

Министерство здравоохранения российской федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский государственный медицинский университет»

На правах рукописи

КУДРЯВЦЕВА
Елена Владимировна

«БОЛЬШИЕ АКУШЕРСКИЕ СИНДРОМЫ»: ПАТОГЕНЕЗ,
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ, ТАКТИКА

14.01.01 – акушерство и гинекология

диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук

Научный консультант:
Баранов Игорь Иванович
Доктор медицинских наук, профессор

Москва

2020

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. БИОЛОГИЯ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»: ПРЕДИКТОРЫ, ФАКТОРЫ РИСКА, ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗ (ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ).....	15
1.1. Этиопатогенетическая концепция «больших акушерских синдромов»	15
1.2. Генетические основы развития осложнений беременности	19
1.2.1. Материнский геном и его роль в формировании «больших акушерских синдромов».....	19
1.2.2 Роль генотипа плода в развитии осложнений беременности	31
1.3. Факторы риска «больших акушерских синдромов», современные прогностические возможности	39
1.4. Пренатальный скрининг врожденной и наследственной патологии плода, как предиктор «больших акушерских синдромов»	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	69
2.1. Дизайн исследования.....	69
2.2. Клиническая характеристика исследуемых групп.....	77
2.3. Методы исследования	115
2.3.1 Общие клинические исследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, микроскопическое исследование отделяемого половых органов, гемостазиологические параметры, биохимические показатели крови)	116
2.3.2. Молекулярно-генетические методы исследования (анализ полиморфизмов генов, цитогенетические исследования, хромосомный микроматричный анализ, неинвазивный пренатальный тест)	118
2.3.3. Ультразвуковое исследование, доплерометрия и кардиотокография.....	123
2.4. Статистические методы.....	124
ГЛАВА 3. ДЕВИАЦИИ МАТЕРИНСКОГО ГЕНОМА И РИСК «БОЛЬШИХ	

АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»	129
3.1 Полиморфные варианты генов-кандидатов ассоциированных с «большими акушерскими синдромами»	129
3.2 Сочетания наиболее значимых полиморфных вариантов генов и риск «больших акушерских синдромов»	150
3.3 Компьютеризированный прогноз «больших акушерских синдромов» на основе анализа полиморфных вариантов генов.....	161
ГЛАВА 4. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТА И ПРОГНОЗ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»	164
4.1 Оценка эффективности выделения групп риска беременных по хромосомной патологии плода на основе популяционных показателей НИПС	164
4.2. Оценка возможностей выделения групп риска «больших акушерских синдромов» на основе результатов НИПС	179
4.3 Пренатальная диагностика врожденной и наследственной патологии плода в прогнозировании «больших акушерских синдромов»	183
ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ОЦЕНКА РОЛИ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ГЕНЕЗЕ ЭЛЕМЕНТОВ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ» - НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ.....	193
5.1 Современные возможности молекулярно-генетических исследований (хромосомный микроматричный анализ) в диагностике хромосомных аномалий эмбриона при невынашивании беременности: преимущества и ограничения метода.....	193
5.2 Сравнительная характеристика хромосомного микроматричного анализа и цитогенетического изучения abortивного материала при спорадической и привычной потере беременности	203
5.3. Алгоритм обследования пациентки при неразвивающейся беременности.	207

5.4. Исследование генетических полиморфизмов при невынашивании беременности	210
ГЛАВА 6. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ».....	
6.1. Лабораторные показатели в исследуемых группах.....	230
6.2 . Прогностические математические модели «больших акушерских синдромов» и оценка их эффективности	247
6.3. Оптимизация оказания акушерской помощи и персонифицированный алгоритм принятия тактических решений при высоком риске «больших акушерских синдромов».	278
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	285
ВЫВОДЫ.....	313
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	316
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	318
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	322

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

Анализ современной научной литературы неизбежно наводит на мысль, что мы все еще очень далеки от ясного понимания этиологических факторов и патогенеза заболеваний, составляющих основу ведущих осложнений беременности, приводящих к неблагоприятным исходам беременности и родов, перинатально детерминированной патологии у детей. Появившаяся несколько лет назад идея об общности патогенетических процессов, ассоциированных с возникновением наиболее типичных и при этом наиболее опасных с точки зрения перинатологии заболеваний, задала новый вектор в изучении фундаментальных основ онтогенеза, заставила по новому взглянуть на роль провизорных органов, в частности – плаценты, в генезе так называемых «больших акушерских синдромов», к которым относят преэклампсию, плацентарную недостаточность, сопровождающуюся задержкой роста плода, преждевременные роды и невынашивание беременности в целом [170, 309]. Перечисленная патология дает львиную долю перинатальных потерь, материнской и перинатальной заболеваемости и смертности [9, 10, 17, 32, 60, 63, 71, 72, 73, 76, 77].

Несмотря на бесспорные успехи, достигнутые службой охраны материнства и детства в снижении основополагающих показателей её деятельности, ситуация с реальным положением дел остаётся не столь безоблачной и не способствует безудержному оптимизму [17, 32, 63, 71, 77]. Проблема не только в том, что уменьшение материнской и младенческой заболеваемости и смертности в нашей стране достигнуто преимущественно за счет организационных усилий [71, 72], масштабных финансовых вливаний, положительный потенциал которых в значительной степени исчерпан, но и в том, что непонимание глубинных патофизиологических и биологических основ данных заболеваний сводит на нет усилия по разработке профилактических и прогностических мер. Это означает, что дальнейшие

перспективы борьбы с обсуждаемой патологией остаются весьма призрачными.

Появившиеся и ставшие доступными в последние годы не только для теоретических изысканий, но и прикладных медицинских исследований, новые высокоинформативные диагностические инструменты (неинвазивный пренатальный тест, хромосомный микроматричный анализ, молекулярно-генетическое исследование, различные варианты секвенирования генома) [87, 94, 113, 140, 141, 209, 256, 270, 311, 355] дают надежду на появление новых знаний, на основе которых будут разработаны патогенетические модели акушерской патологии, предложены методы её прогноза и профилактики.

Цель исследования состоит в разработке интегральной патогенетической модели «больших акушерских синдромов» на основе изучения молекулярно-генетических механизмов формирования данной патологии для снижения их частоты и степени выраженности, улучшения перинатальных исходов.

Задачи исследования.

1. Представить клинико-anamnestическую характеристику пациенток, перенесших верифицированные «большие акушерские синдромы» (тяжелую преэклампсию, задержку внутриутробного роста плода 2-3 степени, преждевременные роды, антенатальную гибель плода) с подробным анализом результатов инструментальных и лабораторных исследований в динамике беременности для выделения факторов риска формирования данной патологии.

2. Выяснить значение полиморфных вариантов генов, относящихся к различным генетическим сетям и системам, и их сочетаний в формировании «больших акушерских синдромов».

3. Изучить прогностические возможности современного неинвазивного пренатального тестирования (free DNA плода) в отношении «больших акушерских синдромов» и основных анеуплоидий плода на примере анализа

эпидемиологических данных в Российской Федерации за 5 лет и углубленного многофакторного анализа пациенток Свердловской области за 3 года.

4. Исследовать значение хромосомных девиаций эмбриона в генезе потери беременности с использованием хромосомного микроматричного анализа.

5. На основе молекулярно-генетических исследований и результатов клинико-anamнестического анализа пациенток, перенесших «большие акушерские синдромы» - тяжелую преэклампсию, задержку внутриутробного роста плода 2-3 степени, преждевременные роды, антенатальную гибель плода, - разработать прогностические модели в отношении осложнений гестации.

6. Разработать алгоритм ведения беременности группы повышенного риска формирования «больших акушерских синдромов» с использованием патогенетической прогностической модели.

Методология и методы исследования

Методология исследования базировалась на принципах доказательной медицины. Все исследования проведены с учетом требований и в соответствии с положениями 59 (Seoul, Republic of Korea, 2008) и 64 (Fortaleza, Brazil, 2013) пересмотров Хельсинкской декларации «Этические принципы проведения научных и медицинских исследований с участием человека», разработанной Всемирной медицинской ассоциацией и нормативных документов «Правила клинической практике в Российской Федерации», утвержденными приказом №226 от 19.06.03 министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. От всех участниц исследования было получено добровольное информированное согласие на участие в научном исследовании и на обработку персональных данных.

Проведено ретроспективное сравнительное сплошное когортное исследование, состоящее из 5 этапов. На 1 этапе исследования проводился

ретроспективный анализ факторов риска и предикторов различных осложнений беременности – анамнестических, клинических, лабораторных и молекулярно-генетических. На 2 этапе проведено эпидемиологическое исследование, где мы анализировали пациенток, которым был проведен неинвазивный пренатальный скрининг. Далее, на 3 этапе исследования, из всей когорты пациенток второго этапа была выделена группа пациенток Свердловской области, которым был проведен углубленный анализ течения и исходов беременности. На 4 этапе исследования мы исследовали группу пациенток с невынашиванием беременности – проводился генетический анализ продуктов зачатия. 5 этап был посвящен разработке прогностических моделей больших акушерских синдромов и проспективной оценке их эффективности.

Для решения поставленных в данной работе цели и задач мы использовали комплексный подход, который включал в себя анамнестические, клинические, лабораторные, инструментальные, молекулярно-генетические и статистические методы исследования. Выбор в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами обследования в акушерстве, рекомендациями по лабораторной диагностике и статистическим исследованиям.

Личный вклад автора

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор разработал концептуальные подходы к достижению поставленной цели исследования, полностью провел сбор первичного материала, его обработку, осуществил анализ результатов и интерпретацию полученных данных, участвовал в публикации результатов выполненной работы, формулировке выводов и практических рекомендаций диссертационного исследования.

Степень достоверности, апробация результатов

Исследования проводились в соответствии с принципами доказательной медицины. Высокая степень достоверности результатов исследования, обоснованность выводов и практических рекомендаций базируются на

достаточном числе наблюдений, продуманном методическом и методологическом подходах к выполнению исследования, статистической обработке полученных результатов современными методами статистического анализа с использованием стандартного пакета прикладных компьютерных программ Microsoft Excel (2010), SPSS 22.0, IBM, Statistica for Windows 10.0 (Stat Soft Inc., США), Jamovi (США).

Диссертационная работа обсуждена на заседании проблемной комиссии «Перинатальная медицина» ФГБОУ ВО «УГМУ» 9 июня 2020 года, протокол №3.

Положения диссертации представлены на следующих научно-практических конференциях и конгрессах: «Репродуктивное здоровье семьи – гарантия безопасности государства» (Екатеринбург, 2015), X международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2016), II и IV Международный конгресс "Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине" (Новосибирск, 2017, 2019), 10-й, 11-й, 12-й общероссийский семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2017-2019), XVIII Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Москва, 2017), II общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России» (Ростов-На-Дону, 2017), X Региональная образовательная школа РОАГ (Екатеринбург, 2017), XI региональный научный форум «Мать и дитя» (Ярославль, 2018), Научно-практическая конференция «Тромбоз, гемостаз и репродукция» (Санкт-Петербург, 2018), Европейский конгресс по перинатальной медицине (ЕСРМ CONGRESS) (Санкт-Петербург, 2018), II международная зимняя школа по репродуктивной генетике (Москва, 2018), Genetics, Genetic disorders and stem cell (Стокгольм, 2019), XII Региональный научно-образовательный форум и Пленум Правления Российского общества акушеров-гинекологов «Мать и дитя» (Сочи, 2019), IV общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: уральские чтения» (Екатеринбург, 2019), Третий евразийский конгресс с

международным участием «Инновации в медицине: образование, наука, практика» (Екатеринбург, 2019), VI конгресс акушеров-гинекологов УФО с международным участием «Инновации в перинатальной и репродуктивной медицине» (Екатеринбург, 2019), 2nd International Summit on Assisted Reproduction and Genetics (May, 2020 – Online congress), XIII региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Казань, 2020), ESHRE virtual 36th Annual Meeting (July, 2020).

Положения, выносимые на защиту.

1. «Большие акушерские синдромы» - это мультифакториальная патология с наличием генетической предрасположенности, в реализации которой играют роль взаимодействия нескольких генов различных генных сетей.

2. Ряд параметров, используемых для оценки риска хромосомной патологии плода при различных вариантах пренатального скрининга, могут быть применены также для оценки риска осложненного течения беременности.

3. Одной из ведущих причин как спорадического, так и привычного выкидыша, являются геномные девиации у эмбриона (плода).

4. Разработанные математические модели обеспечивают персонифицированное прогнозирование «больших акушерских синдромов» в целом и отдельных их составляющих: тяжелой преэклампсии, задержки внутриутробного роста плода 2-3 степени, преждевременных родов, антенатальной гибели плода.

5. Алгоритм ведения беременности при высоком риске «больших акушерских синдромов» способствует своевременному принятию решений о тактике ведения, целенаправленному назначению профилактических мер и, как следствие, улучшению перинатальных исходов.

Научная новизна исследования

В результате проведенных исследований установлено, что формирование «больших акушерских синдромов» обусловлено рядом

сочетанных изменений молекулярно-генетического аппарата. При этом имеют значение не только и не столько точечные нарушения нуклеотидных последовательностей, сколько сочетание нескольких полиморфных вариантов генов, входящих в разные генные сети, кодирующие различные ферментные системы. В частности, показано, что сочетание у одной и той же пациентки относительно малозначимых полиморфизмов в генах, определяющих тромбофилический статус приводит к существенному повышению развития осложнений беременности.

Впервые на российской популяции показано, что низкая фетальная фракция при неинвазивном пренатальном тесте, ассоциирована как с повышенным риском хромосомных аномалий у плода, так и с повышенным риском формирования «больших акушерских синдромов» в течение беременности. Установлены предположительные причинно-следственные связи между низкой фетальной фракцией и формированием плацентарной недостаточности.

Подтверждено значение хромосомных девиаций в генезе невынашивания беременности. При этом продемонстрировано, что хромосомные нарушения являются ведущей причиной не только спорадического, но и привычного невынашивания беременности. Причем структура этих хромосомных нарушений близко совпадает.

Углубленный анализ клинико-анамнестических особенностей пациенток, перенесших «большие акушерские синдромы» (тяжелую преэклампсию, задержку внутриутробного роста плода 2-3 степени, преждевременные роды, антенатальную гибель плода), впервые продемонстрировал наиболее характерные для этой патологии черты общего и специального анамнеза, соматической патологии, которые играют определяющую роль в формировании клинических особенностей «больших акушерских синдромов».

На основе анамнестических, инструментальных, молекулярно-генетических данных с использованием современного математического

аппарата разработана и научно обоснована прогностическая модель возникновения «больших акушерских синдромов», позволяющая с высокой специфичностью и чувствительностью (соответственно 83,5% и 89,3%) предсказывать их формирование. Помимо этого, разработаны прогностически модели для отдельных осложнений беременности – тяжелой преэклампсии, ЗВУР 2-3 степени без преэклампсии, преждевременных родов, антенатальной гибели плода.

Теоритическая и практическая значимость работы

Расширены представления о патогенезе «Больших акушерских синдромов», уточнена роль генетической предрасположенности в развитии осложнений беременности.

Проведено эпидемиологическое исследование, в котором доказана эффективность неинвазивного пренатального скрининга хромосомных аномалий в российской популяции. Продемонстрирована возможность использования данного исследования не только для оценки риска хромосомной патологии у плода, но и для оценки риска осложнений беременности.

