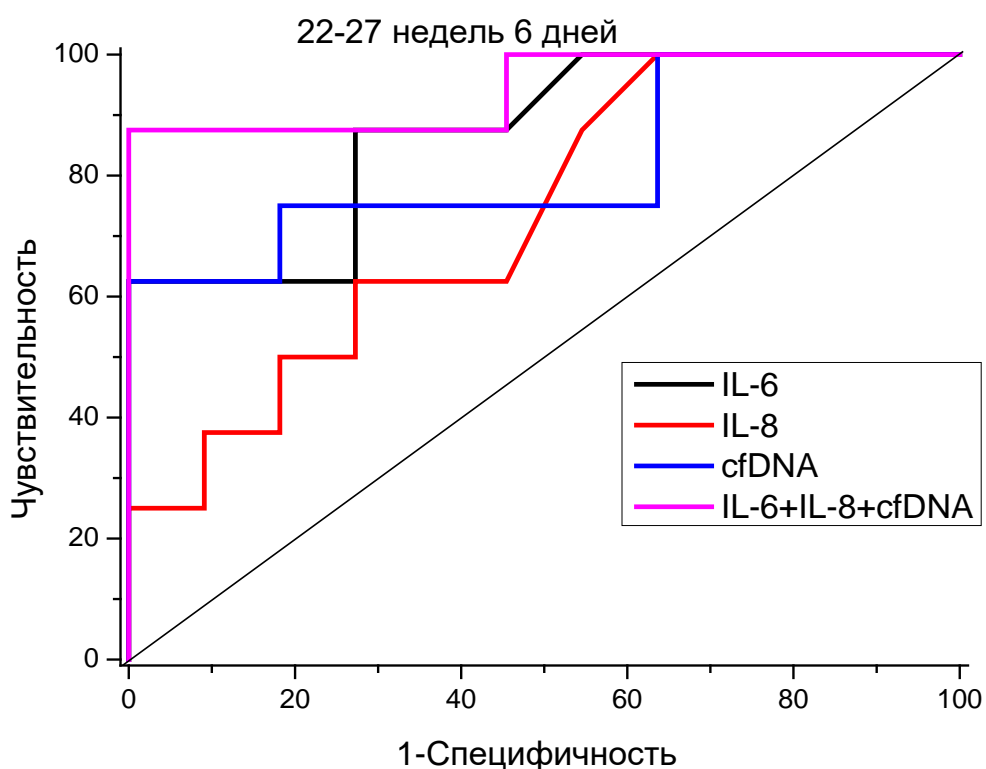


Рисунок 23. Площадь под кривой составила на сроке 22-27 нед. 6 дней: IL-6 – 0,86 (95% ДИ: 0,69-1); IL-8 – 0,73 (95% ДИ: 0,49-0,97); cfDNA – 0,86 (95% ДИ: 0,61-1); при одновременном использовании IL-6, IL-8 и cfDNA на основании логистической регрессии – 0,94 (95% ДИ: 0,82-1).

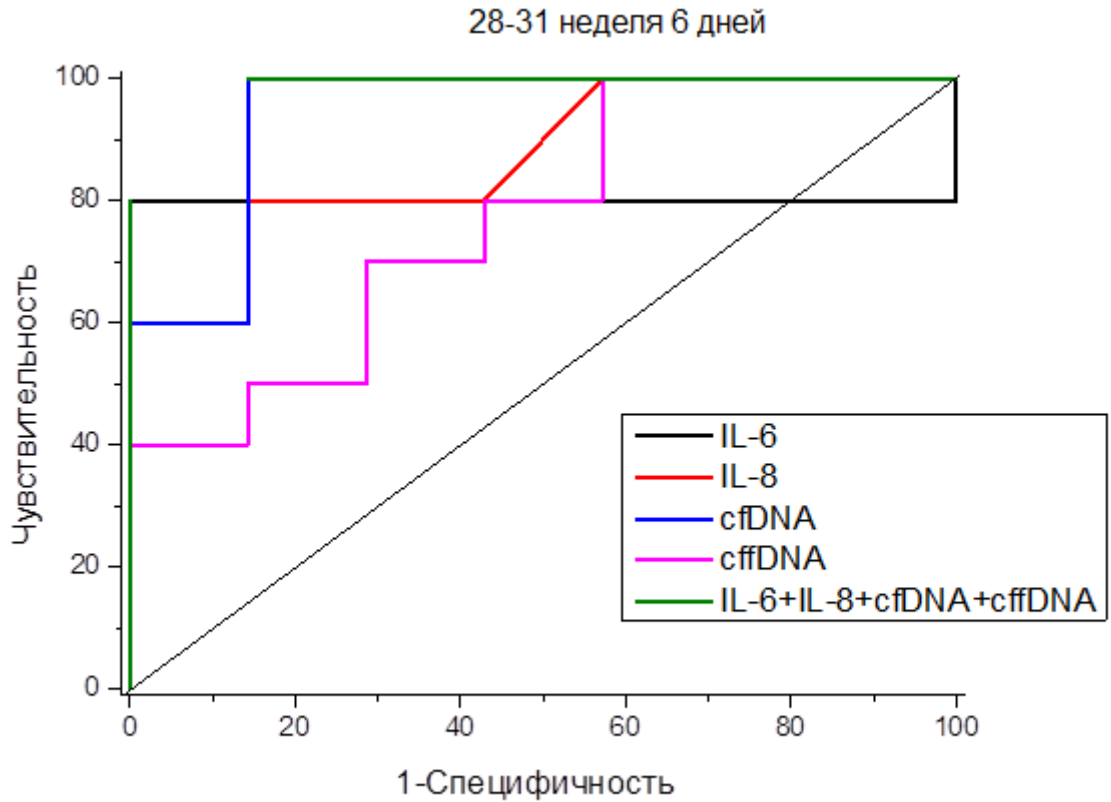


Рисунок 24. Площадь под кривой составила на сроке 28-31 нед. 6 дней: IL-6 – 0,8 (95% ДИ: 0,58-1); IL-8 – 0,87 (95% ДИ: 0,7-1); cfDNA – 0,92 (95% ДИ: 0,82-1); cffDNA – 0,77(95% ДИ: 0,54-1); при одновременном использовании IL-6, IL-8, cfDNA и cffDNA на основании логистической регрессии – 0,96 (95% ДИ: 0,86-1).

32-33 недели 6 дней

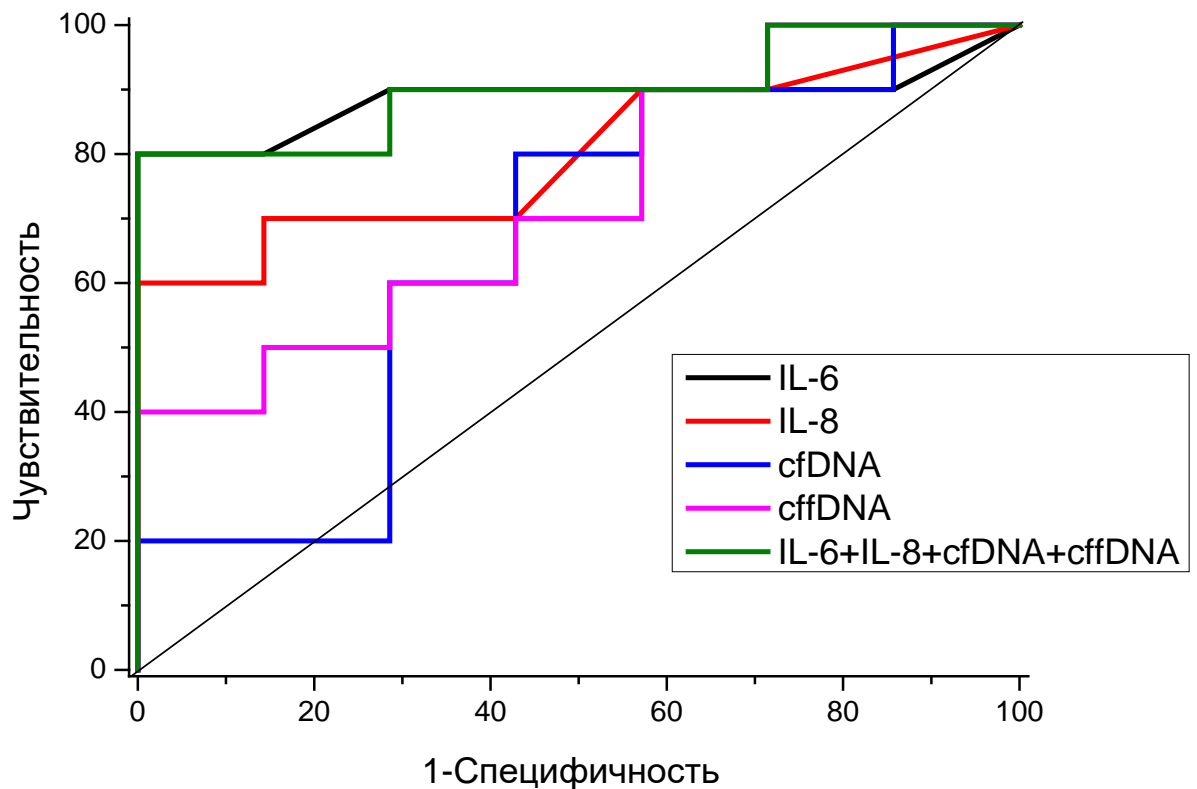


Рисунок 25. Площадь под кривой составила на сроке 32-33 нед. 6 дней: IL-6 – 0,88 (95% ДИ: 0,72-1); IL-8 – 0,8 (95% ДИ: 0,59-1); cfDNA – 0,66 (95% ДИ: 0,4-0,92); cffDNA – 0,73 (95% ДИ: 0,49-0,97); при одновременном использовании IL-6, IL-8, cffDNA, cfDNA на основании логистической регрессии - 0,9 (95% ДИ: 0,75-1).