Показана роль генетического исследования абортивного материала и доказана необходимость включения данного исследования в алгоритм обследования пациенток с произошедшей неразвивающейся беременностью. Проиллюстрированы преимущества хромосомного микроматричного анализа перед стандартным цитогенетическим исследованием и возможность его применения в клинической практике.

Результатом выполненной научной работы стали несколько обобщающих рекомендаций, имеющих важное значение для клинической практики. В частности, разработанная нами прогностическая модель формирования «больших акушерских синдромов» позволяет предсказать их возникновение в ранние сроки беременности, что является основанием для применения определенных профилактических мер, которые в свою очередь снижают не только вероятность их формирования в поздние сроки, но и

степень выраженности их клинических проявлений.

Алгоритм прогноза «больших акушерских синдромов» основанный на разработанной нами прогностической модели, охватывающий и прегравидарный этап, может с успехом использоваться в клинической практике для предотвращения данной патологии или снижения степени ее тяжести.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в клиническую практику родильного дома МАУ ГКБ№14, многопрофильной клиники и родильного дома ООО «Наш МЦ «Парацельс», ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Минздрава России (г. Екатеринбург), Областного Перинатального Центра ГБУЗ СО ОДГБ№1, г. Екатеринбург, медико-генетического центра ООО «Геномед», клинко-диагностического центра «Охрана здоровья матери и ребенка»; используются в педагогическом процессе на кафедре акушерства и гинекологии ФПК и ПП и педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург, включены в рабочие программы и учебно-методические комплексы преподавания дисциплины «акушерство и гинекология» для студентов, клинических ординаторов, врачей-курсантов.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 33 научных работы, в том числе 19 в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ. Соискателем опубликовано 9 работ в материалах всероссийских и международных конференций и конгрессов. Опубликовано 3 учебных пособия и 1 методические рекомендации для врачей. Получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 366 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов, четырех глав по результатам собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списков использованных сокращений и литературы. Работа иллюстрирована 86 таблицами и 49 рисунками. Библиографический список включает 370 источник, из них 112 отечественных и 258 иностранных авторов.

ГЛАВА 1. БИОЛОГИЯ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»: ПРЕДИКТОРЫ, ФАКТОРЫ РИСКА, ПАТОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗ (ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Этиопатогенетическая концепция «больших акушерских синдромов»

В основе перинатологии, как науки, лежит гипотеза, состоящая в том (и находящая в этом все большее подтверждение), что здоровье человека, а, следовательно и его судьба, закладывается во внутриутробном периоде. Именно эти 280 дней, а также 2 последующих года жизни (в совокупности «первые 1000 дней жизни») определяют, что будет из себя представлять человек, чего в конечном итоге он добьется, как и сколько он проживет [309]. Профилактика и ранняя диагностика гестационных осложнений имеют определяющее значение не только для снижения уровня материнской и младенческой смертности, но и для снижения уровня заболеваемости в течение всей дальнейшей жизни человека. К примеру, на сегодняшний день есть данные, что гипертензивные расстройства при беременности у матери ассоциированы с синдромом дефицита внимания, расстройствами аутистического спектра и нарушением умственного развития у ребенка в будущем [228, 247].

R. Romero в своей статье «Perinatal medicine: The child is a father of a man» («Перинатальная медицина: Ребенок рождает человека») подчеркивал, что перинатальный период определяет состояние здоровья человека в течение всей его дальнейшей жизни и играет ключевую роль в формировании его будущего. При этом он отметил, что на сегодняшний день ситуация в перинатальной медицине такова, что мы диагностируем клинические синдромы, но не определяем заболевания и патогенетические механизмы, лежащие в их основе. Например, мы диагностируем преждевременные роды, но не всегда можем дифференцировать вызваны ли

они инфекцией, сосудистой патологией, избыточной активностью миометрия либо чем-либо еще. Поэтому не стоит рассчитывать, что существует какой-либо универсальный маркер, который имеет прогностическое значение во всех случаях [309].

Мысль о том, что осложнения беременности меняют обычный ход вещей, сказываются на состоянии плода и имеют долговременные последствия для новорожденного не нова, но в последние годы в связи с бурным развитием прикладной генетики, она получила новое звучание.

В настоящее время в акушерской практике широко используется термин «Большие акушерские синдромы», хотя более правильный перевод - «Великие акушерские синдромы» (“Great obstetrics syndromes”) - и это лучше отражает их значение. Эти синдромы объединяют как раз те осложнения беременности, которые обуславливают высокую степень материнской и перинатальной заболеваемости и смертности. К большим акушерским синдромам относят преэклампсию, преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, внутриутробную задержку роста плода, внутриутробную гибель плода и привычное невынашивание беременности [170, 309]. Объединить их в одну группу позволяет общий этиопатогенез. При этом каждый большой акушерский синдром имеет собственную клиническую картину. Считается, что развитие определенного синдрома зависит от взаимодействия генов и окружающей среды, а также от взаимодействия материнского и фетального генотипов.

Родоначальниками концепции «больших акушерских синдромов» стали в 2009 году G. C. Di Renzo и R. Romero. В колонке редактора в журнале «The Journal of Maternal and Fetal Medicine» [170] G. C. Di Renzo заявил, что следует пересмотреть взгляд на основные акушерские состояния, обуславливающие материнскую и перинатальную заболеваемость и смертность, и относиться к ним не как к самостоятельным заболеваниям, а как к синдромам. Здесь же он привел основные характеристики «больших акушерских синдромов», которые были многократно процитированы в

различных статьях: 1) полиэтиологичность; 2) длительный бессимптомный период; 3) адаптивность по природе; 4) вовлечение плода; 5) данные синдрома являются результатом сложных взаимодействий между материнским и фетальным геномом и окружающей средой. Идея заключается в том, что основа этиопатогенеза у этих синдромов общая, но при этом причины, запускающие его, могут быть совершенно различны [170].

Многими авторами подчеркивается, что «большие акушерские синдромы» – это результат адаптивного ответа материнско-плодового комплекса на патологические импульсы. С помощью определенных механизмов организм матери пытается защитить плод от неблагоприятных воздействий (например, с помощью преждевременных родов вытесняя его из неблагоприятной среды, или с помощью повышения артериального давления компенсируя нарушенный кровоток в сосудах матки и плаценты). В результате, не в полной мере понимая суть патогенетических механизмов, мы фиксируем лишь конечный клинический итог, развившийся вследствие реализации патологического механизма. Очевидно, что воздействуя на симптом, а не на изначальную причину патологии, нельзя рассчитывать на искомый эффект, при этом существует реальный риск повреждения внутриутробного плода. Однако длительная доклиническая фаза развития патологии дает надежду, что удастся разработать способы не только прогнозирования, но и предотвращения формирования «больших акушерских синдромов», предупредить и снизить степень тяжести их последствий для матери и ребенка [139, 170, 309].

В настоящее время установлено, что в процессе плацентации происходит уникальная ремоделяция сосудов. В процессе глубокой инвазии клеток цитотрофобласта при формировании плаценты происходит практически полная трансформация децидуальных и миометральных сегментов спиральных артерий. Дефектная плацентация изначально была описана в связи с преэклампсией и задержкой внутриутробного роста плода (ЗВУР), но в настоящее время появились данные, что она также

ассоциирована и с другими «большими акушерскими синдромами», включающими спонтанные аборт, преждевременные роды и преждевременный разрыв плодных оболочек [139]. Уже неоднократно подчеркивалось, что «большие акушерские синдромы» имеют общие патологические механизмы. Основные из них это патология сосудов, нарушение гемостаза, извращение иммунного ответа (воспаление), эндокринные нарушения и неустойчивость к воздействию неблагоприятных токсических факторов окружающей среды [139].

В норме при физиологической беременности цитотрофобласт мигрирует от ворсин хориона и внедряется в матку, достигая внутреннего слоя миометрия. Клетки плаценты при этом наполовину содержат материнские гены, а наполовину – отцовские, то есть для материнского организма они полуаллогенны. В стенке матки цитотрофобласт внедряется в спиральные артерии и достигает их эндотелиальной выстилки, при этом происходит лизис гладкомышечной стенки, за счет чего спиральные артерии приобретают свойства, необходимые для адекватной перфузии плаценты. При больших акушерских синдромах происходит нарушение глубины проникновения клеток цитотрофобласта, гестационная трансформация спиральных артерий осуществляется не в полной мере, что связано с нарушением их ремоделирования и обструктивными поражениями [139, 183].

Задача исследователей заключается в том, чтобы идентифицировать патофизиологические механизмы, лежащие в основе «больших акушерских синдромов», на молекулярном и клеточном уровне. Только это даст возможность разработки эффективных скрининговых программ для раннего выявления акушерских проблем, которые клинически проявляются, как правило, только в III триместре, когда существенно повлиять на перинатальные исходы уже не удастся [309]. Современная медицинская наука пытается разрабатывать прогностические алгоритмы развития акушерской патологии в надежде, что прогноз поможет предотвратить развитие осложнений.

1.2. Генетические основы развития осложнений беременности

1.2.1. Материнский геном и его роль в формировании «больших акушерских синдромов»

В развитии осложнений беременности явно существует генетический компонент, о чем свидетельствуют исследования наследуемости, анализ популяционных баз данных, отягощенный семейный анамнез у пациенток, имевших данную патологию. Для изучения уровня наследуемости осложнений беременности также применялся близнецовый метод, который показал, что наследуемость, например, преждевременных родов, составляет 36-40% [344]. Раскрытие генетических механизмов формирования акушерской патологии теоритически может позволить разработать патогенетическую профилактику осложнений беременности еще на этапе прееконцепционной подготовки, что в свою очередь должно способствовать снижению перинатальной заболеваемости и смертности. Вот почему множество научных исследований в мире посвящено этой теме.

Из-за полиэтиологичности «больших акушерских синдромов» крайне сложно доказывать значимость отдельных генов в их патогенезе. Например, лишь генами-кандидатами преэклампсии на сегодняшний день могут считаться более 100 генов, при этом генетическая предрасположенность не полностью ответственна за развитие патологии – не меньшее значение имеют и факторы окружающей среды, то есть эпигенетические причины [102]. Следует помнить о том, что если какой-то генетический полиморфизм, например, «повышает риск преэклампсии» - совершенно не обязательно, что он приведет к ее развитию (также как и отсутствие данного полиморфизма не гарантирует отсутствия гипертензивных расстройств беременности).

К неполной трансформации спиральных артерий и развитию больших акушерских синдромов может привести множество причин, включающих как средовые, так и генетические факторы.

Уже не однократно подчеркивалось, что «большие акушерские синдромы» имеют общие патогенетические механизмы. Основные из них - это патология сосудов, нарушение гемостаза, извращение иммунного ответа (воспаление), эндокринные нарушения и неустойчивость к воздействию неблагоприятных токсических факторов окружающей среды [249, 250]. Все эти процессы генетически детерминированы, и этот факт имеется ввиду при изучении генетической предрасположенности к большим акушерским синдромам.

Гены тромбофилии. Тромботические изменения в сосудах плаценты ведут к нарушению фето-плацентарной перфузии, что в дальнейшем клинически выливается в ЗВУР, преэклампсию, антенатальную гибель плода, и в некоторой степени повышает риск ПРПП и преждевременных родов [139, 249].

Высокая распространенность наследственных тромбофилий при наличии патологических изменений в плаценте, выявленная в исследованиях случай-контроль, демонстрирует взаимосвязь между тромбофилией и плаценто-ассоциированными осложнениями беременности. Есть данные, что при наличии тромбофилии в плаценте чаще определяются специфические морфологические признаки, характерные для фето-плацентарной недостаточности: диссоциированное формирование котиледонов, редукция терминальных ворсин, псевдоинфаркты, обеднение капиллярами терминальных ворсин [249].

Результаты ряда исследований показали, что мутация Лейден повышает предрасположенность в привычному невынашиванию беременности и осложнениям беременности [216, 234, 322]. В нескольких мета-анализах показана роль мутаций в гене протромбина (F2) при привычном невынашивании беременности [216, 234]. Неблагоприятно также сочетание мутации в генах F5 и MTHFR. Риск привычного невынашивания беременности и внезапной смерти плода повышает комбинация полиморфных генотипов F5 и MTHFR [322].

Существует гипотеза о том, что нарушение маточно-плацентарного кровотока может быть обусловлено не только материнской, но и фетальной тромбофилией. Была показана ассоциация между задержкой внутриутробного роста плода и наличием у него мутаций в генах F2 и F5 [282].

Полиморфизм G-455A в гене FGB, кодирующем β -субъединицу фибриногена, встречается в гетерозиготном варианте у 20-30% населения, в гомозиготном – у 4-6% (у европейского населения). Гетерозиготное носительство данного полиморфизма риска ВТЭО не повышает и является вариантом нормы. При гомозиготном носительстве полиморфизма G-455A уровень фибриногена в плазме повышается [23]. Однако исследований о влиянии полиморфизмов гена FGB на развитие беременности на сегодняшний день немного, большинство публикаций посвящено связи полиморфизмов в гене фибриногена с сердечно-сосудистой патологией, например ишемическим инсультом, инфарктом, нарушением миокардиальной перфузии [208, 314]. Попытки установить связь между полиморфизмами в этом гене и невынашиванием беременности не увенчались успехом [236].

Национальное руководство «Акушерство» 2015 года указывает, что гомозигота PAI1 4G4G – это один из видов генетической тромбофилии [2]. В ряде исследований показано, что несмотря на широкую распространенность аллеля 4G в гене PAI1 (у 60-80% населения), гомозиготный генотип PAI1 4G4G повышает риск ЗВУР и привычного невынашивания беременности [216, 237, 322]. В мета-анализе, проведенном Giannakou K. в 2018 году, включающем 1466 первичных исследований, оценивающих генетические и не генетические факторы преэклампсии, гомозиготный полиморфизм PAI1 оказался единственным генетическим полиморфизмом, имеющим достоверные доказательства вклада в развитие преэклампсии [187]. Хотя в настоящее время ряд авторов обращает внимание не столько на наличие полиморфизма в гене PAI1, сколько на собственно уровень ингибитора

активатора плазминогена 1 типа (РАI1), и полагает, что при его повышении следует рассматривать вопрос о назначении профилактических доз низкомолекулярных гепаринов с целью профилактики преэклампсии и невынашивания беременности [253].

Полиморфизм в гене PLAT (тканевого активатора плазминогена) также, как и в гене РАI (ингибитора активатора плазминогена), является причиной снижения фибринолитической активности крови. Данный полиморфизм в гетерозиготном состоянии не является существенным фактором в развитии наследственной тромбофилии. В гомозиготном состоянии полиморфный вариант этого гена ассоциирован с различными тромбозами [23, 61], в частности этот вариант повышает риск различных вариантов ишемических атак [127]. По данным Цахиловой С.Г. и соавт. отмечена положительная ассоциация между носительством гомозиготного полиморфизма в гене PLAT и преэклампсией [102].