Была проведена оценка диагностической ценности при помощи логистической регрессии. Было установлено, что на сроке 22-27 недель 6 дней наиболее высокую диагностическую ценность имеет комбинированное использование интерлейкина-6, -8 и cfDNA, площадь под кривой составила на 0,94 (95% ДИ: 0,82-1) с чувствительностью 86% и специфичностью 100% (рис. 23). На сроке с 28 по 31 недель 6 дней: интерлейкин-6, -8, cfDNA и cffDNA, площадь под кривой составила на 0,96 (95% ДИ: 0,86-1) с чувствительностью 100% и специфичностью 89% (рис. 24).

34-36 недель 6 дней

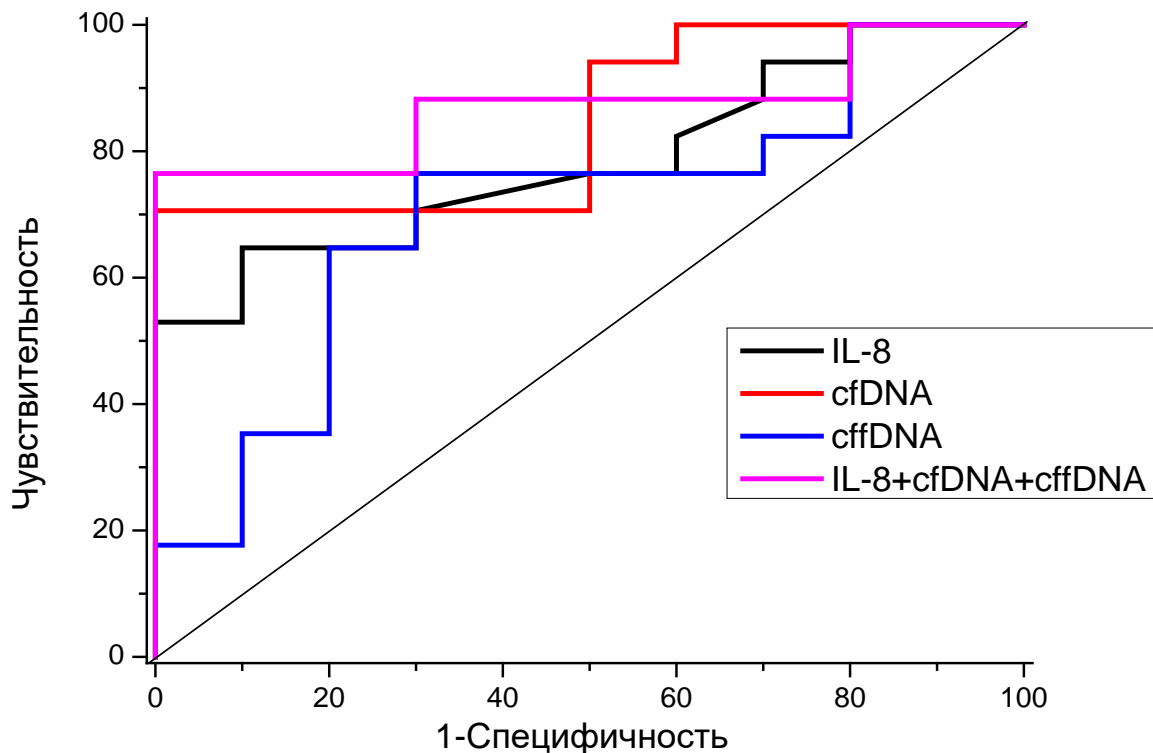


Рисунок 26. Площадь под кривой составила на сроке 34-36 нед. 6 дней: IL-8 – 0,79 (95% ДИ: 0,61-0,96); cfDNA - 0,85 (95% ДИ: 0,7-1); cffDNA - 0,71 (95% ДИ: 0,51-0,9); при одновременном использовании IL-8, cfDNA и cffDNA на основании логистической регрессии - 0,88 (95% ДИ: 0,74-1).

На сроке с 32 по 33 недель 6 дней: интерлейкин-6, -8, cfDNA и cffDNA, площадь под кривой составила на 0,9 (95% ДИ: 0,75-1) с чувствительностью 81% и специфичностью 100% (рис. 25). На сроке с 34 по 36 недель 6 дней: интерлейкина-8, cfDNA и cffDNA, площадь под кривой составила на 0,88 (95% ДИ: 0,74-1) с чувствительностью 78% и специфичностью 100% (рис. 26).

Однонаправленное повышение цитокинов и общей и фетальной внеклеточной ДНК отражает их вовлеченность в развитие системного воспалительного ответа при преждевременных родах, и обосновывает целесообразность их использования в качестве предикторов их реализации.

## Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Преждевременные роды являются важной медико-социальной проблемой, требующей внимания и решения со стороны различных специалистов медицинского сообщества. Высокий уровень неонатальной смертности и младенческой заболеваемости, несомненно, обуславливает необходимость непрерывного поиска путей решения данной проблемы. Несмотря на положительную динамику развития квалифицированной помощи недоношенным детям, открытие современных перинатальных центров, частота неонатальной смертности продолжает оставаться стабильно высокой. Согласно статистике, ПР в 70% случаев являются причиной ранней неонатальной и в 36% – младенческой смертности. Кроме того, среди детей, родившихся преждевременно в 25-50% случаев, наблюдаются отдаленные неврологические последствия различной степени тяжести. При ПР примерно в 13 раз чаще отмечается показатель мертворождаемости относительно физиологических родов в срок.

Большое количество предрасполагающих факторов риска ПР, обуславливают разнообразие предшествующих клинических симптомов, которые, как правило, имеют адаптивный характер и обосновывают имеющиеся на сегодняшний день трудности в поиске патогенетических механизмов и диагностических предикторов данного осложнения.

Основные причины развития ПР инфекционного генеза связаны с иммунологическими особенностями организма матери, в результате которых не происходит своевременного распознавания и уничтожения чужеродного (инфекционного) агента. Длительное повреждение тканей последним может являться триггером в развитии системного воспалительного ответа посредством дисфункции врожденного и приобретенного иммунитета.

Также стало известно, что внеклеточная ДНК способна индуцировать воспалительный ответ, который может способствовать развитию ПР. Появились работы, в которых отмечается связь между риском развития ПР и

повышенным уровнем фетальной внеклеточной ДНК. Однако, роль фетальной и свободной внеклеточной ДНК в реализации ПР изучена недостаточно.

Поиск взаимосвязей между уровнем внеклеточной ДНК и различных цитокинов в крови у женщин с преждевременными родами на разных сроках гестации, предпринятый в нашем исследовании позволил предположить новые патогенетические механизмы развития ПР.

В связи с вышеописанным нами была определена цель: определение вероятности развития преждевременных родов на основании содержания внеклеточной ДНК и цитокинов в крови беременных.

На первоначальном этапе нашей диссертационной работы с целью определения значимых факторов риска ПР в исследуемых группах пациенток были тщательно изучены данные семейного, акушерского и гинекологического анамнеза. Проанализирована структура соматической и гинекологической заболеваемости. Кроме того, были выявлены особенности течения настоящей беременности, родов, послеродового периода, состояние здоровья новорожденных, а также результаты клинико-лабораторного и инструментального обследования.

Все пациентки соответствовали критериям включения и исключения и были сопоставимы по клинической характеристике. Возраст беременных варьировал в пределах от 18 до 45 лет и составил в основной: I подгруппе 29,0 (27,0; 31,5), II подгруппе 32,5 (30,0; 35,0), III подгруппе 33,0 (29,0; 35,3), IV подгруппе 30,0 (28,0; 33,5) лет. В группе сравнения – 30,0 (28,0; 32,0) лет. Рост пациенток в основной I подгруппе составил 166,0 (163,0; 170,0), II подгруппе 164,0 (160,0; 169,0), III подгруппе 164,5 (162,0; 170,0), IV подгруппе 165,0 (162,5; 170,0) см. В группе сравнения – 164,0 (170,0; 160,0) см. Вес в основной I подгруппе 65,0 (64,0; 77,0), II подгруппе 74,0 (64,0; 82,0), III подгруппе 78,0 (71,5; 84,3), IV подгруппе 72,0 (64,5; 78,5) кг. В группе сравнения 71,0 (66,0; 75,0) кг. ИМТ в основной I подгруппе составил 25,7 (22,9; 27,5), II подгруппе 27,0 (24,3; 30,1), III подгруппе 29,0 (26,0; 31,0), IV подгруппе 27,0 (23,1; 28,4) кг/см<sup>2</sup>. В группе сравнения – 25,3 (25;3) кг/см<sup>2</sup>.



Принимая во внимания, что высокий риск развития ПР может быть связан с отягощенностью семейного анамнеза, в ходе нашего исследования нами был проанализирован наследственный анамнез у беременных женщин. В основной группе относительно группы сравнения статистически значимо чаще встречались сердечно-сосудистые заболевания в молодом возрасте 16 (44,4%) и 24 (11,8%) при  $p < 0,05$  и сахарный диабет в III и IV подгруппах основной группы относительно группы сравнения: 8 (25,0%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ) и 20 (28,6%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,01$ ) соответственно.

Принимая к сведению работы многих авторов [29, 75, 121, 128, 129, 131, 132] о высокой частоте развития ПР на фоне соматической патологии, нами была изучена структура соматической заболеваемости в исследуемых группах. Анализ данных показал, что у беременных женщин основной группы I подгруппы статистически значимо чаще встречались хронические бронхиты 8 (21,1%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,05$ ), во II подгруппе хронический тонзиллит 6 (16,7%) ( $p < 0,05$ ), а в III подгруппе наличие пневмоний 4 (12,5%) ( $p < 0,05$ ) в анамнезе. В результате, полученные нами данные указывают на более высокую частоту заболеваний органов дыхания в основной группе относительно группы сравнения.

Предрасполагающим фактором для возникновения осложненного течения беременности, включающего и развитие ПР, является отягощённый акушерско-гинекологический анамнез. В связи с этим, нами было изучено состояние репродуктивного здоровья женщин. Во всех подгруппах с ПР при анализе гинекологических заболеваний были отмечены с наиболее высокой частотой встречаемости следующие заболевания: бактериальный вагиноз, кандидозный вульвовагинит, уреоплазменная инфекция, эктопия шейки матки и вирус папилломы человека. Изучив ряд других гинекологических заболеваний, таких как: хронический сальпингоофорит, синдром поликистозных яичников (СПКЯ), апоплексия в анамнезе, дисфункция придаточного аппарата различного генеза, воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), наружный генитальный эндометриоз (НГЭ),

аденомиоз, гиперплазия эндометрия, бесплодие II в анамнезе, статистически значимых различий между группами выявлено не было. Но несмотря на это, учитывая данные научной литературы [12, 23], которые свидетельствуют о том, что гинекологические заболевания могут увеличивать частоту акушерских осложнений, беременные женщины, имеющие вышеизложенные осложнения, должны быть отнесены в группу риска неблагоприятных исходов беременности и находится под наиболее тщательным мониторингом в течение всего гестационного периода.

В нашем исследовании также был изучен акушерский анамнез и были получены следующие результаты. В I основной подгруппе относительно группы сравнения в анамнезе значительно чаще встречались следующие данные: неразвивающаяся беременность 12 (31,6%) и 6 (2,9%) ( $p < 0,01$ ), преждевременные роды в анамнезе 10 (26,3%) ( $p < 0,01$ ) и самопроизвольные выкидыши 8 (21,1%) ( $p < 0,01$ ). Во II основной подгруппе относительно чаще группы сравнения были следующие показатели: преждевременные роды в анамнезе 12 (33,3%) ( $p < 0,001$ ), самопроизвольные выкидыши 8 (22,2%) ( $p < 0,05$ ) и неразвивающаяся беременность 15 (41,7%) ( $p < 0,001$ ). В III основной подгруппе относительно группы сравнения в анамнезе чаще встречались следующие особенности: преждевременные роды в анамнезе 6 (18,8%) ( $p < 0,05$ ), самопроизвольные выкидыши 10 (31,3%) ( $p < 0,01$ ). В IV основной подгруппе относительно группы сравнения чаще всего встречались преждевременные роды в анамнезе 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ) и самопроизвольные выкидыши 14 (20,0%) ( $p < 0,01$ ).

На основании клинико-анамнестических факторов, имеющих статистически-значимые различия, были построены модели прогнозирования ПР на разных сроках беременности. Наиболее важными факторами развития ПР на разных сроках оказались: эктопия шейки матки, самопроизвольные выкидыши в анамнезе, угроза прерывания беременности в I триместре, ретрохориальная гематома в I триместре и бактериальный вагиноз в I триместре беременности.

Из вышеизложенного следует, что на основании тщательного изучения клинико-анамнестических данных на разных сроках беременности, нами были найдены факторы риска развития преждевременных родов, что позволило разработать модели «очень хорошего» и «отличного» качества, которые подтверждают значимость анамнеза в риске развития преждевременных родов. Тем не менее, в проведении дальнейшего исследования есть большая потребность, учитывая, что использование данных моделей в качестве единственного скринингового метода имеет недостаточную предсказательную способность.

При изучении особенностей течения I триместра настоящей беременности статистически значимо чаще в основной I подгруппе по сравнению с физиологической беременностью выявлялась угроза прерывания в I триместре беременности 18 (47,4%) и 10 (4,9%) ( $p < 0,05$ ) и бактериальный вагиноз 6 (15,8%) ( $p < 0,05$ ). Во II триместре чаще всего встречался бактериальный вагиноз 6 (15,8%) ( $p < 0,05$ ). Во II основной подгруппе в I триместре значительно чаще встречалась угроза прерывания беременности 24 (66,7%) и 30 (14,7%) ( $p < 0,001$ ). Во II триместре этой же группы значительно чаще встречалась истмико-цервикальная недостаточность 20 (55,6%) ( $p < 0,01$ ) и наложение швов на шейку матки 16 (44,4%) ( $p < 0,001$ ). В III триместре этой же группы отмечался также бактериальный вагиноз 6 (16,7%) ( $p < 0,05$ ). В III основной подгруппе в I триместре значимо чаще встречалась угроза прерывания беременности 22 (68,8%) и 12 (5,9%) ( $p < 0,01$ ), бактериальный вагиноз 6 (18,8%) ( $p < 0,05$ ), а также наложения швов на шейку матки 24 (75,0%) ( $p < 0,01$ ). В IV основной подгруппе в I триместре стоит отметить частую встречаемость угрозы прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы 40 (57,1%) ( $p < 0,05$ ). Во втором триместре этой же подгруппы встречалась анемия беременных 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ) и бактериальный вагиноз 10 (14,3%) ( $p < 0,05$ ).

Течение родов и их исходы были сопряжены с высокой частотой абдоминального родоразрешения. Среди наиболее значимых причин

отмечались такие осложнения, как прогрессирующая гипоксия плода и преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты.

Во время естественных родов и родов путем кесарева сечения объем кровопотери во всех исследуемых группах не был выше нормы. Также стоит отметить, что в послеродовом периоде статистических различий среди осложнений выявлено не было.

При анализе течения раннего неонатального периода были показаны наиболее лучшие показатели в группе у беременных женщин с физиологически нормально протекающей беременностью. Все новорожденные дети были рождены живыми. Изучение исхода родов показало, что у детей, которые были рождены женщинами в основной I подгруппе достоверно чаще диагностируется респираторный дистресс синдром 8 (21,1%), асфиксия средней степени тяжести 4 (10,5%), врожденная пневмония 18 (47,4%), внутрижелудочковое кровоизлияние (ВЖК) I степени 18 (47,4%), экстремально низкая масса тела (ЭНМТ) при рождении 8 (21,1%) и анемия новорожденных 16 (42,1%). Также стоит отметить более высокую частоту ДВС синдрома 14 (37,0%) у детей в данной группе.

Во II основной подгруппе у недоношенных детей были диагностированы следующие патологии: респираторный дистресс-синдром 15 (41,1%), асфиксия средней степени тяжести 15 (41,1%), врожденная пневмония 26 (72,2%), очень низкая масса тела (ОНМТ) при рождении 14 (38,9%), анемия новорожденных 17 (47,1%), неонатальная желтуха 8 (22,2%), и кровоизлияния в кожу 8 (21,1%).

В III и IV подгруппах основной группы у новорожденных статистически значимо чаще была диагностирована асфиксия легкой степени тяжести и неонатальная желтуха. А также в III основной подгруппе, как и в первых двух подгруппах у детей была диагностирована врожденная пневмония и респираторный дистресс синдром.

Соответственно, проведенный нами анализ клинико-анамнестических данных, акушерских и перинатальных исходов, подтвердил их значимость для выявления групп риска развития ПР.

Исследователи уделяют значительное внимание изучению роли цитокинов в активации системного воспалительного ответа, и как следствие, в развитии родовой деятельности. Показано, что наличие повышенной концентрации интерлейкина-6 и интерлейкина-8 в различных биологических жидкостях, включая кровь матери и/или плода, амниотическую жидкость, мочу, цервикальный и/или вагинальный секрет и ткани плаценты, является независимым фактором риска преждевременных родов [27, 135]. Также известно, что ПР, не ассоциированные с инфекцией, коррелируют с повышением уровня в плазме крови интерлейкина-8, а также интерлейкина-1 и -6. Вместе с тем повышенные концентрации фактора некроза опухоли альфа ( $TNF\alpha$ ), интерлейкина-1 и -6 были выявлены при ПР, которые были сопряжены с инфекцией [62, 100].

В данном исследовании мы обнаружили повышенный уровень двух цитокинов интерлейкина-6 и интерлейкина-8 в ПР, что было показано ранее в других исследованиях [11, 30, 32].

При сравнении цитокинового профиля в крови при ПР и физиологических родах можно отметить разнонаправленное изменение содержания интерлейкина-6 относительно контрольной группы вне родов. Повышение содержания интерлейкина-6 в ПР свидетельствует о вовлечении провоспалительных механизмов иммунной системы, и наоборот, снижение содержания интерлейкина-6 в физиологических родах свидетельствует о том, что процесс родов связан с противовоспалительной активностью иммунной системы.

В настоящее время появились новые данные о том, что внеклеточная ДНК, циркулирующая в кровотоке матери, может индуцировать воспалительный ответ, который ассоциирован с ПР. В работах M.S. Quezada [133] продемонстрировано, что циркулирующая плодовая внеклеточная ДНК

(пвДНК) вызывает воспалительную реакцию, которая приводит к развитию спонтанной родовой деятельности. При этом наблюдалась активация Толл-подобных рецепторов-9 (TLR-9) и повышение уровня IL-6. Оценка пвДНК на более ранних стадиях беременности приводит к противоречивым результатам. Duggof et al. отметили увеличение пвДНК на 14-20 неделе беременности [82], в то время как другие исследователи не обнаружили связи между уровнями вкДНК в 22-24 недели и началом ПР. Однако связь между пвДНК и ПР и рождением не установлена. Наиболее вероятной гипотезой влияния вкДНК на развитие ПР считается ее взаимодействие с их распознающими рецепторами (TLR9) и последующая активация иммунного ответа, что приводит к ПР. [56]. Однако на модели мышей, которым внутрибрюшинно вводили вкДНК, и в экспериментах на мононуклеарных клетках периферической крови (МПК) беременных *in vitro* эта гипотеза не получила однозначного подтверждения. [114].

Мы также показали, что повышенный уровень фетальной вкДНК может быть маркером ПР в 32-36 недель, что отмечали и другие авторы [106, 150]. Однако наиболее информативным маркером ПР оказалась вкДНК.