Гены ITGA2, ITGB3, GPVI – это гены гликопротеинов тромбоцитарных рецепторов. Продуктом гена ITGA2 (G_{PIA}) является α 2-субъединица коллагенового рецептора (гликопротеин 1a - GPIA). Наиболее значимым полиморфизмом в этом гене является С807Т. Неблагоприятный аллель С ассоциирован с усилением адгезии тромбоцитов к эндотелию вследствие интенсификации синтеза гликопротеина 1a и увеличению плотности коллагенового рецептора на мембране (структура гликопротеина при этом остается неизменной) [22, 61]. Продуктом гена ITGB3 (GPIIIA) является β -субъединица фибриногенового рецептора тромбоцитов (гликопротеин 3a - GPIIIA). Полиморфизм T1565C встречается у 10-15% (в гомозиготном варианте у 2%) европейского населения. Он приводит к конформационным изменениям на сайте связывания фибриногена. Полиморфный аллель Т, особенно, при одновременном наличии полиморфного аллеля С в гене ITGA2, несколько повышает риск тромбозов вследствие усиления агрегации тромбоцитов [23, 61]. Полиморфизмы в гене GPVI, который кодирует рецептор тромбоцитов гликопротеин VI, ассоциированы с синдромом липких

тромбоцитов, то есть с увеличенной агрегабельностью тромбоцитов (повышенной чувствительностью рецепторов тромбоцитов к индукторам агрегации) в сочетании с тромбоцитопенией. Кроме того, существуют исследования указывающие, что данные генетические варианты повышают риск потери плода при беременности [324].

Некоторые полиморфные аллели в генах системы гемостаза на сегодняшний день считаются протективными в отношении тромбофилии, например, полиморфизмы в генах F7 и F13. В ряде работ показано, что при привычном невынашивании беременности полиморфный аллель А в 10976 гена F7 встречается реже, чем аллель G, что говорит о возможном протективном эффекте в отношении невынашивания беременности [129]. Другие авторы отметили, что генотип GG ассоциирован с задержкой внутриутробного роста плода [304]. При этом мнение о влиянии полиморфизма F13 на риск привычного невынашивания не однозначно. Уровень фибриногена при наличии гомозиготного полиморфизма гена F13 в среднем более низкий, однако структура фибрина при этом может быть модифицирована в сторону повышения устойчивости к фибринолизу. Стоит отметить, научных работ, в которых показано что полиморфизм F13 Val34Leu повышает риск невынашивания беременности больше, чем публикаций о том, что он обладает протективным эффектом в отношении данной патологии [173, 322].

Гены фолатного цикла. Гены фолатного цикла часто анализируются вместе с генами тромбофилии, так как полиморфизмы в этой системе могут приводить к повышенному уровню гомоцистеина, что является фактором риска повреждения эндотелия и активации сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. Однако, вероятно, имеются и другие механизмы, за счет которых дефекты фолатного метаболизма повышают риск осложнений беременности. Например, нарушение метилирования ДНК плода и повышение риска нерасхождения хромосом в мейозе [211].

Наиболее изученный в этой генной сети ген – это ген MTHFR,

кодирующий фермент метилентетрагидрофолатредуктазу (МТГРФ). По данным ряда авторов полиморфизмы в гене МТНFR повышают риск невынашивания беременности [216, 322]. Некоторые исследования и даже систематические обзоры показали, что полиморфизм МТНFR С677Т ассоциирован с преждевременными родами и низким весом плода [181, 264, 357]. Есть данные, что при преэклампсии повышена частота гомозиготного генотипа ТТ плаценты, следовательно фетальный генотип тоже может играть определенную роль [153]. Хотя в других обзорах и мета-анализах утверждается, что нет статистически достоверных различий по частоте полиморфизмов в гене МТНFR при нормальной гестации или при беременности, осложненной фето-плацентарной недостаточностью и преждевременными родами [154]. Ассоциация с привычным невынашиванием также не была подтверждена в ряде работ [210, 272].

Помимо этого часто проводится тестирование на наличие полиморфизмов в генах МТНFD, МТRR, МТR, несколько реже – в генах CBS и SLC19A1. Помимо повышенного уровня гомоцистеина, полиморфизмы в генах фолатного цикла ассоциированы и с другими неблагоприятными эффектами – повышение риска пороков развития (прежде всего, дефектов нервной трубки) и хромосомных перестроек у плода, в том числе синдрома Дауна [211, 258], а также с осложнениями беременности. Показано, что сочетание ряда полиморфизмов в генах фолатного цикла повышает риск преждевременных родов и преэклампсии [166, 258, 275, 318, 348].

Гены детоксикации.

Для защиты организма от различных экзо- и эндогенных токсических субстанций существует так называемая система детоксикации.

Эта система включает в себя ряд ферментов, кодируемых сетью генов, которые называются «гены метаболизма» или «гены детоксикации». При нарушении работы этой системы происходит интоксикация организма разного характера и разной степени выраженности [23].

Генетические полиморфизмы в «генах метаболизма» приводят к

полному отсутствию соответствующего белка или к появлению фермента с измененной активностью. В зависимости от особенностей генома различные индивидуумы могут сохранять устойчивость или обнаруживать повышенную чувствительность к повреждающим агентам внешней среды [265].

Гены детоксикации характеризуются значительным полиморфизмом первичной молекулярной структуры, обнаруживают существенные популяционные, этнические и расовые вариации, связанные с различиями в характере питания, географической среды обитания, эпидемиями инфекционных заболеваний и т.д. [47, 101].

Центральное место среди генов детоксикации занимают гены глутатион-S-трансфераз, среди которых наиболее хорошо изучены гены GSTT1, GSTM1 и GSTP1. Ген GSTM1 расположен в локусе 1q13.3, ген GSTT1 - в локусе 22q11.2, GSTP1 – в локусе 11q13 [23, 194].

Мутантные аллели GSTT1 и GSTM1 характеризуются наличием протяженных делеций, следствием чего является полное отсутствие соответствующих ферментов у гомозигот. Отсюда их нередко называют «нулевыми аллелями». Для гена GSTP1 описано 2 вида функционального полиморфизма – Ile105Val и Ala114Val [23].

Наличием в организме функционально неполноценных аллелей генов детоксикации провоцируются многие заболевания. Роль генов детоксикации в провокации некоторых распространенных болезней, в том числе и «больших акушерских синдромов», подробно изучается уже в течение многих лет [97].

Много исследований посвящено связи генов детоксикации и невынашивания беременности. Например, получены данные, свидетельствующие, что полиморфный вариант 313G гена GSTP1 может быть фактором наследственной предрасположенности к потере беременности [89]. Была показана ассоциация функционально ослабленных аллелей гена GSTM1 с привычной потерей плода на ранних сроках. Было установлено, что гомозиготы по нулевому аллелю двух генов GSTM1 и GSTT1 у женщин,

имеющих выкидыши в анамнезе встречаются в 3 раза чаще. Кроме того, среди пациентов с потерей беременности чаще наблюдались «неблагоприятные» полиморфные варианты гена GSTP1 (313G) [23, 89].

Определенную роль гены метаболизма играют при развитии преэклампсии. Важная роль при преэклампсии принадлежит плацентарной глутатион-S-трансферазе, которая кодируется геном GSTP1. Есть данные, что при преэклампсии содержание этого фермента в плаценте и децидуальной ткани снижено. Частота полиморфного генотипа гена GSTP1 ассоциирована с некоторыми показателями тяжести заболевания, в частности с повышенной агрегацией тромбоцитов. Исследовались также ассоциации преэклампсии с мутациями в генах GSTT1 и GSTM1, однако значимых различий выявлено не было [220, 265].

Большое количество исследований посвящено роли генов детоксикации ксенобиотиков в этиологии плацентарной недостаточности и задержки роста плода. Выявлено повышение частоты генотипов с делециями GSTM1 и GSTP1 при плацентарной недостаточности и при задержке роста плода. Предполагается, что наличие функционально ослабленных аллелей генов GST приводит к накоплению вредных метаболитов в плаценте, что и приводит к развитию плацентарной недостаточности [18].

Выявление полиморфизмов генов данной группы становится все более актуальным в условиях ухудшающейся экологической обстановки, появления новых неизвестных ранее токсикантов и роста хронической патологии репродуктивной системы [29].

Гены антиоксидантной системы

Одним из патогенетических факторов акушерских осложнений считается оксидативный стресс, развитие которого в значительной мере определяется функциональной активностью определенных генов, среди которых наиболее изучены гены MnSOD (SOD2) и GPX1.

Предполагается, что полиморфизмы в этих генах могут повышать риск идиопатического привычного невынашивания беременности, особенно если

имеется сочетание нескольких полиморфизмов, снижающих эффективность антиоксидантной защиты [222].

Есть также данные о связи полиморфизмов в генах, ответственных за антиоксидантную защиту, с преэклампсией [339]. Причем авторами подчеркивается, что имеет значение не только гаплотип матери, но и отца, поскольку роль в развитии осложнений беременности может играть генотип плода, а он зависит от генотипа обоих родителей [246].

Гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы

Ренин-ангиотензин-альдостероновая система, компоненты которой находятся под генным контролем, играет существенную роль в развитии артериальной гипертензии, поэтому логично предположить, что полиморфизмы в генах РААС могут повышать риск гипертензивных осложнений беременности [27, 92].

В мета-анализе, проведенном в 2015 г. Y.Li и соавт. была выявлена ассоциация между наличием полиморфизма A1675G в гене рецептора ангиотензиногена 2 типа AT2R и преэклампсией, при этом другой полиморфизм в этом же гене - C3123A на риск преэклампсии не влиял, также как и полиморфизм A1166C в гене рецептора ангиотензиногена 1 типа AT1R [238]. В 2020 году в исследовании Azimi-Nezhad M. была продемонстрирована ассоциация с преэклампсией полиморфизма гена CYP11B2 G-344A [125]. Риск преэклампсии повышает также наличие полиморфизма в гене ACE (ген ангиотензин-превращающего фермента), особенно в случае носительства гомозиготного генотипа DD [92].

Гены РААС ассоциированы не только с гипертензивными расстройствами при беременности. Некоторые полиморфизмы этой генной сети повышают риск преждевременных родов [145]. Хотя не исключено, что это опосредованная связь – полиморфизмы в генах РААС повышают риск гипертензивных расстройств беременных, которые в свою очередь являются фактором риска преждевременных родов.

Гены иммунного ответа

Одной из причин аномальной плацентации являются иммунные нарушения, изменяющие материнский воспалительный ответ [183]. Воспалительный ответ также играет огромную роль в патогенезе преждевременных родов и преждевременного разрыва плодных оболочек (ПРПО) [83, 145, 329]. Кроме того, натуральные киллеры и макрофаги, которые активируются интерлейкинами и другими медиаторами участвуют в ремоделировании спиральных артерий посредством индукции апоптоза и деградации внеклеточного матрикса [139]. Поэтому эта система не могла остаться без внимания исследователей, интересующихся глубинными патогенетическими механизмами больших акушерских синдромов.

В исследовании, проведенном в Китае, было показано, что полиморфизмы в генах TNF- α и IL10 могут быть ассоциированы с преэклампсией, однако авторы осторожны в своих выводах, и отмечают, что требуются дальнейшие исследования для раскрытия патогенетических механизмов данной связи, а также для изучения межгенных взаимодействий [369, 370].

В нескольких исследованиях показана взаимосвязь между полиморфизмами в генах иммунного ответа, в том числе TNF- α и IL10, с привычным невынашиванием беременности, однако авторы систематического обзора, проанализировавшие 428 исследований, посвященным генетическим полиморфизмам, которые могут иметь отношение к потере беременности, отмечают, что эта ассоциация достаточно слабая [281].

Отечественными авторами (Белокриницкая Т.Е., Анохова Л.И.) показана достаточно сильная ассоциация между наличием полиморфизма TNF- α G308A и развитием фето-плацентарной недостаточности [7].

В исследовании Langmia et al. (2016) было показано, что уровень интерлейкина 1 в плазме крови беременности влияет на риск преждевременных родов, что вызвало предположение, что полиморфизмы в

гене IL1 могут быть ассоциированы с преждевременными родами и другими осложнениями беременности, однако эта взаимосвязь не была доказана [229].

Гены «дисфункции эндотелия».

Изначально, дисфункцию эндотелия связывали только с преэклампсией, но в дальнейшем было показано, что она имеет место при всех больших акушерских синдромах [16, 171]. Следовательно, гены, регулирующие функцию эндотелия, также могут повлиять на риск осложнений беременности.

В регуляции эндотелия важную роль играет оксид азота (NO), поэтому гены синтазы азота (NOS3) представляют большой интерес. Оксид азота по современным представлениям играет роль универсального регулятора множества физиологических процессов, включающих в себя поддержание сердечно-сосудистого гомеостаза, иммунного статуса, цитотоксической активности макрофагов и т.д. Синтезировать NO способны многие клетки организма. Известно, что NO синтезируется в трофобласте, плаценте и миометрии [117, 128].

Ген эндотелиальной NO-синтазы NOS3 расположен на 7й хромосоме в локусе 7q36. В нем известно несколько полиморфных вариантов. Наиболее известны следующие: полиморфизм VNTR в интроне 4 (в 4b аллеле присутствуют 5 повторяющихся фрагментов 27 п.н., а в 4a – 4 таких повтора), структурная замена G894T в 7 экзоне и полиморфизм промоторной области гена NOS3 T786C [23].

Существуют данные, что полиморфизмы этого гена играют роль при привычном невынашивании беременности, особенно, в сочетании с другими неблагоприятными полиморфизмами (в генах тромбофилии и генах, отвечающих за ангиогенез и развитие артериальной гипертензии) [27, 93, 341, 367]. Также существует ассоциация между полиморфизмами в гене NOS3 и акушерскими осложнениями, например преэклампсией и другими гипертензивными осложнениями, причем некоторые авторы утверждают, что аналогичные данные получены на разных популяциях и риск не зависит от

расовой принадлежности [193, 305, 370]. Снижение биодоступности NO может приводить к ЗВУР, ассоциированной с эндотелиальной дисфункцией, с последующим повышенным риском сердечно-сосудистой патологии в течение жизни [199]. Однонуклеотидные полиморфизмы в гене NOS3 могут влиять на регуляцию материнского воспалительного ответа и риск преждевременных родов, хотя авторы подчеркивают, что не стоит рутинно использовать эти данные в общей диагностической практике, так как большинство исследований выполнены на выборке небольшого размера [162].

Кроме этого, мощным вазоконстриктором, является эндотелин-1, кодирующийся геном END1 [182]. Избыточный уровень данного вещества повышает риск спазма сосудов, следовательно, может повлиять на риск гипертензивных и других расстройств беременности.

Гены рецепторов половых гормонов.

Адекватный гормональный фон – один из ключевых факторов в развитии беременности. Причем, важен не только уровень гормонов крови, но и чувствительность рецепторов. Поэтому логично предположить, что гены рецепторов половых гормонов оказывают влияние на физиологическое или патологическое течение беременности. На сегодняшний день данная взаимосвязь изучена недостаточно, чаще полиморфизмы в генах рецепторов половых гормонов изучаются в связи с гинекологической патологией, например эндометриозом и раком половых органов [243, 276]. Поэтому вопрос взаимосвязи этой генной сети с большими акушерскими синдромами требует дальнейшего изучения.

Cupisti S. et al. (Германия, 2009) исследовали взаимосвязь полиморфизмов в генах ESR1 и PGR с невынашиванием беременности, однако частота встречаемости этих полиморфизмов не имела существенных различий в исследуемых группах. Большее значение имело наличие полиморфизма гена CYP19A1 – у пациенток с невынашиванием беременности в анамнезе он встречался чаще [161]. Однако в более позднем

исследовании (Su M.T. et al., 2011) было показано, что полиморфизм гена PGR (PROGINS) ассоциирован с предрасположенностью к привычной потере беременности [330].

В исследовании, проведенном на китайской популяции, было показано, что полиморфизмы в гене рецепторов эстрогенов 2 (ESR 2) ассоциированы с холестатическим гепатозом у беременных [370]. А вот взаимосвязь этого гена с невынашиванием беременности сомнительна [207].

На сегодняшний день эксперты сходятся во мнении, что генетическая предрасположенность к репродуктивной патологии имеет место быть, однако существующие в настоящее время подходы не совершенны, так как большинство исследователей пытается подойти к проблеме с какой-то одной стороны, а комплексная оценка полученных данных сложна. Мы считаем, что поскольку предиктивная медицина является крайне перспективной отраслью, стоит продолжать исследования в этом направлении. Одной из приоритетных задач должна стать разработка моделей оценки риска, которые с одной стороны смогут учитывать множество генетических и средовых факторов, увеличивающих риск осложнений, а с другой стороны будут достаточно просты для использования в практике клинициста.

1.2.2 Роль генотипа плода в развитии осложнений беременности

Невынашивание беременности в ранние сроки является самым частым осложнением гестации [74, 75, 148, 156, 202, 203, 361]. Частота ранних потерь беременности на сегодняшний день составляет около 31% [288], хотя если учитывать только клинически подтвержденные беременности она ниже – около 18-20% [20].

Факторы риска невынашивания беременности во многом перекликаются с таковыми для других «Больших акушерских синдромов» - к ним относятся возраст матери старше 35 лет, потери беременности в анамнезе,

эндокринопатии (сахарный диабет 1 и 2 типа, заболевания щитовидной железы) и метаболические нарушения, в том числе ожирение, привычные интоксикации (никотин, алкоголь), употребление большого количества кофеина [288].

Исследования последних 50 лет иллюстрируют существенную роль хромосомных aberrаций у эмбриона и плода в генезе невынашивания беременности. Доля хромосомных аномалий при невынашивании в первом триместре составляет 50-65% [23].

Несмотря на доказанную роль хромосомных aberrаций в генезе невынашивания беременности, исследование кариотипа эмбриона и плода при этой патологии проводится лишь спорадически. Это обусловлено рядом объективных и субъективных причин. Большинство хромосомных аномалий, приводящих к преждевременному завершению беременности, наследственно не обусловлены и считаются «случайными». При этом не существует методов эффективной профилактики подобных генетических нарушений при последующих беременностях.

Чаще всего при исследовании abortивного материала применяется стандартное цитогенетическое исследование (кариотипирование), поскольку это наиболее дешевый и доступный метод исследования из существующих диагностических процедур, и его возможности при анализе abortивного материала достаточно хорошо изучены [198]. При этом проведение стандартного кариотипирования в ряде регионов нашей страны сопряжено с медико-организационными и технологическими проблемами, поскольку не все медицинские учреждения, где проводится эвакуация продуктов зачатия из полости матки, располагают возможностью проводить генетические исследования, доставка же материала в специализированную лабораторию в рекомендованные сроки затруднена в связи с ограниченным сроком хранения биологического материала (материал рекомендуется доставить в лабораторию в течение 2 часов). Помимо этого, часто возникает контаминация материнскими клетками, в значительной части случаев имеют

место неудачи культивирования (по данным некоторых авторов при проведении цитогенетического исследования abortивного материала получить результат удастся лишь в 73,6% случаев). Еще одним недостатком метода является то, что при проведении цитогенетического анализа не определяются субмикроскопические структурные перестройки, что приводит к ложноотрицательным результатам [8, 54, 55, 74, 156, 203, 263, 361]. Поэтому в клинической практике бытует мнение о сомнительной целесообразности исследования кариотипа в abortивном материале.

В последние годы появились более современные методы, например, хромосомный микроматричный анализ (ХМА) с использованием SNP-матриц или сравнительная геномная гибридизация (CGH). При проведении ХМА, также как и при CGH, допускается хранение нативного материала до 48 часов, поэтому есть возможность транспортировки биологического материала из любого региона России (при температуре +2-+8 градусов допустимо хранение материала до 48 часов, при комнатной температуре допустима транспортировка в течение суток), что делает данное исследование более доступным, чем традиционное кариотипирование. Тем не менее, ХМА имеет и определенные недостатки по сравнению с традиционным цитогенетическим исследованием: не выявляются сбалансированные структурные перестройки (инверсии, транслокации), нет информации о конкретной локализации генетического дисбаланса (при выявлении трисомий акроцентрических хромосом непонятно, имеет место регулярная трисомия или транслокационная, при выявлении дупликации какой-то хромосомы неизвестно, где конкретно расположен этот лишний генетический материал), не определяется мозаицизм низкого уровня (ниже 5-10%). Кроме того, информации о проведении ХМА abortивного материала значительно меньше, чем об использовании цитогенетического исследования. Тем не менее, исследования, касающиеся применения ХМА для анализа продуктов зачатия, активно проводятся и он все шире внедряется в практику [177, 312].

Выявление хромосомных аномалий у эмбриона, на наш взгляд, является целесообразным с практической точки зрения, поскольку позволяет оптимизировать алгоритм обследования супружеской пары после эпизода невынашивания. В некоторых случаях требуется обязательное исследование кариотипа родителей. В других случаях, напротив, более целесообразно направить обследование на выявление гинекологических и экстрагенитальных, а не генетических причин невынашивания. При использовании вспомогательных репродуктивных технологий при определении аномального хромосомного набора в абортивном материале в будущем может быть рекомендована предимплантационная генетическая диагностика (ПГД), если же прерывание беременности произошло при нормальном хромосомном наборе, то при следующей попытке ЭКО следует принять другие меры для профилактики невынашивания [67].

Наиболее важным преимуществом хромосомного микроматричного анализа перед стандартным кариотипированием является высокое разрешение и возможность выявления микроструктурных перестроек. Такие перестройки могут быть следствием наличия хромосомных аберраций у родителей, что будет приводить к повторению невынашивания. В некоторых случаях может потребоваться проведение вспомогательных репродуктивных технологий с применением ПГД или с использованием донорских гамет. Своевременное выявление аномального кариотипа у родителей может уберечь их от психотравмирующей ситуации, связанной с повторными случаями невынашивания беременности в будущем [149, 312].

Традиционно хромосомные аномалии у эмбриона связывают со спорадическим невынашиванием беременности. Считается, что большинство хромосомных перестроек у плода «случайны», и их не считают признаком какого-либо неблагополучия в организме матери [20, 65]. В то же время, предполагается, что если пациентка страдает привычным невынашиванием беременности, то есть имеет в анамнезе по крайней мере 2 подряд случая потери беременности, хромосомные аномалии у эмбриона встречаются реже,

и следует искать иные причины неудачного исхода беременности [20, 65, 132, 149]. Однако, любые логические умозаключения должны быть доказаны научными исследованиями. Вопреки ожиданиям, в последние годы начали появляться сообщения, что при анализе хромосомного набора у эмбриона или плода при спорадическом и привычном невынашивании беременности, достоверной разницы по частоте встречаемости хромосомной патологии не получено – ряд авторов утверждает, что это самая частая причина невынашивания беременности в первом триместре, независимо от акушерского анамнеза пациентки [189, 366]. Некоторые исследователи выдвигают гипотезу, что по каким-то причинам некоторые пациентки с нормальным кариотипом имеют больший риск нерасхождения хромосом у эмбриона, чем другие женщины того же возраста, причем в этом случае при каждом случае неразвивающейся беременности в продуктах зачатия могут быть обнаружены совершенно разные перестройки [143].

К сожалению, имеющихся данных на сегодняшний день недостаточно, чтобы сделать окончательный вывод о том, какова частота и структура хромосомных аномалий у эмбриона/плода при спорадическом и привычном невынашивании беременности. Имеющиеся исследования гетерогенны по дизайну, для проведения генетического исследования продуктов зачатия используются различные методы. Поэтому мы считаем необходимым продолжать научный поиск в этом направлении, поскольку полученные данные могут изменить подходы к обследованию пациенток, у которых случилась потеря беременности, а также усовершенствовать в дальнейшем алгоритмы обследования при планировании беременности. Анализ причин потери беременности может предоставить важную информацию для дальнейшего медицинского сопровождения, репродуктивного консультирования и поддержки пациентов [312].

Хромосомные аномалии у эмбриона/плода могут приводить не только к невынашиванию беременности в 1 триместре. При антенатальной гибели плода их удельных вес также значителен – они составляют 8-10% при

внутриутробной гибели после 20 недель и мертворождениях во 2 и 3 триместре [301, 302, 303, 312].

Генотип плаценты в норме идентичен генотипу плода (за исключением случаев мозаицизма и химеризма), и является полу-аллогенным для матери. Плацента при этом является ключевым органом для поддержания нормального протекания беременности [168]. Отсюда вытекает вывод, что если плод, а, следовательно, и плацента, имеют генетические нарушения, например делеции или дупликации, включающие гены, ответственные за ангиогенез, инвазия трофобласта и ремоделирование спиральных артерий изначально могут быть неполноценными, что повышает риск осложненной гестации, а не только пороков развития у плода.

В работе Добрыниной Н.В. и Ковалева В.В. показано, что при наличии хромосомных aberrаций у плода, беременность чаще сопровождается угрозой самопроизвольного выкидыша, клинически проявляющейся кровянистыми выделениями и болевыми ощущениями [33].

Несомненно, что в случае, если у плода имеется хромосомная аномалия, вероятность пороков развития резко возрастает. Что интересно, даже в случае наличия у плода сбалансированной структурной перестройки (транслокации, либо инверсии), частота врожденных пороков повышена [33]. Например, даже при наличии инверсии 9 хромосомы, которая многими авторами считается вариантом нормы, частота пороков развития плода и новорожденного несколько увеличена [33]. Это можно объяснить наличием микроделаций в точках разрыва хромосом, которые не выявляются стандартным цитогенетическим исследованием.

Повышена частота хромосомных aberrаций и при наличии гипотрофии плода [33]. ACOG и RCOG рекомендуют пренатальное диагностическое тестирование, в случаях, если ЗВУР сопровождается структурными аномалиями у плода. В ряде стран, при всех беременностях, сопровождающихся ЗВУР, рекомендуется проведение инвазивной пренатальной диагностики [311]. По данным систематического обзора, в

который было включено 874 случая изолированного ЗВУР у плода, частота ХА в разных работах существенно различалась и составляла от 0 до 26,3% (в среднем – 6,4%), но при этом в обзор были включены случаи ЗВУР, выявленные на разных сроках гестации [311]. По утверждению других авторов, при выявлении изолированного ЗВУР в 3 триместре, вероятность наличия хромосомных аномалий у плода практически нулевая [122, 176]. Необходимо отметить, что в вышеупомянутых исследованиях применялось стандартное цитогенетическое исследование – при использовании методов диагностики с более высоким разрешением, возможно, у части плодов с нормальным кариотипом были бы выявлены субмикроскопические патогенные CNV. Известно, что при проведении ХМА у 1,8% плодов без пороков развития и с нормальным кариотипом выявляются патогенные CNV [114, 311]. Вопрос о том, нужно ли рекомендовать пациентке с изолированным ЗВУР ИПД с последующим ХМА требует дальнейшего изучения, данные на сегодняшний день ограничены [140].

Бесспорно, что и риск антенатальной гибели плода повышен при наличии хромосомных аномалий и пороков развития. Есть данные, что ВПР плода при мертворождении не только встречаются чаще, чем у живорожденных, но и являются более тяжелыми, могут встречаться аномалии, которые являются летальными [204]. Но особый интерес представляют причины гибели морфологически нормального плода, среди которых могут быть моногенные заболевания и субмикроскопические хромосомные перестройки, не сопровождающиеся пороками развития.

Все больше авторов заявляют, что недооценена роль плаценты при наличии хромосомных аномалий у плода. Дефектное развитие плаценты при наличии анеуплоидий угрожают не только развитию плода, но и здоровью матери [168, 174]. Например, трисомия 13 у плода повышает риск преэклампсии при беременности [174].

В 1-2% случаев при биопсии ворсин хориона выявляется плацентарный мозаицизм. Это состояние тоже может повлиять на течение беременности –

она повышает риск мертворождения, ЗВУР, преждевременных родов и пороков развития у плода [168]. По некоторым данным, до 10% случаев идиопатической задержки внутриутробного роста плода сопровождается плацентарным мозаицизмом [307, 327]. Это нужно иметь ввиду при получении ложно-положительного результата при проведении НИПС – фетальная ДНК образуется в основном из плацентарного трофобласта. Для многих редких анеуплоидий PPV при проведении НИПС очень низкая, именно из-за наличия плацентарного мозаицизма [168]. Более того, развитие беременности и живорождение при некоторых трисомиях (например, трисомии 8 хромосомы) возможно только, если данная аномалия отсутствует в большинстве клеток трофобласта, что приводит к ложно-отрицательным результатам при проведении биопсии ворсин хориона [168]. В настоящее время разрабатываются неинвазивные пренатальные тесты для детекции плацентарного мозаицизма – данные методы в перспективе смогут повысить эффективность НИПС, а также войти в алгоритм расчета риска осложненной гестации [138, 327].

В новых научных работах изучается вопрос роли патогенных субмикроскопических CNV в плаценте в развитии осложнений беременности. Результаты на сегодняшний день противоречивые. Одни исследователи предполагают, что при беременности, осложненной ПЭ или ЗВУР, число различных CNV в плаценте увеличено, и уровень мозаицизма коррелирует с тяжестью патологии [135]. Однако у этой точки зрения есть оппоненты, которые утверждают, что повышенное число различных CNV плаценты – это норма, и наибольшее число CNV в плаценте наблюдается как раз при физиологически протекающей беременности [218]. Такие противоречивые результаты можно объяснить различными методиками проведения исследований, недостаточным объемом выборки, различными характером CNV. Безусловно, чтобы поставить точку в этом вопросе, требуются дальнейшие исследования [168].

Консолидированная работа врачей акушеров-гинекологов и генетиков

может существенно увеличить частоту живорождений, сократить количество обследований, назначаемых супружеской паре и повысить эффективность преемственной подготовки.

1.3. Факторы риска «больших акушерских синдромов», современные прогностические возможности

По данным многочисленных исследований, которые проводились в различных регионах, точного перечня факторов, приводящих к развитию тяжелых акушерских синдромов нет. Кроме того, большинство исследований анализирует факторы риска для отдельных акушерских нозологий, а не для осложненного течения гестации в целом.