Кроме того, корреляционный анализ выявил взаимосвязь вкДНК и вкДНК с интерлейкином-8 в ПР. Эта связь не была обнаружена при нормальной беременности вне родов, а также во время родов. Обнаруженные факты позволяют объяснить, почему вкДНК не вызывала реакции, наблюдаемой в ПР в исследованиях, проведенных van Voessel et al. в модельных экспериментах на мышах дикого типа и РВМС беременных женщин [150]. Можно предположить, что перед ПР в организме должны произойти патологические изменения, делающие циркулирующие вкДНК и пвДНК «видимыми» для иммунной системы матери. Эти изменения, вероятно, влияют на экспрессию TLR9 в лейкоцитах. Это подтверждается исследованиями, показывающими повышение экспрессии TLR9 в лейкоцитах децидуальной ткани при ПР [56]. Известно, что вкДНК и пвДНК могут взаимодействовать с TLR9 и вызывать экспрессию цитокинов, в частности

интерлейкин-8 [119]. На основании этих данных можно предположить, что увеличение вкДНК в крови матери может привести к усилению экспрессии интерлейкина-8 и, в конечном счете, к началу родов. Однако этого не происходит ни при нормальной беременности, ни при таких осложнениях, как преэклампсия, когда вкДНК и пвДНК в материнском кровотоке значительно повышены [14]. Это указывает на то, что связь между вкДНК и пвДНК с интерлейкином-8 является аберрантной во время беременности, что типично для ПР. Исходя из предположения, что TLR9 обладают повышенной активностью в ПР, можно рассмотреть три причины, которые приведут к этой активности. Генетический фактор, повышающий способность TLR9 связывать вкДНК. В этом случае можно ожидать, что уровень экспрессии TLR9 между основной и контрольной группами не будет отличаться, но в основной группе в анамнезе будет ПР. Это подтверждается высокой частотой рецидивов ПР. В нашем исследовании из 176 повторнородящих женщин с ПР, 19 имели ПР в анамнезе, в контрольной группе ПР в анамнезе отсутствовали. Эти результаты указывают на потенциальную пользу от дальнейшего изучения мутаций TLR9 в ПР. Повышенная экспрессия TLR9 в результате инфекции. Считается, что инфекция половых путей связана с 25-40% ПР [151, 160]. Нет четкого понимания того, как инфекция может вызывать ПР, и известная взаимосвязь между экспрессией TLR9 и инфекцией может объяснить механизм ПР. В нашей работе установлено, что как ранние, так и поздние ПР сочетаются с бактериальным вагинозом и кандидозным вульвовагинитом, в отличие от группы сравнения, где этого не выявлялись. Это согласуется с предложенной нами теорией. Повышенная экспрессия TLR9 в результате аутоиммунных заболеваний. У обследованных больных не было аутоиммунных заболеваний, но есть данные о связи их с ПР. Так, в исследовании показана связь системной красной волчанки с ПР, причем в активной форме, когда наблюдается повышение экспрессии TLR9 [56, 155].

### **Заключение**

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 аберрантная связь между общей и плодовой внеклеточной ДНК и цитокинами (интерлейкин-6 и -8) может играть важную роль в патогенезе преждевременных родов. Результаты, которые мы получили в ходе исследования имеют большое значение в клинической практике для 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.

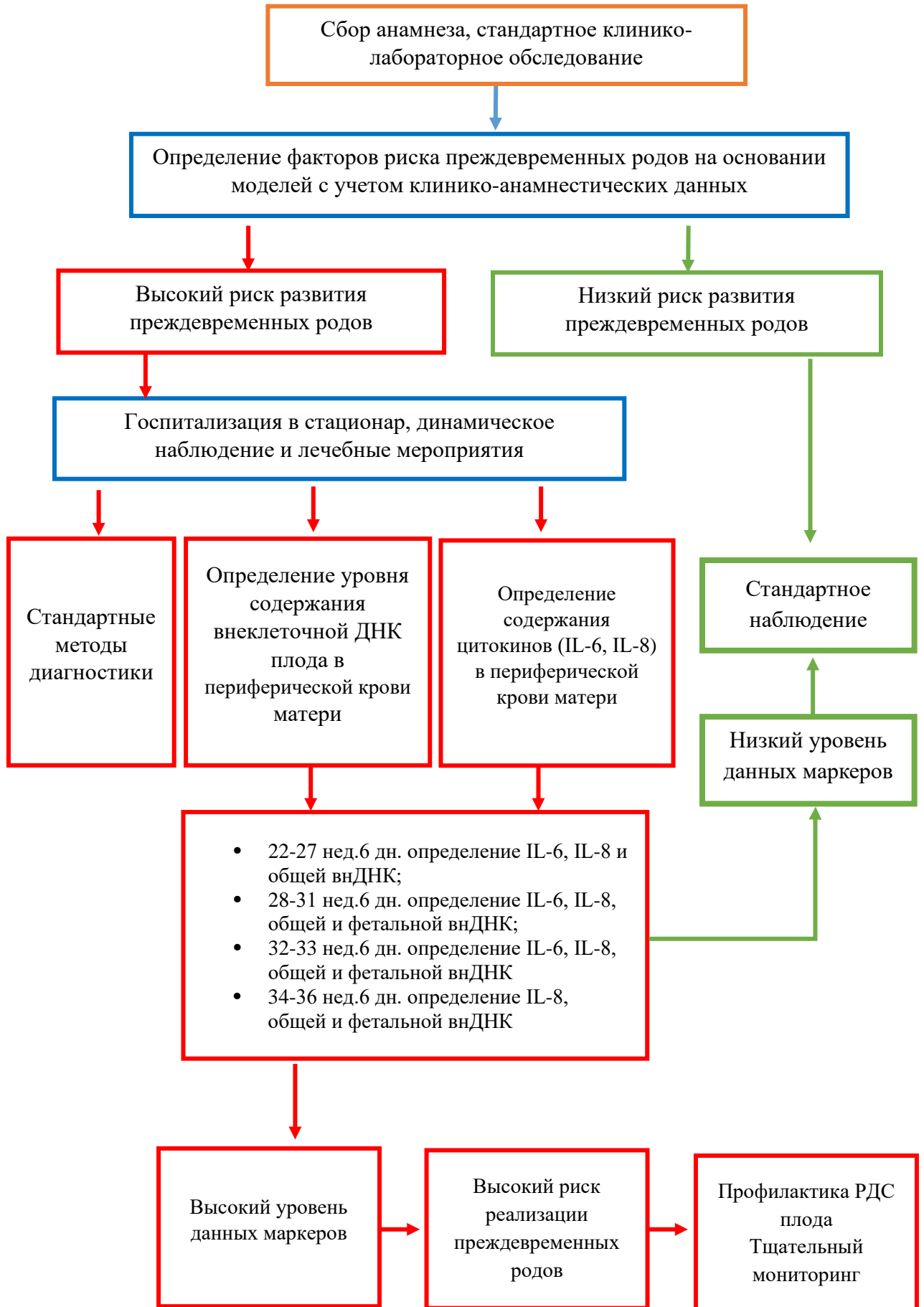
## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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 СОКРАЩЕНИЙ**

- АГ – артериальная гипертензия
- ВОЗ – всемирная организация здравоохранения
- ВУИ – внутриутробная инфекция
- ДВС – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЗРП – задержка развития плода
- ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
- ИФА – иммуноферментный анализ
- ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность
- КС – кесарево сечение
- КСК – кривая скорости кровотока
- КТГ – кардиотокография плода
- ЛПС – липополисахарид
- МА – маточная артерия
- одНК – концентрация внеклеточной ДНК
- ОС – окислительный стресс
- ПАМГ-1 – плацентарный альфа-микроглобулин-1
- пвДНК – плодовая внеклеточная ДНК
- ПГЕ – простагландин E2
- ПР – преждевременные роды
- ПН – плацентарная недостаточность
- ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
- ПРПО – преждевременный разрыв плодных оболочек
- ПСИФР-1 – фосфорилированная форма протеина 1 – инсулиноподобного фактора роста
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- РДС – респираторный дистресс синдром
- СМА – средняя мозговая артерия
- СВО – системный воспалительный ответ

ССВО – синдром системного воспалительного ответа  
ССВР – синдром системной воспалительной реакции  
ТФР – трансформирующий фактор роста  
УЗИ – ультразвуковое исследование  
ФЛ – фосфолипиды  
ФНО- $\alpha$  – фактор некроза опухоли альфа  
ФПК – фетоплацентарный комплекс  
ЦОГ – циклооксигеназа  
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение  
CD – кластер дифференцировки лимфоцитов  
cff-DNA – внеклеточная фетальная ДНК  
CMV – цитомегаловирус  
IFN- $\gamma$  – интерферон  
IgG/IgM – иммуноглобулины класса G и M  
IF (interferon) – интерферон  
Ig (immunoglobulin) – иммуноглобулины  
IL (interleikin) – интерлейкины  
MMP – металлопротеиназа  
MMPs (matrix metalloproteinases) – матриксные металлопротеиназы  
mtDAMPs – провоспалительные факторы митохондриального происхождения  
PAI-I – плазминоген I типа  
PAPP – протеин, связанный с беременностью  
Th1/Th2 – Т-лимфоциты-хелперы  
t-PA – тканевой активатор плазминогена  
TNF (tumor necrosis factor) – фактор некроза опухоли  
TLRs – Toll-подобные рецепторы  
OR (odds ratio) – отношение шансов

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абусуева З.А., Омарпашаева М.И., Хашаева Т.Х., Какваева С.Ш. Состояние микробиоты вагинального тракта у женщин с преждевременными родами (клинико-анамнестические особенности). Медицинский алфавит. 2020; (4): 46-48.
2. Азбукина Л.Н. Факторы риска, прогнозирование и тактика ведения беременных с угрозой преждевременных родов. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015; 11 (5): 633-635.
3. Акушерство: национальное руководство. Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: «ГЭОТАР-Медиа», 2022. – 1080 с. (Серия «Национальные руководства»).
4. Артымук Н.В., Марочко К.В., Чванова Е.А. Эффективность и безопасность различных токолитиков при преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2021; (8): 18-24.
5. Баев О.Р., Васильченко О.Н., Карапетян А.О., Тетруашвили Н.К., Ходжаева З.С. Сравнение токолиза нифедипином и атозибаном при преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2018; (5): 50-6.
6. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Свитич О.А., Тимохина Е.В., Кукина П.И., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г. Преждевременные роды: причины, патогенез, тактика. Акушерство и гинекология. 2020; 2: 82-8.
7. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г., Емельянова Е.С. Преждевременные роды: как управлять токолизом? Акушерство и гинекология. 2019; 6: 102-7.
8. Богданова И.М., Артемьева К.А., Болтовская М.Н. Развитие и функция регуляторных В-клеток и их роль в поддержании беременности. Иммунология. 2021; 42 (4): 415-425.