Много научных трудов посвящено преждевременным родам. Рождение ребенка раньше положенного срока, безусловно, провоцирует много факторов. Например, в 2019 году была опубликована работа Шкляева А.Е. и соавт. (Ижевск), в которой выделяются группы факторов риска преждевременных родов, такие как семейное положение (эмоциональный фон в семье, одиночество, не зарегистрированный брак), отягощенный акушерско – гинекологический анамнез (преждевременные роды в анамнезе), экстрагенитальная патология (болезни крови и кроветворных органов, болезни системы кровообращения и эссенциальная гипертензия), инфекции, передающиеся половым путем (ИППП), гинекологические заболевания, осложнения текущей беременности [109]. Эти же факторы отмечают сотрудники Парижского Университета им. Декарта (Prunet C. et al, 2017), дополнив список такими показателями возраст старше 35 лет и индекс массы тела (ИМТ) ниже среднего [292]. L. F. Wong et. al. (2015 год) доказали, что на частоту преждевременных родов могут влиять такие параметры, как кесарево сечение при первой беременности, регулярное употребление табака, короткий интергенетический интервал (менее 18 месяцев) [354]. Ряд авторов выделяет как фактор риска преждевременных родов гипергликемию у матери

[21, 24]. Кроме того нужно понимать, что преждевременные роды являются не только медицинской, но и социальной проблемой и могут быть ассоциированы с низким социально-экономическим статусом пациентки, тяжелым физическим трудом и стрессом [11, 79]

Наиболее существенные факторы риска преждевременных родов, роль которых была доказана многочисленными исследованиями, выделены в российских клинических рекомендациях «Преждевременные роды». Это преэклампсия и поздние выкидыши в анамнезе, возраст старше 34 и младше 18 лет, 2-й и последующий медицинский аборт, конизация и ампутация шейки матки, низкий социально – экономический уровень жизни, многоплодная беременность, алкогольные и другие интоксикации, урогенитальная инфекция, маточное кровотечение, предлежание плаценты, многоводие, сахарный диабет (СД), травмы, операции (2013) [66].

Другие авторы направили свое внимание на фето-плацентарную недостаточность и ЗВУР. Черненко Ю.В и соавт. (2017) считают наиболее значимыми следующие показатели: нарушение маточно - плацентарного кровообращения (НМПК), низкий рост матери, возраст матери старше 34 лет, либо младше 18 лет, воспалительные заболевания (кольпиты, эндометрит), неблагоприятные социально-экономические условия, большое количество родов в анамнезе, наличие экстрагенитальной патологии (анемия, заболевания почек и мочевыводящих путей, артериальная гипертензия) [106]. По мнению Аноховой Л.И. и соавт. наибольшее значение в развитии ЗВУР среди факторов риска играет курение, также значимыми являются наличие самопроизвольных и искусственных абортов и преждевременных родов в анамнезе [6]. Кочерова В.В., Щербак В.А. (Чита, 2015 год) к вышеперечисленным факторам добавляют: дефицит фолиевой кислоты, преэклампсию, угрозу прерывания беременности, соматические заболевания матери (гестационный сахарный диабет (ГСД), гипотиреоз, нарушение липидного обмена и повышенный уровень холестерина), а также отравление химическими веществами (тяжелыми металлами, алкоголем, никотином)

[48], а Mohammad N. et. al. (2018 год) добавляют наличие ЗВУР и аборт в анамнезе [257].

Много работ посвящено факторам риска преэклампсии. Согласно работе академика Стрижакова А.Н. и соавт. (2019) на развитие этого состояния влияют следующие факторы: ожирение, сахарный диабет, многоплодная беременность, гестационная и хроническая артериальная гипертензия, низкая физическая активность, ЗВУР в анамнезе, заболевания соединительной ткани, тромбофилия, заболевания почек [82]. Bartsch E. et. al. (2016 год) также считают значимыми преэклампсию и ЗВУР в анамнезе, хроническую артериальную гипертензию, сахарный диабет (в том числе гестационный), ожирение, и, помимо этого, наступление беременности в результате вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [130]. Umesawa M. и Kobashi G. к модифицируемым факторам риска ПЭ относят массу тела матери, низкий уровень образования, к не модифицируемым – первую беременность, возраст беременной, многоплодие, ГСД, а также предшествующие беременности артериальную гипертензию и СД 2 типа [343]. В 2018 году Giannakou K. at al. был проведен обзор ряда мета-анализов и систематических обзоров, и было выявлено, что одним из наиболее значимых не генетических факторов риска преэклампсии является применение ВРТ с использованием донорских ооцитов, сильная ассоциация с преэклампсией была показана еще для нескольких факторов риска – хронические заболевания почек, СПКЯ, бактериальные и вирусные инфекции, курение, ожирение и низкий уровень сывороточного железа [187]. Очень важным предиктором риска преэклампсии является артериальное давление матери [34, 186, 334]. Однако, у многих пациенток данный показатель очень вариабелен.

Факторы риска, перечисленные в клиническом протоколе 2016 года «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» следующие: ПЭ в анамнезе, раннее начало преэклампсии и роды в сроке менее 34 нед.,

хронические заболевания почек, аутоиммунные заболевания, наследственная тромбофилия, СД, АГ, первая беременность или повторная через 10 или более лет после предыдущей, частые беременности, ВРТ, наследственность, отягощенная по АГ или ПЭ, инфекции во время беременности, возраст старше 40 лет, низкий социально – экономический статус, ИМТ свыше 35кг/м^2 , чрезмерная прибавка массы тела во время беременности [25].

Поскольку развитие больших акушерских синдромов по мнению многих исследователей ассоциировано с тромбофилией, в фокусе внимания оказался анализ коагулограммы [69, 112, 346]. Например, в ряде работ показано, что при преэклампсии имеет место сокращение АЧТВ и снижение МНО (увеличение ПТИ) [52, 53, 111]. Известно, что АЧТВ при беременности сокращается и в норме, так как имеет место физиологическая гиперкоагуляция [53] - это является адаптивным механизмом, цели которого это предотвращение кровотечения в процессе имплантации и во время родов и обеспечение плавного кровотока в интервиллезном пространстве [52, 53, 115, 250], но при осложненной течение гестации эти изменения могут быть более выражены. Маркером тяжелой преэклампсии является и снижение количества тромбоцитов [25]. Уровень гемоглобина при этом, напротив, может быть повышен из-за гемоконцентрации [25].

Крайне актуальным является подробное исследование взаимосвязи с различными факторами внешней и внутренней среды с антенатальной гибелью плода (АГП) [2]. За последние 20 лет в Российской Федерации показатель интранатальных потерь уменьшился в 4 раза, а показатель антенатальных потерь стал меньше лишь в 1,5 раза, что говорит о том, что данный вопрос требует дальнейшего изучения [15, 85]. Одной из ведущих причин антенатальных потерь является нарушение кровообращения в функциональной системе мать-плацента-плод [297]. Но, несмотря на достигнутые успехи в изучении вопросов этиологии и патогенеза данных нарушений, остаётся неизвестным, что именно выступает пусковым моментом, приводящим к асфиксии плода [124]. Неясность патогенетических

механизмов формирования нарушений маточно-плацентарного кровообращения существенно затрудняет возможность целенаправленного прогнозирования, а, следовательно, и профилактики этих осложнений [2].

Quibel et al. (Германия, 2014) в качестве факторов риска антенатальной гибели выделили возраст матери, избыточную массу тела, курение, ЗВУР, а среди соматической патологии наиболее значимыми оказались АГ и СД [397]. Аналогичные данные были получены Holmes L. et al. (США, 2018). [204]. В других работах показано, что риск антенатальной гибели плода повышен при наличии гестационного сахарного диабета [24]. Очевидно, что риск антенатальной гибели плода повышен при наличии осложнений беременности [105]. Особенно значимо повышает риск мертворождения наличие ЗВУР в течение беременности [315], причем чем больше выражен ЗВУР, тем выше риск [105, 301]. Особенно часто ЗВУР выявляется у мертворожденных, родившихся преждевременно [2, 46]. Среди анамнестических факторов риска можно выделить искусственные и самопроизвольные аборты в анамнезе и никотинозависимость [15, 64, 105, 353]. Из экстрагенитальной патологии факторами риска АГП являются патология сердечно-сосудистой системы и заболевания мочевыводящих путей, а также поражение органов и тканей вирусной и бактериальной инфекцией [105]. Причем имеет значение не только наличие каких-либо факторов риска, но и их общее количество - у пациенток с неблагоприятным исходом беременности оно в несколько раз выше [15]. Помимо этого, при антенатальной гибели необходимо исключить наличие врожденных пороков развития или хромосомных аномалий у погибшего плода [297].

Таким образом, можно проследить некоторые общие закономерности. Для всех «больших акушерских синдромов» в качестве факторов риска отмечены наличие хронической АГ и гипертензивных осложнений беременности [34, 105, 109, 130, 204, 292, 297, 343], хронические заболевания почек и мочевыводящих путей [25, 34, 66, 82, 83, 106, 187], различные состояния, сопровождающиеся гипергликемией [21, 24, 25, 48, 82, 130, 297],

анемия [82, 106, 109], не оптимальный репродуктивный возраст [124, 297, 224, 343], отягощенный акушерский анамнез (артифициальные и самопроизвольные аборты, осложнения беременности в анамнезе) [5, 64, 66, 82, 109, 392, 353], низкий социально-экономический статус [11, 25, 66, 106, 343], ожирение [25, 48, 82, 130, 187, 204, 297, 331, 343], курение [6, 64, 187, 204, 297, 353, 354]. Это косвенно свидетельствует об общем этиопатогенезе. Тем не менее, перечень факторов риска у разных авторов различается. Возможно, объясняется это тем, что в разные периоды времени и в разных популяциях факторы риска и причины, ведущие к осложненной гестации, могут несколько различаться.

Многие авторы пытаются искать какие-то совершенно новые маркеры акушерских осложнений, которые не используются в настоящее время в клинической практике. Например, в этой связи изучаются профили растворимых молекул адгезии (sE-селектин, sL-селектин, sP-селектин и другие) [171]. Другие исследования посвящены определению уровня провоспалительных медиаторов - цитокинов, хемокинов и адипокинов [331]. Во многих работах изучается микробиом плаценты, эндометрия или половых путей [131, 155, 158, 331, 336, 349], достаточно популярно исследование профилей микро-РНК [31, 91, 169, 340]. Ряд работ посвящен секвенированию генома и экзома у пациенток, имеющих «большие акушерские синдромы» в анамнезе [94, 195, 212, 213, 255, 355]. Подобные работы, безусловно, представляют большой научный интерес, однако применение их результатов в практическом здравоохранении на сегодняшний день крайне затруднительно из-за противоречивых результатов, не доказанной эффективности и высокой стоимости.

1.4. Пренатальный скрининг врожденной и наследственной патологии плода, как предиктор «больших акушерских синдромов»

Пренатальная диагностика – это комплекс врачебных мероприятий и

диагностических методов, направленных на выявление морфологических, структурных, функциональных или молекулярных нарушений внутриутробного развития человека. Этот раздел медицины находится на стыке нескольких специальностей – акушерства и гинекологии, генетики, ультразвуковой диагностики и является важным разделом практического здравоохранения.

Пренатальная диагностика ставит перед собой следующие задачи:

- Предоставление родителям исчерпывающей информации о степени риска рождения больного ребенка;
- Обеспечение ранней диагностики внутриутробной патологии и оптимальной тактики ведения беременности [333];
- При подтверждении наличия у ребенка генетического заболевания с неблагоприятным прогнозом для жизни и здоровья – предоставление информации о возможности прерывания беременности (приказ №736 Минздрава России «Об утверждении перечня медицинских показаний для искусственного прерывания беременности») [58];
- Определение прогноза здоровья будущих детей.

В настоящее время пренатальная диагностика является бурно развивающейся областью медицинской науки. Современные особенности пренатальной диагностики – это акцент на первый триместр беременности, трехуровневая система оказания медицинской помощи и появление новых генетических тестов.

Согласно приказу Минздрава №572н от 1.11.2012 при сроке беременности 11 - 14 недель беременная женщина направляется в медицинскую организацию, осуществляющую экспертный уровень пренатальной диагностики, для проведения комплексной пренатальной диагностики нарушений развития ребенка, включающей УЗИ врачами-специалистами и определение материнских сывороточных маркеров (связанного с беременностью плазменного протеина А (РАРР-А) и свободной бета-субъединицы хорионического гонадотропина (β -ХГЧ) с последующим

комплексным расчетом индивидуального риска рождения ребенка с хромосомной патологией с помощью компьютерных программ [71].

PAPP-A (pregnancy associated plasma protein) секретируется трофобластом и децидуальными клетками на протяжении всей беременности. Он является регулятором межклеточных контактов между клетками трофобласта и децидуальной ткани. При хромосомных аномалиях уровень PAPP-a снижается.

β -ХГЧ определяется в крови в беременной уже через 10-12 дней после оплодотворения, и достигает максимума к сроку беременности 11-12 недель. При синдроме Дауна этот показатель повышается, при синдроме Эдвардса и Патау снижается.

Согласно приказу №572н инвазивная пренатальная диагностика (ИПД) показана при уровне риска 1:100 и выше, либо при наличии пороков развития плода по результатам УЗИ [59].

В 2015 году в Cochrane Database был опубликован обзор, сравнивающий эффективность различных непрямых биохимических маркеров, используемых с целью детекции синдрома Дауна у плода в пренатальном периоде. В исследование было включено 18 различных маркеров: дизинтегрин, ADAM12 (металлопротеиназа 12), АФП (альфа-фетопротеин), ингибин, PAPP-A, инвазивный трофобластический антиген (ИТА), β -ХГЧ, прогестерон, эстриол, белок, связывающий гормон роста (GHBR), плацентарный гормон роста (PGH), гипергликозилированный ХГЧ, α -ХГЧ, соотношение β -ХГЧ и АФП. Причем анализировалось как индивидуальное, так и комбинированное использование показателей, с учетом материнского возраста, либо без учета одного. Было показано, что именно стратегия определения PAPP-A, β -ХГЧ и материнского возраста оказалась наиболее эффективной – это позволяет пренатально выявить 7 из 10 плодов, имеющих трисомию 21 хромосомы. При этом добавление каких-то еще биохимических параметров не приводило к повышению эффективности [120].

На сегодняшний день чувствительность и специфичность комплекса

пренатальной диагностики 1 триместра в России составляют соответственно 85-90% и 95%. При соблюдении всей методологии скрининга он является достаточно эффективным, тем не менее возможны как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. В случае ложно-отрицательного результата может быть пропущена хромосомная аномалия у плода. Положительная предсказательная величина (PPV) при этом достаточно низкая – около 5% [172]. При ложно-положительных результатах повышается количество не обоснованных инвазивных вмешательств – в настоящее время большинство женщин, прошедших инвазивную диагностику, на самом деле носят совершенно здорового плода. На результаты скрининга может повлиять неправильный подсчет срока беременности, квалификация врача УЗИ, прием лекарственных препаратов, соматические заболевания матери, угроза самопроизвольного выкидыша. Стоит помнить, что пренатальный скрининг 1 триместра это непрямой метод диагностики, поэтому его возможности ограничены [298, 324].

Даже при четком соблюдении сроков обследования, методологии УЗИ и биохимического исследования, в группу высокого риска попадает лишь около 80% беременных, имеющих плода с синдромом Дауна [36, 86, 323]. В России в 2017 году пренатально было выявлено 84% плодов с синдромом Дауна, в 2016 и в 2015 соответственно 80% и 79% [3]. Кроме того, ряд пациенток группы высокого риска отказывается от дальнейшего обследования с помощью инвазивной пренатальной диагностики [42]. При этом ежегодно увеличивается средний возраст беременных женщин, что может повысить частоту хромосомной патологии (также, как и риск «больших акушерских синдромов») [88]. Поэтому требуется дальнейшее усовершенствование пренатального скрининга на основные анеуплоидии.

Инвазивная пренатальная диагностика является наиболее точным методом диагностики хромосомных аномалий (ХА) у плода, однако в 0,5-2% случаев данная процедура сопряжена с осложнениями вплоть до самопроизвольного выкидыша [88, 116, 232].

Неинвазивный пренатальный тест (НИПТ), основанный на выделении внеклеточной ДНК плода позволяет повысить эффективность пренатального скрининга, и при этом снизить число инвазивных процедур [84, 88, 232, 278]. Внеклеточная ДНК может происходить из клеток (экстравиллезного трофобласта) и трофобластических микровезикул / экзосом, которые активно высвобождаются в материнское пространство, значительная часть происходит из остатков синцитиотрофобластов в результате апоптоза / некроза и высвобождения многоклеточных фрагментов [168].

Неинвазивный пренатальный тест впервые был внедрен в клиническую практику в Гонконге в августе 2011 года, с октября 2011 года тест появился в США, и далее начал быстро распространяться в странах Европы. Первым доступным НИПТ в США стал тест MaterniT21Plus лаборатории Sequenom, который использовался для детекции трисомий 13, 16, 18, 12, 22 хромосом, анеуплоидий половых хромосом и некоторых микроделеций [121].

В 2013 году НИПТ стал доступен в России. На сегодняшний день уже в 60 странах на 6 континентах проводится НИПТ [121]. Международные клинические исследования показали высокую клиническую эффективность неинвазивных пренатальных тестов, основанных на выделении внеклеточной ДНК («cf-DNA»), что говорит о том, что этот метод может заменить стандартный скрининг на синдромы Дауна, Эдвардса и Патау [15, 30, 161]. В рекомендациях Американской коллегии акушеров-гинекологов (ACOG) отмечено, что данный метод имеет огромный потенциал [113].

Термин «Неинвазивный пренатальный тест» (НИПТ), подразумевает выделение фрагментов материнской и плацентарной ДНК (которую традиционно называют «фетальной» ДНК) из материнской плазмы с целью идентификации основных анеуплоидий плода (трисомий 13, 18 и 21 хромосом, моносомию X-хромосомы). Первоначально использовалась аббревиатура «НИПТ» - «Неинвазивный пренатальный тест», однако на сегодняшний день термин «НИПС» (неинвазивный пренатальный скрининг) предпочтителен – слово «скрининг» вместо «тест» подчеркивает, что данный

анализ относится к скрининговым исследованиям, а не к диагностическим, и это должно разъясняться пациентам [347].

НИПС имеет ряд преимуществ перед стандартным комбинированным пренатальным скринингом. Но при этом ряд авторов отмечает, что коммерциализированная и активно продвигаемая в практику технология НИПС значительно опередила необходимые научные исследования [12, 42].

Достоинством НИПС является возможность его применения в более раннем сроке, чем стандартный пренатальный скрининг 1 триместра – с 10 недель беременности (некоторые тесты, например тест «Panorama» лаборатории Natara, можно проводить с 9 недель беременности). Это может использоваться в частности для решения вопроса о целесообразности проведения сохраняющей терапии в случае угрожающего выкидыша [45]. После 10 недель беременности НИПС при необходимости может быть проведен на любом сроке беременности, вплоть до родов. Хотя в Российских клинических рекомендациях «Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования» содержится предупреждение, что вопрос о прерывании беременности в связи с хромосомными аномалиями у плода должен быть решен до 22 недель беременности (приказ МЗ РФ №736), а при получении положительного результата при использовании НИПС требуется подтверждение с помощью инвазивной диагностики, и до получения результата проходит определенное время. Поэтому предпочтительно использовать НИПС в сроке до 17 недель беременности, чтобы до 22 недель получить результат НИПС, направить пациентку на инвазивную диагностику, получить результат лабораторного исследования плодного материала (кариотипирования или хромосомного микроматричного анализа), при наличии показаний и с согласия пациентки направить ее на прерывание беременности [87].

У тестирования, основанного на выделении cf-DNA, лучше показатели чувствительности и специфичности [28, 87, 90, 268, 270], следовательно

эффективность такого скрининга будет выше, а число инвазивных вмешательств с целью кариотипирования плода уменьшится (что уже произошло в странах, где НИПС широко используется). Еще в 2012 году Nicolaides K.N. предположил, что существующий скрининг может быть заменен на НИПС в 10 недель с последующим УЗИ в 12 недель [268]. Диагностические характеристики НИПС представлены в таблице 1. (представлены средние значения для различных тестов по данным ACOG) [113]. При этом отмечено, что величина зависит от возраста женщины – у молодых женщин с низким риском патологии, среди которых хромосомные аномалии встречаются реже, она будет несколько ниже.

Таблица 1. Диагностические характеристики НИПС [113]

Результат	Чувствительность, %	Специфичность, %	PPV	NPV
Трисомия 21	99,3	99,8	87	99,99
Трисомия 18	97,4	99,8	68	99,99
Трисомия 13	91,6	99,9	57	99,99
Аномалии половых хромосом	91	99,6	20-40	99,98

Изначально Американская Коллегия Акушеров-гинекологов (ACOG) предлагала использовать НИПС в группе женщин высокого риска, но на сегодняшний день показано, что чувствительность и специфичность теста среди всех беременных женщин аналогична таковой в группе высокого риска, хотя прогностическая ценность положительного результата в группе низкого и умеренного риска будет ниже [113]. Современные международные рекомендации предполагают использование НИПС при беременности независимо от изначального риска [113, 347]. Уже у нескольких странах были проведены исследования, демонстрирующие высокую эффективность НИПС у женщин с различным риском хромосомных аномалий у плода [185, 230]. Наибольшие значения PPV достигаются для выявления анеуплоидий по

хромосомам 21 и 18, для половых хромосом и хромосомы 13 значения ниже [86, 358]. При этом при использовании тестов разных производителей показатели чувствительности и специфичности могут различаться. Например, Ying X. et al. сравнивали тесты, выполненные на платформах Illumina и Proton и показали, что чувствительности и PPV в отношении выявления трисомии 21, 18, 13 и моносомии X у них примерно одинакова, но при этом у Illumina лучше специфичность в отношении моносомии X, а у Proton – в отношении трисомии 13 [360].

Во многих клиниках Европы и США в связи с внедрением НИПС количество инвазивных процедур снизилось на 50-70% [289]. В исследовании, проведенном в Южной Корее тоже было отмечено меньшее количество направлений на ИПД среди пациенток, которые предпочли НИПС стандартному комбинированному скринингу 1 триместра [269]. При этом существуют определенные опасения, что более широкое использование НИПС приведет к такому значительному снижению количества проводимых биопсий ворсин хориона, амниоцентезов и кордоцентезов, что специалисты, которые проводят эти процедуру начнут терять свою квалификацию, и это, в свою очередь, приведет к росту количества осложнений после проведения инвазивной диагностики [121].

При опросе беременных женщин было выявлено, что 57,1% в случае попадания в группу высокого риска, предпочли бы первоначально пройти НИПС до принятия окончательного решения по поводу инвазивной диагностики, и лишь 22,1% заявили, что отказались бы от него. 6,2% беременных согласились бы пройти НИПС в качестве теста первой линии [35].

Существуют определенные противопоказания и ограничения для использования НИПС. Противопоказаниями являются онкологические заболевания матери, многоплодная беременность со спонтанной редукцией одного из плодов (высокий риск ложно-положительных результатов). Не рекомендовано проведение теста в случае, если у пациентки имеются

донорские органы и ткани [87]. В случае выявления структурных аномалий у плода по результатам УЗИ также не стоит предлагать пациентке НИПС – методом выбора в этом случае является инвазивная диагностика с проведением хромосомного микроматричного анализа (ХМА). Это позволит исключить не только основные трисомии, но провести диагностику на наличие числовых и структурных аномалий по всем хромосомам [113]. Ряд экспертов советует не предлагать пациентке НИПС, а сразу рекомендовать инвазивную диагностику, при уровне риска выше 1:50 [347].

Также противопоказанием для проведения теста являются выявленные хромосомные аномалии у родителей, например сбалансированные транслокации и инверсии, анеуплоидии половых хромосом, мозаицизм в соматических клетках матери. Робертсоновские транслокации с повышенным риском транслокационной трисомии 21 или 13 хромосом, напротив, являются показанием для проведения НИПС по мнению ряда экспертов [121]. При этом авторы придерживаются мнения, что при любых известных аномалиях кариотипа предпочтительна инвазивная диагностика, так как при носительстве каких-либо перестроек у потомства повышен риск не только аналогичных нарушений, но и любых других аутомсомных трисомий [4].

При проведении дотестового консультирования требуется подробно собрать семейный анамнез пациентки. Если у нее есть показания для проведения инвазивной диагностики, например, высокий риск тяжелой моногенной патологии, проводить НИПС не целесообразно, при этом стоит определить кариотип плода при проведении хорионбиопсии или амниоцентеза (даже если показания для проведения инвазивной диагностики изначально были иными).

На претестовом консультировании пациентка должна быть информирована обо всех различных методах пренатальной диагностики – анализ эмбриоспецифических белков, НИПС, инвазивная диагностика, ей должно быть разъяснено, какие заболевания могут быть выявлены при использовании той или иной методики, какова эффективность метода, его

преимущества и недостатки, и какие риски сопряжены с его использованием. Это поможет пациентке принять решение, что ей предпочесть [347]. Рекомендуя тот или иной метод исследования также необходимо учитывать культурные и религиозные взгляды пациентки [57, 347].

С помощью НИПС возможно определение пола плода. При этом НИПС не рекомендован в случае, если определение пола плода является единственной целью его проведения. Для того, чтобы избежать использования этого метода с целью селекции плодов по полу, ряд авторов предлагает при разработке нормативных документов в дальнейшем запретить выдачу информации о поле плода на раннем сроке беременности, особенно в случае широкого внедрения неинвазивных пренатальных тестов [87, 137, 172]. В свое время в ряде стран, например в Индии и Китае, большое влияние на частоту прерываний беременности в связи с селекцией пола оказало широкое внедрение УЗИ. И это имело серьезные демографические последствия [137]. Поэтому на сегодняшний день в некоторых странах, например, в Германии, запрещено сообщать пациентке пол плода при сроке беременности до 12 недель (независимо от того, каким методом он был определен). Также пол не отражается в заключениях в Индии, но если выявлена аномалия в системе половых хромосом, тогда это указывается [347]. В России на сегодняшний день действует запрет только на селекцию эмбриона по полу в программах ЭКО (ФЗ №323 «Об основах охраны здоровья граждан») [57], однако не существует никаких запретов на определение пола путем выделения фетальной ДНК по крови матери. При этом если срок беременности менее 12 недель, женщина может принять решение о прерывании беременности и никому не сообщать о причинах такого решения [57]. Пока остается неясным, используется ли где-либо НИПС с целью селекции пола и прерывания беременности в случае, если пол плода не соответствует пожеланиям родителей, и если такие ситуации имеют место быть, то как часто [137].

При проведении НИПС возможно определение числовых аномалий

половых хромосом (синдром Тернера, синдром Клайнфельтера, синдром Якобса, трипло-Х синдром у женщин) [86]. При этом влияние лишней половой хромосомы на здоровье человека в целом и на его развитие может варьировать в очень широком диапазоне, поэтому консультирование при подобных находках очень затруднено. К тому же, PPV при определении аномалий половых хромосом намного ниже, чем, например, при синдроме Дауна [86]. Также хочется отметить, что в мире в последние годы наблюдается снижение количества прерываний беременности в связи с выявленными анеуплоидиями геномом. Тем не менее, если будущие родители узнают о подобных генетических особенностях плода, это вызывает у них сильное беспокойство и опасение за здоровье будущего ребенка. При выявлении числовых аномалий геномом с помощью НИПС они должны принять решение не только о том, готовы ли они пролонгировать беременность, но и о необходимости инвазивной диагностики.

Необходимо информировать пациенток, что возможен ложноположительный результат при определении анеуплоидий половых хромосом с помощью НИПС, в некоторых случаях он может быть результатом наличия не выявленного мозаицизма низкого уровня у матери, поэтому при подобном результате стоит рекомендовать беременной анализ ее кариотипа [172].

С 2014 года появились неинвазивные пренатальные тесты для определения ряда микроделеционных и микродупликационных синдромов (например, синдромов Ди-Джорджи, Прадера-Вилли, Ангельмана, Кошачьего крика, Вольфа-Хиршхорна, делеции 1p), но в настоящее время валидированность подобных исследований недостаточна [40, 121]. PPV при определении подобных состояний существенно ниже, и составляет по разным данным от 11 до 48% (в среднем 19%) [141, 347]. Есть опасения, что большое количество ложноположительных результатов повлечет за собой необоснованную инвазивную диагностику, и это помещает достичь одной из главных целей НИПС – снижения количества инвазивных диагностических процедур [113, 172]. ACMG рекомендует информировать пациенток о

возможности неинвазивного тестирования на наличие микроделеционных синдромов, но при этом предупреждать их о высоком риске ложноположительных и ложноотрицательных результатов, а также о том, что даже расширенная панель не определяет всех известных хромосомных заболеваний [347]. На сегодняшний день появились тесты, при которых неинвазивное пренатальное тестирование проводится с помощью метода NGS, и такие тесты способны выявлять анеуплоидии и CNV всех хромосом. Стоимость таких тестов выше, а их валидированность на сегодняшний день недостаточна. При этом данный метод является весьма перспективным. Исследование Ciu W. показало, что для CNV размером >1 Мб (1000000 п.н.) чувствительность и специфичность НИПС с NGS составили соответственно 83,33% и 99,34% [160]. Кроме того, показано, что при проведении инвазивной диагностики, в случае выявления с помощью НИПС патогенной CNV, может быть выявлена другая абберация на той же хромосоме, либо перестройка, включающая другую хромосому. Поэтому для подтверждения результата НИПС не стоит проводить таргетные исследования (цитогенетические, либо FISH), а следует отдать предпочтение хромосомному микроматричному анализу [345].

В настоящее время существуют тесты, направленные на выявление анеуплоидий всех 24 хромосом. Но показатели чувствительности и специфичности для редких анеуплоидий хромосом (к которым относятся любые анеуплоидии, помимо трисомий 13, 18, 21 и анеуплоидий половых хромосом) признаны на сегодняшний день не удовлетворительными [360].

При получении ложно-положительного результата, либо (реже) ложно-отрицательного результата необходимо попытаться выяснить причину ошибочного результата. Причиной может быть недиагностированная двойня с регрессом 2 плода в раннем сроке. Также ложный результат может объясняться наличием плацентарного мозаицизма. Например, в отечественной публикации описан случай ложно-отрицательного результата по трисомии 21, когда при проведении исследования FISH у родившегося

ребенка была показана мозаичная трисомия по хромосоме 21 [110]. Также отмечается, что при ложно-положительных результатах, наличие мозаицизма плаценты может быть маркером осложненного течения беременности [14, 160]. При получении ложно-положительного результата, не исключается и наличие мозаицизма у матери, особенно если речь идет о числовых аномалиях половых хромосом [87, 360]. В исследовании Kim S.C. et al., проведенном в 2019 году, было описано 2 ложно-положительных случая аномалий половых хромосом, выявленных с помощью НИПТ, обусловленных наличием клинически значимых вариаций числа копий (CNV) на X-хромосоме у матери. В первом случае была выявлена дупликация Xq28, а во втором – делеция Xq24q25 [219]. В ряде случаев у пациенток с ложно-положительными результатами, выявлялся онкологический процесс (как правило при наличии злокачественных новообразований выявляются сочетанные нарушения, затрагивающие несколько хромосом, или отмечается странная, атипичная картина в образце крови) [217, 347, 360].