9. Болотских В.М., Борисова В.Ю. Роль определения биохимических тестов и цервикометрии в диагностике угрожающих преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2015; 2: 94-8.
10. Борзова Н.Ю., Раджабова Н.Р., Сотникова Н.Ю., Кудряшова А.В., Малышкина А.И. Новый прогностический критерий исхода беременности у пациенток с угрожающими преждевременными родами. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (2): 97-100.
11. Булатова Ю.С., Тетруашвили Н.К., Высоких М.Ю. Провоспалительные факторы митохондриального происхождения в патогенезе привычных выкидышей и ранних преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2017; 8: 5-9.
12. 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.
13. Горина К.А., Ходжаева З.С., Муравьева В.В., Муминова К.Т., Донников А.Е., Припутневич Т.В. Роль микробиоты кишечника матери при спонтанных преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2020; 8: 64-71.
14. Грачева М.И., Кан Н.Е., Красный А.М. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности. *Акушерство и гинекология*. 2016; 10: 5-10.
15. Гуреева Л.В., Чистякова О.М., Радионов А.А. Предикторы исхода беременности при преждевременных родах. *Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и Технические Науки*. 2021; 6: 187-190.
16. Гусейнова Г.Е. Прогнозирование и оптимизация тактики ведения пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек при



- преждевременных родах: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2021. – 27 с.
17. Дикке Г.Б. Диагностика высокого риска преждевременных родов на основании биохимических тестов. *Акушерство и гинекология*. 2018; 7: 108-13.
  18. Долгушина В.Ф., Алиханова Е.С. Клинико-лабораторные и иммунологические критерии прогноза преждевременных родов при истмико-цервикальной недостаточности. *Бюллетень медицинской науки*. 2021; 2(22): 13–21.
  19. Елизарова Н.Н., Артымук Н.В., Поленок Е.Г. Иммунологические особенности женщин с преждевременным разрывом плодных оболочек в 22+0-36+6 недель беременности. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2017; 2 (3): 58-62.
  20. Зиядинов А.А. Преждевременные роды: факторы риска, состояние плода и новорожденного, критерии прогноза: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Симферополь, 2016. – 27 с.
  21. Илларионов Р.А., Косякова О.В., Вашукова Е.С., Юркина Н.О., Баклейчева М.О., Долгова Ю.С., Сушко Т.А., Еремеева Д.Р., Зайнулина М.С., Ярмолинская М.И., Беспалова О.Г., Глотов А.С. Особенности создания коллекции образцов беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020; 19 (6): 2708.
  22. Инфекционно-воспалительные заболевания в акушерстве и гинекологии: руководство для врачей. Под ред. Э.К. Айламазяна. Москва: «ГЭОТАР - Медиа», 2016. – 320 с.
  23. Карапетян А.О., Красный А.М., Садекова А.А., Хлестова Г.В., Балашов И.С., Баев О.Р. Изменение концентрации внеклеточной ДНК во время беременности. *Акушерство и гинекология*. 2018; (3): 44-50.
  24. Каткова Н.Ю., Бодрикова О.И., Сергеева А.В., Безрукова И.М., Покусаева К.Б. Состояние локального иммунного статуса при

- различных вариантах преждевременных родов. Вестник РГМУ. 2017; (3): 57-62.
25. Козлов П.В., Иванников Н.Ю., Кузнецов П.А., Богаева И.И. Эпидемиология, этиология и патогенез поздних преждевременных родов. Акушерство, гинекология и репродукция. 2015; 9 (1): 68-76.
26. Кокоева Д.Н. Диагностическое значение факторов врожденного иммунитета при преждевременных родах: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2021. – 25 с.
27. Кондакова Л.И., Шатилова Ю.А., Федоренко С.В., Ярыгин О.А., Загребин В.Л., Жаркин Н.А. Особенности морфофункционального строения плаценты женщин с поздними преждевременными родами. Вестник ВолГМУ. 2020; 1 (73): 25-27.
28. Коротких И. Н., Самодай В. Н., Бабкина М. С. Перинатальные исходы очень ранних и ранних преждевременных родов. Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2018; 17 (1): 73-76.
29. Косякова О.В., Беспалова О.Н. Сложности и перспективы прогнозирования преждевременных родов при многоплодной беременности. Журнал акушерства и женских болезней. 2018; 67 (4): 48–59.
30. Косякова О.В., Беспалова О.Н., Сейидова Ч.И., Глотов А.С. Роль маркеров воспалительного ответа в прогнозировании преждевременных родов. Российский вестник акушера-гинеколога. 2020; 20 (3): 18-23.
31. Крукиер И.И., Левкович М.А., Авруцкая В.В., Кравченко Л.В., Никашина А.А., Петров Ю.А. Модификация метаболических нарушений в патогенезе спонтанных преждевременных родов. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2021; 20 (3): 69-75.
32. Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Гугуева А.В., Оксенюк О.С., Машкина Е.В., Дмитриева М.П. Полиморфизм гена интерлейкина-18 у беременных с преждевременными родами. Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н.И. Пирогова. 2020; 15 (2): 85-88.

33. Кузнецова Н.Б., Буштырева И.О., Дмитриева М.П., Барина В.В., Дыбова В.С. Локальный цитокиновый профиль у женщин с преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек. Вестник НМХЦ им. Н.И. Пирогова. 2020; 15 (2): 80-84.
34. Кузьмин В.Н. Перинатальные исходы при преждевременном разрыве плодных оболочек. Лечащий врач. 2018; 3: 34-38.
35. Курчакова Т.А. Оптимизация прогнозирования преждевременных родов: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2018. – 26 с.
36. Курчакова Т.А., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Меджидова М.К., Сироткина Е.А. Про- и антиоксидантная система при преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2016; 5: 20-24.
37. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Жолобов Ю.Н., Назарова А.О., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С., Назаров С.Б. Полиморфизм генов системы гемостаза у женщин с угрожающими преждевременными родами. Акушерство, гинекология и репродукция. 2018; 12 (1): 23-33.
38. Михельсон А.А., Погорелова Т.Н., Гунько В.О., Никашина А.А., Палиева Н.В. Нарушение обмена аминокислот — предшественников газотрансмиттеров при преждевременных родах. Биомедицинская химия. 2021; 67 (5): 443-448.
39. Мусалаева И.О., Тарасенко Е.В., Костин И.Н., Азова М.М., Оленев А.С. Преждевременные роды: новые возможности прогнозирования. Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2020; 8 (3): 10-14.
40. Назарова А.О., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Бойко Е.Л. Факторы риска угрожающих преждевременных родов: результаты клинико-эпидемиологического исследования. Акушерство и гинекология. 2020; 6: 43-48.

41. Низяева Н.В., Карапетян А.О., Гапаева М.Д., Синицына В.А., Баев О.Р. Структурные особенности плодных оболочек при преждевременных родах. *Акушерство и гинекология*. 2019; (8): 63-69.
42. Основные показатели здоровья матери и ребенка, деятельность службы охраны детства и родовспоможения в Российской Федерации / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения. ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава Российской Федерации. Под ред. Е.П. Какорина, В.И. Стародубова. – Москва. – 2018. – 171 с.
43. Преждевременные роды. Федеральные клинические рекомендации (протокол лечения). МЗ РФ: Москва, 2022. – 54 с.
44. Раджабова Н.Р., Таланова И.Е., Борзова Н.Ю., Сотникова Н.Ю., Малышкина А.И. Патогенетическое обоснование прогнозирования преждевременных родов. *Женское здоровье и репродукция: сетевое издание*. 2022; 2 (53): 35-44.
45. Радзинский В.Е., Оразмурадов А.А., Савенкова И.В., Дамирова К.Ф., Хаддад Х. Преждевременные роды — нерешенная проблема XXI века. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(4): 27-37.
46. Риццо Д., Маппа И., Бицадзе В.О., Хизроева Д.Х., Макацария А.Д. Прогнозирование преждевременных родов: оценка ультразвукового исследования шейки матки и цервикально-влагалищных биомаркеров. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2020; 75 (4): 269-277.
47. Саркисова Л. В. Анализ риска преждевременных родов путём оценки полиморфизма фактора некроза опухоли альфа и интерлейкина 1-бета. *Биология и интегративная медицина*. 2021; 2 (49): 104-117.
48. Саркисова Л. В., Курбанова З. Ш. Роль клинических и молекулярно-генетических факторов при преждевременных родах. *Новый день в медицине*. 2020; 1 (29): 385-389.