Ряд неинвазивных тестов можно проводить при многоплодных беременностях (двойней или даже тройней), хотя на сегодняшний день российские клинические рекомендации, так же как и американские, не рекомендуют НИПС при многоплодных беременностях [87, 113].

Проведение большинства неинвазивных тестов не рекомендовано также при использовании донорской яйцеклетки в программах ЭКО и при суррогатном материнстве. Некоторые тесты могут применяться и в этом случае, хотя валидированность таких исследований не достаточная [87].

На сегодняшний день остается открытым вопрос, стоит ли стремиться полностью перейти со стандартного комплекса пренатальной диагностики 1 триместра на НИПС. Ряд стран готовы к этому, в примере в Голландии НИПС на сегодняшний день стал стандартом скрининга для всех беременных женщин [287]. Но в большинстве стран считают, что повсеместно внедрение НИПС экономически не эффективно – например Sonek J.D., Cuckle H.S.

(США) в 2014 году рассчитали, что при использовании комбинированного скрининга 1 триместра с пороговым значением риска 1:250, предотвратить 1 случай рождения ребенка с синдромом Дауна стоит в среднем 220000\$, если же заменить его НИПС, что эта цифра вырастет до 770000\$ [326]. Многие научные исследователи и практикующие врачи склоняются к идее так называемого контингентного скрининга, предполагая, что такой вариант будет менее затратным [42, 43, 325]. Например, в Дании с 2017 года, у пациенток с уровнем риска 1/300-1/1000 по результатам комплекса пренатальной диагностики 1 триместра предлагается бесплатно пройти НИПС, пациентки с уровнем риска выше 1/300 направляются на инвазивную пренатальную диагностики, либо НИПС [252]. Очень интересный анализ был проведен в Англии в 2019 году. Было показано, что после проведения НИПС количество женщин с высоким риском трисомии 21 у плода снизилось соответственно на 93,2%, 90,0%, 77,1% и 47,2% при уровне риска 1:100–150, 1:50–99, 1:10–49 и >1:10 [310]. Опыт контингентного скрининга имеется также и в Италии, где было показано, что при направлении пациенток с уровнем риска >1:1000 по результатам стандартного пренатального скрининга 1 триместра на НИПС, выявляемость основных трисомий увеличилась на 3%, а количество инвазивных диагностических вмешательств при этом снизилось на 71%. Благодаря этому общие расходы на ведение беременностей снизилось за год на 19 млн. евро [289].

Важным вопросом является, должен ли НИПС оплачиваться фондом ОМС, либо следует так и оставить его платной услугой. Причем подобная дилемма существует не только в России. Например, Vunnik E.M. et al. в своей статье, посвященной неинвазивному пренатальному тестированию, выражают мысль, что направление женщин на НИПС в платном режиме усугубляет социальное неравенство, и может привести к тому, что дети с хромосомными аномалиями будут чаще рождаться в семьях с низким доходом, и это не соответствует требованиям справедливости [142].

В России в 2017 г. Емельяненко Е.С. и соавт. было проведено

исследование, направленное на отношение к НИПС врачей и пациентов. Было выявлено, что 35,24% врачей готовы использовать НИПС всем беременным в качестве теста первой линии, 40,9% рекомендуют его к использованию пациенткам со средним уровнем риска по результатам комплекса пренатальной диагностики 1 триместра, еще 21,9% считают что НИПС можно использовать у пациенток со средним уровнем риска, но за исключением тех, у которых были выявлены маркеры хромосомных аномалий по результатам УЗИ, около 2% полагают, что пока преждевременно внедрять НИПС в клиническую практику [35]. В ряде работ, иллюстрирующих ценность НИПС отмечено, что на сегодняшний день главный недостаток данного метода исследования – его стоимость и отсутствие ее компенсации страховыми компаниями [37]. Вместе с тем отмечается постепенное снижение цены на данный анализ. Динамика цен в России отражена на рисунке 1.

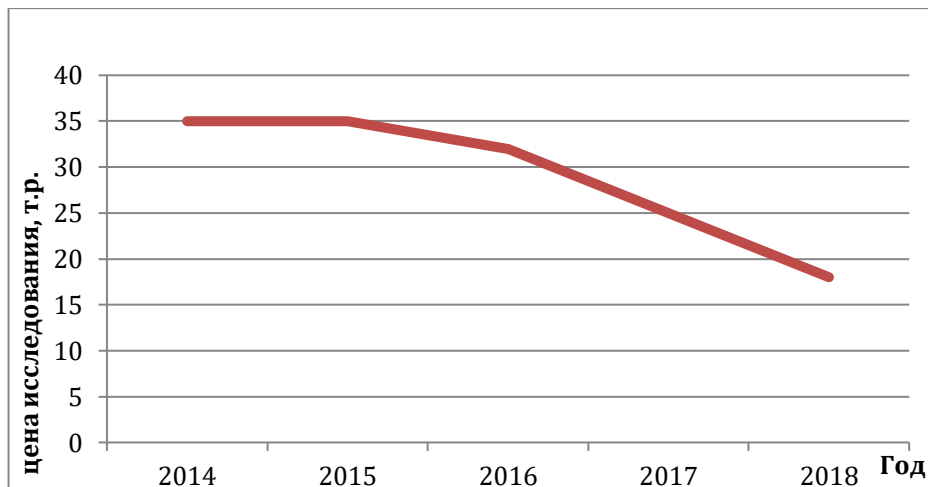


Рисунок 1. Динамика цен на НИПС в 2014-2018 гг. в России, тысяч рублей (т.р.)

Важным показателем результативности теста является фетальная фракция, поскольку низкая фетальная фракция (ниже 4-5%) не позволяет выдать пациентке достоверный результат [87, 113, 221, 268, 270, 295]. Согласно литературным данным в 3-6% случаев требуется повторное проведение анализа по причине малого количества фетальной ДНК [87, 113,

270, 277, 295]. Международные эксперты не пришли к единому мнению, какие рекомендации стоит давать при определении низкой фетальной фракции. В рекомендациях АСОГ сказано, что в этом случае возможно рекомендовать повторный анализ крови беременной, однако при повторном анализе удастся получить результат лишь в 50-60% случаев, а низкая доля плодовой ДНК может свидетельствовать о наличии анеуплоидий [113]. В то же время следует учитывать, что в случае повторного забора материала увеличивается время до получения результата, что может быть принципиальным, особенно во 2 триместре беременности [277]. АСМГ советует при определении низкой фетальной фракции рекомендовать экспертное УЗИ и решать вопрос о направлении пациентки на диагностическое тестирование (ИПД) [221, 268, 270, 347].

Известно, что низкая фетальная фракция чаще определяется у женщин с избыточной массой тела и ожирением [295, 347]. По данным АСОГ если масса тела выше 250 фунтов (113 кг), то в 10% случаев тест будет не результативным при причине низкой фетальной фракции [113]. Согласно рекомендациям АСМГ пациенткам с ожирением вместо НИПС следует предлагать другие варианты пренатальной диагностики [347]. Возможно, этим пациенткам стоит использовать НИПС в качестве теста второй линии в сроке беременности 15-18 недель, когда уровень фетальной фракции по литературным данным максимальный. При этом мы не считаем избыточную массу тела противопоказанием к проведению НИПС, так как пациентки с ожирением нередко встречались и среди тех, кому с первого раза удалось провести исследование и выдать результат. На уровень фетальной фракции помимо массы тела беременной женщины могут влиять и другие факторы. Например, есть исследования, в которых выявлено, что уровень фетальной фракции ниже при применении низко-молекулярных гепаринов (хотя можно предположить, что низкий уровень фетальной фракции связан не с самими низко-молекулярными гепаринами, а с теми показаниями, в связи с которыми они были назначены) [144, 163]. Ряд исследователей отметили, что более

низкая фетальная фракция определяется у женщин азиатской этнической принадлежности [231].

Кроме того, уровень фетальной фракции ниже, если беременность наступила в результате ЭКО. Предполагается, что какой-то элемент этого процесса влияет на показатель фетальной ДНК, но, возможно, низкая фетальная фракция связана не с технологией ЭКО, а с бесплодием. В любом случае, эту особенность стоит учитывать, так как более низкая фетальная фракция ассоциирована со снижением положительной и отрицательной предсказательной ценности метода [231].

Очень заманчива идея оценивать при проведении пренатального скрининга 1 триместра (который проводится для выявления группы высокого риска хромосомных анеуплоидий) риск акушерских осложнений [325, 326, 356], причем с точки зрения экономической эффективности желательно использовать при этом те же самые маркеры, так как внедрение дополнительных лабораторных показателей приведет к увеличению затрат. Проводить скрининг на развитие осложнений беременности параллельно со скринингом на хромосомные аномалии плода удобно также с организационных позиций [325]. Кроме того, Sonek, J. D., Kagan, K. O., и Nicolaides, K. H. предлагается «перевернуть пирамиду дородового наблюдения», то есть максимально сфокусировать внимание на выявлении пациенток высокого риска и проведении профилактических мероприятий в 1 триместре беременности, снизив количество визитов у женщин группы низкого риска в позднем сроке беременности (тогда как в настоящее время с увеличением срока беременности частота визитов пациентки к акушеру-гинекологу увеличивается) [325].

В основном, когда говорят о проведении скрининга 1 триместра, подразумевают выявление беременных с высоким риском хромосомных аномалий и/или пороков развития плода. Однако, плаценто-ассоциированные осложнения беременности встречаются намного чаще [325].

В ряде исследований проиллюстрирована взаимосвязь между низким

уровнем PAPP-A, определенном при проведении пренатального скрининга 1 триместра, и риском развития «Больших акушерских синдромов» - преэклампсии, тяжелой фето-плацентарной недостаточности с развитием ЗВУР, антенатальной гибели плода, преждевременных родов, самопроизвольных выкидышей [133, 136, 187, 205, 215, 214, 245]. Однако подчеркивается, что использование этого показателя изолированно от других имеет низкую прогностическую ценность, он должен использоваться в комбинации с другими маркерами [308].

В исследовании с участием 4605 пациенток (у 333 из которых развилась ПЭ в течение беременности), проведенном на иранской популяции, было показано, что у беременных женщин, у которых впоследствии развилась преэклампсия, уровень PAPP-A был достоверно ниже, а β -ХГЧ, напротив, существенно выше, при этом средние показатели не выходили за границы нормы - PAPP-A у пациенток с развившейся впоследствии ПЭ был 1 Мом против 1,09 Мом пациенток контрольной группы, а β -ХГЧ – 1,51 Мом против 1,14 Мом [205]. Отрицательная корреляция между уровнем PAPP-A и преэклампсией была показана и в других научных публикациях [133, 245, 284]. Данных о наличии какой-то взаимосвязи риска преэклампсии и уровня β -ХГЧ значительно меньше [197].

В других работах проанализирована корреляция сниженного уровня PAPP-A с риском рождения маловесного ребенка. Причина низкого веса у плода – недостаточность плаценты, а низкий уровень PAPP-A отражает это состояние. Известно, что PAPP-A ингибирует протеиназу, связывающую инсулино-подобный фактор роста 4 (IGFBP-4), поэтому сниженный уровень PAPP-A приводит к повышению IGFBP-4, и, следовательно, снижению инсулино-подобного фактора роста (ИФР). ИФР в свою очередь является важным регулятором роста плода, способствуя поглощению аминокислот и глюкозы, а также контролируя инвазию трофобласта [82, 197, 225, 260]. Уровень β -ХГЧ при этом не был изменен [197].

В проспективном исследовании, проведенном в 2015 году в Германии

была продемонстрирована ассоциация риска ЗВУР со сниженным уровнем РАРР-А и повышением β -ХГЧ. Уровень РАРР-А в Мом $>95\%$, напротив, достоверно коррелировал с повышенным риском рождения крупного плода [157]. Кроме того, уровень РАРР-А <10 перцентиля повышает риск преждевременных родов [293].

Помимо биохимических, для расчета риска «больших акушерских синдромов» теоритически могут использоваться ультразвуковые показатели. В статье Vilagi A. et al. было заявлено, что увеличение ТВП (при отсутствии ХА у плода) сопровождается повышением риска невынашивания беременности и снижением риска маловесного для срока гестации плода, а увеличение КТР - снижением риска антенатальной гибели. В этой работе также было отмечено, что риск преэклампсии, преждевременных родов и антенатальной гибели плода повышен при сниженном уровне РАРР-А [133]. В исследовании российских ученых было показано, что ТВП >3 мм и отрицательный кровоток в венозном протоке, выявленные в сроке беременности 11-14 недель, отражают ранние гемодинамические изменения у эмбриона, что может быть маркером не только пороков сердца у плода (как связанных, так и не связанных с ХА), но и тяжелой преэклампсии [104]. Помимо этого, есть данные о развитии компенсаторной артериальной гипертензии у плода при ЗВУР, что проявляется увеличением времени изоволюмического расслабления (VIR) (момента от активации миокарда желудочка до начала изгнания крови) левого желудочка [342]. Это можно объяснить тем, что при преэклампсии и ЗВУР нарушается баланс ангиогенных и антиангиогенных факторов, что приводит не только к нарушению формирования маточно-плацентарного кровотока, но и к транзиторному снижению темпов роста сосудистой системы плода, последствием чего является периферический отек (проявляющийся увеличением ТВП) и появление ретроградного кровотока в венозном протоке [104].

Большое значение имеет доплерометрия в 1 триместре. Измерение

пульсационного индекса маточной артерии включено в большинство алгоритмов [99, 168, 284]. В модели, предложенной Холиным А.М. и соавт. предложено измерять васкуляризационный индекс плацентарного ложа, и утверждается, что модели с измерением этого показателя показывают более высокую частоту выявления ПЭ, по сравнению с измерением PI маточной артерии. Однако при этом требуется 3D-энергетическая доплерометрия, что подразумевает определенную техническую оснащенность [99, 100].

Различные модели для подсчета риска акушерских осложнений разрабатываются в течение многих лет, ряд из них внедряется в клиническую практику [76, 98]. Наиболее простыми и не затратными являются модели, основанные на оценке факторов риска. Например, существуют подобные модели для оценки риска преэклампсии с использованием балльной оценки, либо компьютеризированного анализа [235, 286, 333]. Тем не менее, при таком подходе чувствительность и специфичность достаточно низкие, поэтому необходимы более комплексные алгоритмы, с учетом как анамнестических, так и лабораторных показателей. Например, Roon L. et al. в 2009 году разработали множественную логистическую регрессионную модель для скрининга преэклампсии в 11-13,6 недель гестации. Эта модель базируется на демографических характеристиках, измерении артериального давления у матери, доплерометрии маточной артерии, а также показателях PAPP-A и PIGF [284]. По данным авторов она позволяет выявить соответственно 93,1%, 35,7% и 18,3% случаев ранней ПЭ, поздней ПЭ и гестационной артериальной гипертензии (при 5% ЛПП) [284]. Crovetto F., помимо параметров, указанных в предыдущей модели, дополнительно включила в алгоритм прогнозирования растворимую Fms-подобную тирозинкиназу-1 (sFLT-1), выявляемость ранней и поздней ПЭ при этом составила соответственно 87,7% и 68,3% (при 5% ЛПП) [159]. Модель Parra-Cordero M., напротив, включает меньше показателей, чем Roon L. – материнские характеристики, доплерометрию AtU и PIGF, но выявляемость ранней и поздней ПЭ при этом оказалась на уровне всего 47% и 29% [279]. Однако в

ряде регионов проведение подобного скрининга затруднено, из-за отсутствия необходимого оборудования и реагентов для измерения PIGF и sFLT-1. В Испании существует алгоритм, разработанный Scazzocchio E, Figueras F, Crispi F, et al., основанный на уровне показателей PAPP-A и β -ХГЧ, чувствительность и специфичность которого составляют соответственно 81% и 90% [316]. Чилийской группой ученых был разработан алгоритм без использования биохимических показателей, в котором учитывались лишь анамнестические и биофизические параметры, показатели чувствительности и специфичности у него были 72% и 90% [146].