49. Семенов Ю.А., Чулков В.С., Сахарова В.В., Москвичева М.Г. Оценка факторов риска развития преждевременных родов у женщин с недоношенной беременностью. Современные проблемы науки и образования. 2015; 4. 7-15.
50. Серова О.Ф., Чернигова И.В., Седая Л.В., Шутикова Н.В. Анализ перинатальных исходов при очень ранних преждевременных родах. Акушерство и гинекология. 2015; 4: 32-36.
51. Скрипниченко Ю.П. Прогнозирование осложнений беременности на основе молекулярных маркеров: Автореф. дисс. канд. мед. наук. – Москва, 2017. – 27 с.
52. Супрун С.В., Кудерова Н.И., Супрун Е.Н., Морозова О.Н., Евсеева Г.П., Лебедько О.А. Комплексная оценка митохондриальных изменений иммунокомпетентных клеток крови у беременных женщин при срочных и преждевременных родах. Медицинская иммунология. 2021; 23 (3): 557-568.
53. Томаева К.Г., Гайдуков С.Н., Комиссарова Е.Н. Матриксные металлопротеиназы как маркеры преждевременных родов у женщин с учетом соматотипа. Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2021; 15 (2): 71-76.
54. Тургунова Ш.Ф., Юсупова У.М. Определение эффективности применения простагландинов при преждевременных родах с папиллярными водами у беременных женщин. Экономика и социум. 2021; 12-2 (91): 639-643.
55. 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.
56. Тютюнник В.Л., Курчакова Т.А., Кан Н.Е., Непша О.С., Донников А.Е., Меджидова М.К., Кокоева Д.Н. Локальные факторы врожденного

- иммунитета в прогнозировании преждевременных родов. *Акушерство и гинекология*. 2016; 10: 59-63.
57. Ходжаева З.С., Гусейнова Г.Э., Муравьева В.В., Донников А.Е., Мишина Н.Д., Припутневич Т.В. Характеристика микробиоты влагалища у беременных с досрочным преждевременным разрывом плодных оболочек. *Акушерство и гинекология*. 2019; 12:66-74.
58. Черепяхин Е.П., Новикова В.А., Томашевский Д.В., Хорольский В.А., Югина А.А. Особенности анамнеза и осложнения беременности в I-II триместрах и риски преждевременных родов. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 24 (4): 150-155.
59. Шадеева Ю.А., Гурьева В.А., Николаева М.Г., Евтушенко Н.В. Прогнозирование риска внутриутробной инфекции плода при сверхранних и ранних преждевременных родах, индуцированных разрывом околоплодных оболочек. *Акушерство, гинекология и репродукция*. 2020; 14 (4): 490-501.
60. Шалина Р.И., Спиридонов Д.С., Плеханова Е.Р., Бреусенко Л.Е., Борисов Я.С. Преждевременные роды. Роль инфекции. *Врач*, 2021; 1: 62-69
61. Щербаков В.И., Поздняков И.М., Ширинская А.В., Волков М.В. Роль провоспалительных цитокинов в патогенезе преждевременных родов и преэклампсии. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2020; 20 (2): 15-21.
62. Abdel Ghany EA, Alsharany W, Ali AA, Youness ER, Hussein JS. Antioxidant profiles and markers of oxidative stress in preterm neonates. *Paediatr Int Child Health*. 2016 May; 36 (2): 134-140.
63. Aggarwal A, Bagga R, Girish B, Kalra J, Kumar P. Effect of maintenance tocolysis with nifedipine in established preterm labour on pregnancy prolongation and neonatal outcome. *J. Obstet. Gynaecol*. 2018; 38 (2): 177-84.

64. Agger WA, Schauburger CW, Burmester JK, Shukla SK. Developing Research Priorities for Prediction and Prevention of Preterm Birth. *Clin Med Res.* 2016 Dec; 14 (3-4): 123-125.
65. Ali AA, Sayed AK, El Sherif L, Loutfi GO, Ahmed AMM, Mohamed HB, Anwar AT, Taha AS, Yahia RM, Elgebaly A, Abdel-Daim MM. Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials of atosiban versus nifedipine for inhibition of preterm labor. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2019 May; 145 (2): 139-48.
66. Allen-Daniels MJ, Serrano MG, Pflugner LP, Fettweis JM, Prestosa MA, Koparde VN, Brooks JP, Strauss JF 3rd, Romero R, Chaiworapongsa T, Eschenbach DA, Buck GA, Jefferson KK. Identification of a gene in *Mycoplasma hominis* associated with preterm birth and microbial burden in intraamniotic infection. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Jun; 212 (6): 779
67. Areia AL, Moura P, Mota-Pinto A: PROSPERO N° CRD42018089859. The role of innate immunity in spontaneous preterm labor: A systematic review. *J Reprod Immunol.* 2019 Nov; 136: 102616.
68. Areia AL, Mota-Pinto A. Inflammation and Preterm Birth: A Systematic Review. *Reprod. Med.* 2022, 3, 101-111.
69. Arenas-Hernandez M, Romero R, St Louis D, Hassan SS, Kaye EB, Gomez-Lopez N. An imbalance between innate and adaptive immune cells at the maternal-fetal interface occurs prior to endotoxin-induced preterm birth. *Cell Mol Immunol.* 2016 Jul; 13 (4): 462-73.
70. Berghella V, Saccone G. Cervical assessment by ultrasound for preventing preterm delivery. *Cochrane Database Syst Rev.* 2019 Sep 25; 9 (9): CD007235.
71. Bessler H, Osovsky M, Beilin B, Alcalay Y, Sirota L. The existence of gender difference in IL-1Ra gene polymorphism. *J Interferon Cytokine Res.* 2007 Nov; 27 (11): 931-5.
72. Boelig RC, Dugoff L, Roman A, Berghella V, Ludmir J. Predicting asymptomatic cervical dilation in pregnant patients with short mid-trimester

- cervical length: A secondary analysis of a randomized controlled trial. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2019 Jun; 98 (6): 761-768.
73. Brummaier T, Kabeer BSA, Chaussabel D, Utzinger J, McGready R, Paris DH. Blood gene transcript signature profiling in pregnancies resulting in preterm birth: A systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol X.* 2020 Sep 22; 8:100118.
74. Chiossi G, Facchinetti F, Vergani P, Di Tommaso M, Marozio L, Acaia B, Pignatti L, Locatelli A, Spitaleri M, Benedetto C, Zaina B, D'Amico R; PROTECT Collaborative Group. Serial cervical-length measurements after first episode of threatened preterm labor improve prediction of spontaneous delivery prior to 37 weeks' gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021 Feb; 57 (2): 298-304.
75. Choi SR, Kim T, Kim Y, Jung S, Choi SJ. The Relationship Between Matrix Metalloproteinase-8 in After Birth Oral Fluid and Acute Histologic Chorioamnionitis in Preterm Delivery. *Reprod Sci.* 2021 Jul; 28 (7): 2023-2028.
76. Cobo T, Kacerovsky M, Jacobsson B. Risk factors for spontaneous preterm delivery. *International J Gynecology Obstetrics.* 2020; 150: 17 - 23.
77. Conde-Agudelo A, Romero R. Does vaginal progesterone prevent recurrent preterm birth in women with a singleton gestation and a history of spontaneous preterm birth? Evidence from a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2022 Sep; 227 (3): 440-461.
78. Daskalakis G, Theodora M, Antsaklis P, Sindos M, Grigoriadis T, Antsaklis A, Papantoniou N, Loutradis D, Pergialiotis V. Assessment of Uterocervical Angle Width as a Predictive Factor of Preterm Birth: A Systematic Review of the Literature. *Biomed Res Int.* 2018 Dec 26; 2018:1837478.
79. Di Renzo GC, Cabero Roura L, Facchinetti F, Helmer H, Hubinont C, Jacobsson B, Jørgensen JS, Lamont RF, Mikhailov A, Papantoniou N, Radzinsky V, Shennan A, Ville Y, Wielgos M, Visser GHA. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of



- Perinatal Medicine. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Sep; 30 (17): 2011-2030.
80. Dochez V, Ducarme G, Gueudry P, Joueidi Y, Boivin M, Boussamet L, Pelerin H, Le Thuaut A, Lamoureux Z, Riche VP, Winer N, Thubert T, Marie E. Methods of detection and prevention of preterm labour and the PAMG-1 detection test: a review. *J Perinat Med.* 2020 Oct 2; 49 (2): 119-126.
  81. Dos Santos F, Daru J, Rogozińska E, Cooper NAM. Accuracy of fetal fibronectin for assessing preterm birth risk in asymptomatic pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2018 Jun; 97 (6): 657-667.
  82. Dugoff L, Barberio A, Whittaker PG, Schwartz N, Sehdev H, Bastek JA. Cell-free DNA fetal fraction and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Aug; 215 (2): 231.e1-7.
  83. Eleje GU, Ezugwu EC, Eke AC, Eleje LI, Ikechebelu JI, Ezebialu IU, Obiora CC, Nwosu BO, Ezeama CO, Udigwe GO, Okafor CI, Ezugwu FO. Accuracy of a combined insulin-like growth factor-binding protein-1/interleukin-6 test (Premaquick) in predicting delivery in women with threatened preterm labor. *J Perinat Med.* 2017 Nov 27; 45 (8): 915-924.
  84. Farràs Llobet A, Higuera T, Calero IZ, Regincós Martí L, Maiz N, Goya MM, Carreras E. Prospective evaluation of the uterocervical angle as a predictor of spontaneous preterm birth. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Nov; 99 (11): 1511-1518.
  85. Frey HA, Stout MJ, Pearson LN, Tuuli MG, Cahill AG, Strauss JF 3rd, Gomez LM, Parry S, Allsworth JE, Macones GA. Genetic variation associated with preterm birth in African-American women. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Aug; 215 (2): 235.e1-8.
  86. Fukuda T, Kyojuka H, Murata T, Yasuda S, Yamaguchi A, Fujimori K. Preventing recurrent preterm birth with 125 mg of 17-alpha-hydroxyprogesterone caproate. *J Obstet Gynaecol Res.* 2021 Sep; 47 (9): 3119-3126.

87. Gates M, Pillay J, Featherstone R, Hartling L, Wilson RD. Effectiveness and Accuracy of Tests for Preterm Delivery in Symptomatic Women: A Systematic Review. *J Obstet Gynaecol Can.* 2019 Mar; 41 (3): 348-362.
88. Gian, Carlo Di Renzo The biological basis and prevention of preterm birth / Gian Carlo Di Renzo, Valentina Tosto, Irene Giardina. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology.* 2018; (52): 13-22.
89. Glover AV, Battarbee AN, Gyamfi-Bannerman C, Boggess KA, Sandoval G, Blackwell SC, Tita ATN, Reddy UM, Jain L, Saade GR, Rouse DJ, Iams JD, Clark EAS, Chien EK, Peaceman AM, Gibbs RS, Swamy GK, Norton ME, Casey BM, Caritis SN, Tolosa JE, Sorokin Y, Manuck TA; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Association Between Features of Spontaneous Late Preterm Labor and Late Preterm Birth. *Am J Perinatol.* 2020 Mar; 37 (4): 357-364.
90. Glover AV, Manuck TA. Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2018 Apr; 23 (2): 126-132.
91. Glover AV, Manuck TA. Review Screening for spontaneous preterm birth and resultant therapies to reduce neonatal morbidity and mortality: A review. *Seminar Fetal Neonatal Medicine.* 2018; 23 (2): 126 - 132.
92. Gomez-Lopez N, Romero R, Schwenkel G, Garcia-Flores V, Panaitescu B, Varrey A, Ayoub F, Hassan SS, Phillippe M. Cell-Free Fetal DNA Increases Prior to Labor at Term and in a Subset of Preterm Births. *Reprod Sci.* 2020 Jan; 27 (1): 218-232.
93. Gründler K, Gerber B, Stubert J. Uterocervical angle as a predictor of preterm birth on a high-risk collective between 20 and 31 weeks of gestation: A cohort analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020 Nov; 99 (11): 1527-1533.
94. Gudnadottir U, Debelius JW, Du J, Hugerth LW, Danielsson H, Schuppe-Koistinen I, Fransson E, Brusselaers N. The vaginal microbiome and the risk

- of preterm birth: a systematic review and network meta-analysis. *Sci Rep.* 2022 May 13; 12 (1):7926.
95. Guerby P, Fillion A, Pasquier JC, Bujold E. Evaluation of midtrimester cervical length thresholds for the prediction of spontaneous preterm birth. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2022 Feb; 51 (2): 102287.
96. Gynecologists. ACOG Obstetric Care Consensus No. 3: Periviable Birth.” *Obstetrics & Gynecology*, 2015.
97. Hallman M, Haapalainen A, Huusko JM, Karjalainen MK, Zhang G, Muglia LJ, Rämet M. Spontaneous premature birth as a target of genomic research. *Pediatr Res.* 2019 Mar; 85 (4): 422-431.
98. Heather FA, Klebanoff MA. The epidemiology, etiology, and costs of preterm birth. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine.* 2016; 21 (2): 68- 73.
99. Helmi H, Siddiqui A, Yan Y, Basij M, Hernandez-Andrade E, Gelovani J, Hsu CD, Hassan SS, Mehrmohammadi M. The role of noninvasive diagnostic imaging in monitoring pregnancy and detecting patients at risk for preterm birth: a review of quantitative approaches. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2022 Feb; 35 (3): 568-591.
100. Helmo FR, Alves EAR, Moreira RAA, Severino VO, Rocha LP, Monteiro MLGDR, Reis MAD, Etchebehere RM, Machado JR, Corrêa RRM. Intrauterine infection, immune system and premature birth. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 May; 31 (9): 1227-1233.
101. Jones EO, Liew ZQ, Rust OA. The Short Cervix: A Critical Analysis of Diagnosis and Treatment. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2020 Dec; 47 (4): 545-567.
102. Keelan JA. Intrauterine inflammatory activation, functional progesterone withdrawal, and the timing of term and preterm birth. *J Reproduction Immunology.* 2018; 125: 89 - 99.
103. Kim JI, Lee JY. Systematic Review of Prediction Models for Preterm Birth Using CHARMS. *Biol Res Nurs.* 2021 Oct; 23 (4): 708-722.

104. Kleinrouweler CE, Cheong-See FM, Collins GS, Kwee A, Thangaratinam S, Khan KS, Mol BW, Pajkrt E, Moons KG, Schuit E. Prognostic models in obstetrics: available, but far from applicable. *Am J Obstet Gynecol.* 2016 Jan; 214 (1): 79-90.
105. Kook SY, Park KH, Jang JA, Kim YM, Park H, Jeon SJ. Vitamin D-binding protein in cervicovaginal fluid as a non-invasive predictor of intra-amniotic infection and impending preterm delivery in women with preterm labor or preterm premature rupture of membranes. *PLoS One.* 2018 Jun 7; 13 (6): e0198842.
106. Krasnyi AM, Gracheva MI, Sadekova AA, Vtorushina VV, Balashov IS, Kan NE, Borovikov PI, Krechetova LV, Tyutyunnik VL. Complex Analysis of Total and Fetal DNA and Cytokines in Blood Plasma of Pregnant Women with Preeclampsia. *Bull Exp Biol Med.* 2018 Apr; 164 (6): 721-725.
107. Leal-Júnior CC, Amorim MMR, Souza GFA, Lima AKS, Souza ASR. Effectiveness of an oral versus sublingual loading dose of nifedipine for tocolysis. *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2020; 148 (3): 310-5.
108. Lucaroni F, Morciano L, Rizzo G, D'Antonio F, Buonuomo E, Palombi L, Arduini D. Biomarkers for predicting spontaneous preterm birth: an umbrella systematic review. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Mar; 31 (6): 726-734.
109. Lucovnik M, Bregar AT, Bombac L, Gersak K, Garfield RE. Effects of vaginal progesterone for maintenance tocolysis on uterine electrical activity. *J. Obstet. Gynaecol. Res.* 2018; 44 (3): 408-16.
110. Maher MA, Sayyed TM, El-Khadry SW. Nifedipine alone or combined with sildenafil citrate for management of threatened preterm labour: a randomised trial. *BJOG.* 2019; 126 (6): 729-35.
111. Manuck TA, Esplin MS, Biggio J, Bukowski R, Parry S, Zhang H, Huang H, Varner MW, Andrews W, Saade G, Sadovsky Y, Reddy UM, Ileakis J. Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Genomics and Proteomics Network for Preterm Birth Research.

- The phenotype of spontaneous preterm birth: application of a clinical phenotyping tool. *Am J Obstet Gynecol.* 2015 Apr; 212 (4): 487.e1-487.e11.
112. Manuck TA. Racial and ethnic differences in preterm birth: A complex, multifactorial problem. *Seminars in perinatology.* 2017; 41 (8): 511 -518.
113. Meertens LJE, van Montfort P, Scheepers HCJ, van Kuijk SMJ, Aardenburg R, Langenveld J, van Dooren IMA, Zwaan IM, Spaanderman MEA, Smits LJM. Prediction models for the risk of spontaneous preterm birth based on maternal characteristics: a systematic review and independent external validation. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2018 Aug; 97 (8): 907-920.
114. Menon R, Shahin H. Extracellular vesicles in spontaneous preterm birth. *Am J Reprod Immunol.* 2021 Feb; 85 (2): e13353.
115. Miller D, Motomura K, Garcia-Flores V, Romero R, Gomez-Lopez N. Innate Lymphoid Cells in the Maternal and Fetal Compartments. *Front Immunol.* 2018 Oct 26; 9:2396.
116. Mishra S, Bagga R, Kalra J, Jain V, Dutta S. Routine second trimester cervical length screening in low risk women identified women at risk of a 'very' preterm birth but did not reduce the preterm birth rate: a randomised study from India. *J Obstet Gynaecol.* 2018 Aug; 38 (6): 789-795.
117. Monangi NK, Brockway HM, House M, Zhang G, Muglia LJ. The genetics of preterm birth: Progress and promise. *Semin Perinatol.* 2015 Dec; 39 (8): 574-83.
118. Nadeau HC, Subramaniam A, Andrews WW. Infection and preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Medicine.* 2016; 21 (2): P.1005
119. Nadeau-Vallée M, Obari D, Quiniou C, Lubell WD, Olson DM, Girard S, Chemtob S. A critical role of interleukin-1 in preterm labor. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2016 Apr; 28: 37-51.
120. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). *Preterm Labour and Birth.* London: National Institute for Health and Care Excellence (UK); 2015 Nov.

121. Nijman T, van Baaren GJ, van Vliet E, Kok M, Gyselaers W, Porath MM, Woiski M, de Boer MA, Bloemenkamp K, Sueters M, Franx A, Mol B, Oudijk MA. Cost effectiveness of nifedipine compared with atosiban in the treatment of threatened preterm birth (APOSTEL III trial). *BJOG*. 2019 Jun; 126 (7): 875-883.
122. Nijman TAJ, Goedhart MM, Naaktgeboren CN, de Haan TR, Vijlbrief DC, Mol BW, Benders MJN, Franx A, Oudijk MA. Effect of nifedipine and atosiban on perinatal brain injury: secondary analysis of the APOSTEL-III trial. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jun; 51 (6): 806-812.
123. Oskovi Kaplan ZA, Ozgu-Erdinc AS. Prediction of Preterm Birth: Maternal Characteristics, Ultrasound Markers, and Biomarkers: An Updated Overview. *J Pregnancy*. 2018 Oct 10; 2018:8367571.
124. Ourlad Tantengco AG, Menon R. Contractile function of the cervix plays a role in normal and pathological pregnancy and parturition. *Medical Hypotheses*. 2020 Dec; 145: 110336.
125. Pandey M, Chauhan M, Awasthi S. Interplay of cytokines in preterm birth. *Indian J Med Res*. 2017; 146 (3): 316 - 327.
126. Parets SE, Conneely KN, Kilaru V, Menon R, Smith AK. DNA methylation provides insight into intergenerational risk for preterm birth in African Americans. *Epigenetics*. 2015; 10 (9): 784-92.
127. Park H, Park KH, Kim YM, Kook SY, Jeon SJ, Yoo HN. Plasma inflammatory and immune proteins as predictors of intra-amniotic infection and spontaneous preterm delivery in women with preterm labor: a retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2018 May 9; 18 (1):146.
128. Perin J, Mulick A, Yeung D, Villavicencio F, Lopez G, Strong KL, Prieto-Merino D, Cousens S, Black RE, Liu L. Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000-19: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals. *Lancet Child Adolesc Health*. 2022 Feb; 6 (2): 106-115.

129. Pizzella S, El Helou N, Chubiz J, Wang LV, Tuuli MG, England SK, Stout MJ. Evolving cervical imaging technologies to predict preterm birth. *Semin Immunopathol.* 2020 Aug; 42 (4): 385-396.
130. Pohl O, Marchand L, Gotteland JP, Coates S, Täubel J, Lorch U. Pharmacokinetics, safety and tolerability of OBE022, a selective prostaglandin F2 $\alpha$  receptor antagonist tocolytic: A first-in-human trial in healthy postmenopausal women. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2018; 84 (8): 1839-55.
131. Pohl O, Marchand L, Gotteland JP, Coates S, Täubel J, Lorch U. Coadministration of the prostaglandin F2 $\alpha$  receptor antagonist preterm labour drug candidate OBE022 with magnesium sulfate, atosiban, nifedipine and betamethasone. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2019; 85 (7): 1516-27.
132. Queensland Clinical Guidelines. Preterm labour and birth. Guideline No. MN20.6-V10-R25. Queensland Health. June 2020.
133. Quezada MS, Francisco C, Dumitrascu-Biris D, Nicolaidis KH, Poon LC. Fetal fraction of cell-free DNA in maternal plasma in the prediction of spontaneous preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan; 45 (1): 101-5.
134. Romero R, Nicolaidis KH, Conde-Agudelo A, O'Brien JM, Cetingoz E, Da Fonseca E, Creasy GW, Hassan SS. Vaginal progesterone decreases preterm birth  $\leq$  34 weeks of gestation in women with a singleton pregnancy and a short cervix: an updated meta-analysis including data from the OPPTIMUM study. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016 Sep; 48 (3): 308-17.
135. Radochova V, Kacerovska Musilova I, Stepan M, Vescicik P, Slezak R, Jacobsson B, Kacerovsky M. Periodontal disease and intra-amniotic complications in women with preterm prelabor rupture of membranes. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Nov; 31 (21): 2852-2861.
136. Raglan GB, Lannon SM, Jones KM, Schulkin J. Racial and Ethnic Disparities in Preterm Birth Among American Indian and Alaska Native Women. *Matern Child Health J.* 2016 Jan; 20 (1): 16-24.

137. Ramsden CE, Makrides M, Yuan ZX, Horowitz MS, Zamora D, Yelland LN, Best K, Jensen J, Taha AY, Gibson RA. Plasma oxylipins and unesterified precursor fatty acids are altered by DHA supplementation in pregnancy: Can they help predict risk of preterm birth? *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2020 Feb; 153:102041.
138. Roman A, Gulersen M, Boelig RC, Berghella V. Proposed staging criteria for sonographic and physical exam for cervical changes at <24 weeks gestation to predict preterm birth. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2023 Jan; 5 (1): 100753.
139. Sifakis S, Koukou Z, Sifakis DA. Cell-free fetal DNA and pregnancy-related complications (review). *Molecular medicine reports*. 2015; 11 (4): 2367 - 2372.
140. Silasi M, Cardenas I, Kwon JY, Racicot K, Aldo P, Mor G. Viral infections during pregnancy. *Am J Reprod Immunol*. 2015 Mar; 73 (3): 199-213.
141. Son M, Miller ES. Predicting preterm birth: Cervical length and fetal fibronectin. *Seminar Perinatology*. 2017; 41 (8): 445 - 451.
142. Souza RT, Cecatti JG. A Comprehensive Integrative Review of the Factors Associated with Spontaneous Preterm Birth, Its Prevention and Prediction, Including Metabolomic Markers. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2020 Jan; 42 (1): 51-60.
143. Stock SJ, Horne M, Bruijn M, White H, Boyd KA, Heggie R, Wotherspoon L, Aucott L, Morris RK, Dorling J, Jackson L, Chandiramani M, David AL, Khalil A, Shennan A, van Baaren GJ, Hodgetts-Morton V, Lavender T, Schuit E, Harper-Clarke S, Mol BW, Riley RD, Norman JE, Norrie J. Development and validation of a risk prediction model of preterm birth for women with preterm labour symptoms (the QUIDS study): A prospective cohort study and individual participant data meta-analysis. *PLoS Med*. 2021 Jul 6; 18 (7): e1003686.



144. Stock SJ, Horne M, Bruijn M, White H, Heggie R, Wotherspoon L, Boyd K, Aucott L, Morris RK, Dorling J, Jackson L, Chandiramani M, David A, Khalil A, Shennan A, Baaren GV, Hodgetts-Morton V, Lavender T, Schuit E, Harper-Clarke S, Mol B, Riley RD, Norman J, Norrie J. A prognostic model, including quantitative fetal fibronectin, to predict preterm labour: the QUIDS meta-analysis and prospective cohort study. *Health Technol Assess.* 2021 Sep; 25 (52): 1-168.
145. Carter RA, Pan K, Harville EW, McRitchie S, Sumner S. Metabolomics to reveal biomarkers and pathways of preterm birth: a systematic review and epidemiologic perspective. *Metabolomics.* 2019 Sep 10; 15 (9): 124.
146. Suff N, Story L, Shennan A. The prediction of preterm delivery: What is new? *Semin Fetal Neonatal Med.* 2019 Feb; 24 (1): 27-32.
147. Thain S, Yeo GSH, Kwek K, Chern B, Tan KH. Spontaneous preterm birth and cervical length in a pregnant Asian population. *PLoS One.* 2020 Apr 13; 15 (4): e0230125.
148. Thomson AJ. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Care of Women Presenting with Suspected Preterm Prelabour Rupture of Membranes from 24+0 Weeks of Gestation: Green-top Guideline No. 73. *BJOG.* 2019 Aug; 126 (9): e152-e166.
149. Thurik FF, Lamain-de Ruyter M, Javadi A, Kwee A, Woortmeijer H, Page-Christiaens GC, Franx A, van der Schoot CE, Koster MP. Absolute first trimester cell-free DNA levels and their associations with adverse pregnancy outcomes. *Prenat Diagn.* 2016 Dec; 36 (12): 1104-1111.
150. van Boeckel SR, Davidson D J, Norman JE, Stock SJ. Cell-free fetal DNA and spontaneous preterm birth. *Reproduction (Cambridge, England).* 2018; 155 (3): 137-145.
151. van Winden T, Klumper J, Kleinrouweler CE, Tichelaar MA, Naaktgeboren CA, Nijman TA, van Baar AL, van Wassenaer-Leemhuis AG, Roseboom TJ, Van't Hooft J, Roos C, Mol BW, Pajkrt E, Oudijk MA. Effects

- of tocolysis with nifedipine or atosiban on child outcome: follow-up of the APOSTEL III trial. *BJOG*. 2020 Aug; 127 (9): 1129-1137.
152. Ville Y, Rozenberg P. Predictors of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2018 Oct; 52: 23-32.
153. Vink JY, Qin S, Brock CO, Zork NM, Feltovich HM, Chen X, Urie P, Myers KM, Hall TJ, Wapner R, Kitajewski JK, Shawber CJ, Gallos G. A new paradigm for the role of smooth muscle cells in the human cervix. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 Oct; 215 (4): 478.e1-478.e11.
154. Vogel JP, Chawanpaiboon S, Moller AB, Watananirun K, Bonet M, Lumbiganon P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol*. 2018; 52: 3-12.
155. Walsh SW, Chumble AA, Washington SL, Archer KJ, Sahingur SE, Strauss JF 3rd. Increased expression of toll-like receptors 2 and 9 is associated with reduced DNA methylation in spontaneous preterm labor. *J Reprod Immunol*. 2017 Jun; 121: 35-41.
156. Wei S, Lai K, Yang Z, Zeng K. Systemic lupus erythematosus and risk of preterm birth: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Lupus*. 2017 May; 26 (6): 563-571.
157. Wotherspoon LM, Boyd KA, Morris RK, Dorling J, Jackson L, Chandiramani M, David AL, Khalil A, Shennan A, Hodgetts Morton V, Lavender T, Khan K, Harper-Clarke S, Mol BW, Riley RD, Norrie J, Norman JE. Quantitative fibronectin to help decision-making in women with symptoms of preterm labour (QUIDS) part 1: Individual participant data meta-analysis and health economic analysis. *BMJ Open*. 2018 Apr 7; 8 (4): e020796.
158. Yang Q, Fan X, Cao X, Hao W, Lu J, Wei J, Tian J, Yin M, Ge L. Reporting and risk of bias of prediction models based on machine learning methods in preterm birth: A systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2023 Jan; 102 (1): 7-14.

159. Yang X, Meng T. Killer-cell immunoglobulin-like receptor/human leukocyte antigen-C combination and 'great obstetrical syndromes' (Review). *Exp Ther Med.* 2021 Oct; 22 (4): 1178.
160. Yuan Y, Zhao L, Ye Z, Ma H, Wang X, Jiang Z. Association of toll-like receptor 9 expression with prognosis of systemic lupus erythematosus. *Exp Ther Med.* 2019 Apr; 17 (4): 3247-3254.