В то же время, все эти модели оказались наиболее эффективны для оценки риска ранней преэклампсии, в отношении преэклампсии, развивающейся в сроке беременности более 34 недель, показатели эффективности были ниже [38, 261, 334]. Для оценки риска поздней преэклампсии предлагается дополнительно проводить анализ PAPP-A, PIGF или других маркеров в 3 триместре [134]. Кроме того, при попытке ретроспективно оценить данные алгоритмы выяснилось, что показатели чувствительности и специфичности ниже, чем заявлено авторами [98, 273, 334].

Некоторые алгоритмы прогнозирования ПЭ, опубликованные в международных изданиях были валидированы на российской популяции. Эффективность скрининга на преэклампсию была оценена как умеренная – чувствительность по выявлению ранней ПЭ составила 31,6-57,8%, поздней – лишь 25,5-37,2% [98]. Отечественными авторами была разработана скрининговая модель на преэклампсию на основе клинико-анамнестических параметров, измерения среднего АД, васкуляризационно индекса плацентарного ложа и PIGF, выявляемость ранней и поздней ПЭ при использовании которой составили соответственно 89,7% и 50,7%. Подчеркивается, что при добавлении в модель таких распространенных в других алгоритмах параметров как PAPP-a и PI маточной артерии, отсутствовало значимое увеличение выявляемости ранней и поздней ПЭ [99,

100].

Поскольку большинство исследователей на сегодняшний день сходятся во мнении, что ПЭ и ЗВУР – это два взаимосвязанных состояния, предполагается, что проведение профилактики ПЭ снижает также риск ЗВУР [325]. Действительно, было показано, что проведение профилактики преэклампсии низкими дозами ацетилсалициловой кислоты, привело к снижению частоты развития не только преэклампсии, но и ЗВУР, и связанных с ним перинатальных осложнений [204, 306, 325].

Риск ЗВУР без преэклампсии также повышен при повышенном среднем АД и PI в маточных артериях. Снижение уровней биохимических показателей, включенных в пренатальный скрининг 1 триместра (РАРР-А и β -ХГЧ) тоже, вероятно, повышает риск ЗВУР без ПЭ. Взаимосвязь показателей скрининга 1 триместра с преждевременными родами не доказана, показано лишь то, что риск преждевременных родов повышается при укорочении длины шейки матки в 1 или 2 триместре [191, 325].

Ряд исследователей считают, что высокие уровни РАРР-А и β -ХГЧ, а также увеличение ТВП (при отсутствии ХА) сопряжены с повышением риска макросомии, даже если пациентка не страдает гестационным сахарным диабетом [283, 325].

Что касается преждевременных родов, то на сегодняшний день нет данных, что использование показателей РАРР-А и β -ХГЧ, а также PI маточных артерий, может повысить эффективность выявления группы высокого риска по данному осложнению [325].

Многие исследователи рассматривают в качестве предиктора осложнений беременности уровень фетальной фракции. Низкое количество фетальной ДНК может быть показателем сниженного объема плацентарной массы, воспаления и эндотелиальной дисфункции. Существует гипотеза, что уровень фетальной ДНК зависит от размера плаценты и от степени апоптоза трофобласта, и в этой связи фетальная фракция изучалась еще задолго до того, как ее активно начали использовать с целью детекции хромосомных

анеуплоидий [308, 351]. Эта же закономерность наблюдалась в нескольких работах [151, 308]. Есть данные что низкая фетальная фракция увеличивает риск неблагоприятных исходов беременности, таких как невынашивание беременности, антенатальная гибель плода, преждевременные роды, внутриутробная задержка роста плода [226, 231, 308, 333]. Хотя при оценке данного маркера необходимо учитывать и прочие факторы, которые могут привести к снижению ФФ – высокого ИМТ у матери, применение антикоагулянтов, беременность, наступившая в результате ВРТ, расовая принадлежность [144, 174, 226].

У пациенток, с уже диагностированной преэклампсией, уровень фетальной фракции, напротив, может быть повышенным, также как и в случае с тяжелой фето-плацентарной недостаточностью [119, 147, 308]. Наши отечественные исследователи получили данные, что чрезмерно высокие уровни cf-ДНК ассоциированы с риском невынашивания беременности. При начавшейся угрозе самопроизвольного выкидыша уровень фетальной ДНК в 1 триместре был достоверно выше, чем при нормально протекающей беременности [62]. Авторы связывают повышенный уровень свободной фетальной ДНК с апоптозом и некрозом клеток плаценты [62, 95]. Китайские ученые выявили ассоциацию между более высоким уровнем фетальной ДНК в 12-22 недели беременности с последующим развитием гестационного сахарного диабета, преэклампсии и внутрипеченочным холестазом беременных [263].

Результаты стандартного пренатального скрининга с определением риска преэклампсии и ЗВУР коррелируют с результатами НИПС не только при оценке риска хромосомных аномалий, но и при оценке риска «больших акушерских синдромов». Есть данные, что существует положительная корреляция между уровнем PAPP-A и уровнем ФФ, между уровнями PIGF и ФФ, и отрицательная корреляция между пульсационным индексом маточной артерии и ФФ и между АД и ФФ [271, 285, 308].

Не все исследования показали ассоциацию уровня фетальной фракции с

осложненным течением беременности. Poop L.C. et al. указывают на то, что на этот показатель влияет ряд материнских характеристик – к снижению ФФ могут приводить, например, афро-карибское и восточно-азиатское расовое происхождение и курение, но она значимо не изменяется при осложненной гестации [285].

Ряд авторов высказывает сомнения, что показатель ФФ, полученный при проведении НИПС, сможет заменить биохимические показатели стандартного пренатального скрининга в плане предикции осложненного течения гестации [225]. Некоторые публикации показали, что отмена существующего биохимического скрининга может привести к отсутствию идентификации женщин, подверженных риску неблагоприятного исхода беременности [178, 285].

На сегодняшний день остается неясным, можно ли повысить эффективность скрининга преэклампсии и ЗВУР дополнив существующий алгоритм показателем фетальной фракции, или заменив этим показателем какие-то другие параметры. Безусловно, в плане выявления высокого риска хромосомных аномалий, неинвазивный пренатальный тест эффективнее существующего скрининга, и полная замена на сегодняшний день не проводится в основном по экономическим соображениям [188]. Но вопрос, стоит ли беременной женщине предлагать определение уровня PAPP-A и PIGF для оценки риска только плаценти-ассоциированных осложнений беременности, если риск ХА у нее уже оценен с помощью НИПС, остается открытым, также как и то, при каком уровне риска, определенным с помощью стандартного комплекса пренатальной диагностики стоит направить пациентку на НИПС, если будет внедрен контингентный скрининг. Использование параллельно обоих тестов значительно увеличит государственные расходы на ведение беременности, поэтому необходима разработка оптимального алгоритма, с максимально-эффективной оценкой уровня различных рисков, но при этом, по возможности, с использованием минимального количества лабораторных параметров.

Резюме

Подводя итог обзора литературы, можно сделать заключение, что в развитии «больших акушерских синдромов» играют роль множественные модифицируемые и не модифицируемые факторы риска. Имеется определенная генетическая предрасположенность к осложнениям беременности, в реализации которой играет роль как геном матери, так и геном плода, который является для беременной женщины полуаллогенным. Во многом факторы риска разных «больших акушерских синдромов» схожи, что может свидетельствовать об их общем этиопатогенезе. Тем не менее, существуют определенные механизмы, которые отвечают за реализацию конкретного акушерского осложнения у разных пациенток. Для прогнозирования осложненного течения беременности необходим комплексный подход, включающий в себя учет данных анамнеза, лабораторных исследований и молекулярно-генетического тестирования. Глубокое понимание патогенеза акушерских осложнений должно способствовать оптимизации алгоритма прекоцепционной подготовки и тактики ведения беременности.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Работа выполнена в период с 2015 по 2020 год в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, ректор – член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор О.П. Ковтун), на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки врачей и педиатрического факультета (заведующий кафедрой – доктор медицинских наук, профессор В.В. Ковалев): ГБУЗ «Свердловская областная детская клиническая больница» (Областной перинатальный центр), ГБУЗ «Клинико-диагностический центр «Охраны здоровья матери и ребенка» (КДЦ «ОЗМР»).

Для достижения поставленной цели и решения сформулированных выше задач, работа включала клинические, лабораторные и инструментальные исследования. Всего в исследование включено 29489 женщин. Исследование проводилось в 5 этапов.

На 1 этапе было выполнено ретроспективное сплошное когортное исследование. 1 этап исследования был посвящен изучению клинических, лабораторных и молекулярно-генетических предикторов осложнений беременности. Проведена оценка роли некоторых полиморфных вариантов генов-кандидатов ассоциированных с формированием «больших акушерских синдромов» и входящих в генные сети, контролирующие ключевые факторы нормального или осложненного течения беременности на основе ретроспективного когортного исследования с анализом обменных карт пациенток с осложненным и не осложненным течением беременности. Обследование пациенток проведено в соответствии с приказом

Министерства здравоохранения России №572 от 01.11.2012 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)». За период с 1 января 2016 по 31 декабря 2018 года в Областном перинатальном центре СОДКБ№1 было отобрано 279 пациенток с осложненным течением беременности (группа 1.1), среди которых у 103 верифицирована тяжелая преэклампсия (ПЭ) в соответствии с критериями клинических рекомендаций (протокол лечения) «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия» 2016 года (1.1А группа), у 69 произошли преждевременные роды в сроке с 22 до 34 недели (1.1Б группа), у 67 диагностирована плацентарная недостаточность с задержкой роста плода (ЗВУР) II или III степени выраженности без ПЭ (1.1В группа), у 40 произошла антенатальная гибель плода при отсутствии ЗВУР и ПЭ (1.1Г группа). В контрольную группу (1.2 группа) мы отобрали 112 пациенток с нормальным течением беременности и благоприятным перинатальным исходом (рождение живого доношенного здорового ребенка). Все беременные находились на диспансерном учете в женских консультациях г. Екатеринбурга и Свердловской области. Объем выборки на данном этапе составил 391 пациентку.

Критериями включения в исследование на 1 этапе явились: беременность в сроке более 22 недель, самопроизвольно наступившая одноплодная беременность, информированное согласие на участие в исследовании, полное обследование в соответствии с приказом №572н МЗ РФ.

Критериями невключения явились: женщины в возрасте младше 18 и старше 40 лет; беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий; многоплодная беременность; тяжелая соматическая патология, являющаяся противопоказанием для вынашивания беременности; генитальный инфантилизм; врожденные аномалии развития

матки; алкогольная и наркотическая зависимость; онкологические заболевания при данной беременности и в анамнезе; наличие у плода летальных и сублетальных пороков развития; сахарный диабет (в том числе, гестационный) с потребностью в инсулинотерапии; отсутствие информации об исходе беременности.

Критериями исключения явились: отказ пациентки от участия в исследовании; отказ пациентки от проведения исследований, регламентированных приказом №572н МЗ РФ и предусмотренных по плану выполнения работы; ургентная хирургическая патология; острая декомпенсация соматической патологии; острое инфекционное заболевание в период беременности, потребовавшее изменения тактики ведения беременности.

Все необходимые нам данные анамнеза, результатов исследований беременных и исходов родов, включая состояние новорожденных, регистрировались в специально разработанной статистической карте, вводились в электронную базу данных с проведением в последующем математической обработки.

На 2 этапе выполнено наблюдательное описательное эпидемиологическое исследование, посвященное изучению диагностической значимости, сравнительной эффективности и прогностической ценности неинвазивного пренатального тестирования на основе детекции cf-DNA плода. В исследуемую группу (группа 2) включено 27845 пациенток, прошедших пренатальный неинвазивный скрининг на территории Российской Федерации в 2013-2018 гг. Группа 2 была разделена на группы 2.1 – пациентки, которые получили результат с 1 раза (N=26523), и 2.2 – 1322 пациентки не получившие результат с 1 раза. Пациентки, которые согласились продолжить исследование, были разделены на подгруппу 2.2А – 1136 пациенток, которые со 2 раза получили результат, и подгруппу 2.2Б – 123 пациентки, и со 2 раза не получившие результат).

Критериями включения в исследование на втором этапе работы были

следующие: беременность в сроке более 10 недель, одноплодная беременность, информированное согласие на проведение НИПС, славянская национальность.

Критериями невключения явились: беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий (донорская яйцеклетка и суррогатное материнство); неразвивающаяся беременность; онкологические заболевания при данной беременности, многоплодная беременность; аномалии кариотипа у одного из родителей.

Критериев исключения из исследования не было.

На 3 этапе из группы 2 выделено 288 беременных прошедших неинвазивное пренатальное тестирование на территории Свердловской области за тот же период времени – группа 3. В этой группе проведено ретроспективное сплошное когортное исследование. Пациентки были подвергнуты углубленному обследованию, включая ряд анамнестических, ультразвуковых, гематологических и биохимических показателей. Обследование также включало изучение перинатальных исходов и оценку состояния новорожденных детей. Проведена оценка показателей комплекса пренатальной диагностики 1 триместра и уровня фетальной фракции, определенного при проведении НИПС, с точки зрения взаимосвязи их уровня с нормальным или патологическим течением беременности. Группа 3 была разделена на группы 3.1 – 34 пациентки, у которых по результатам НИПС выявлен высокий риск ХА у плода, и 3.2 – 254 пациентки с низким риском ХА у плода по результатам НИПС. Группу 3.2 в зависимости от исхода беременности мы далее поделили на 2 подгруппы. 203 пациентки с физиологическим течением и благоприятным исходом беременности составили подгруппу 3.2А, 51 пациентка с осложненным течением беременности, либо неблагоприятным исходом, вошла в подгруппу 3.2Б.

Критериями включения в исследование на третьем этапе работы были следующие: беременность в сроке более 10 недель, одноплодная беременность, информированное согласие на участие в исследовании,

постановка на учет в женской консультации на территории Свердловской области в сроке беременности до 12 недель.

Критериями невключения явились: беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий (донорская яйцеклетка и суррогатное материнство); неразвивающаяся беременность; онкологические заболевания при данной беременности, многоплодная беременность, тяжелая соматическая патология, являющаяся противопоказанием для участия в исследовании, онкологические заболевания при данной беременности и в анамнезе; аномальный кариотип у одного из супругов.

Критерии исключения: отказ пациентки от участия в исследовании, отсутствие информации об исходе беременности.

На 4 этапе проведено проспективное сравнительное когортное исследование. 4 этап выполнения работы заключался в изучении роли различных хромосомных aberrаций в генезе спорадического и привычного невынашивания беременности с применением современного молекулярно-биологического метода – хромосомного микроматричного анализа (ХМА), проведенного на абортивном материале. Мощность выборки на данном этапе составила 1253 пациентки (группа 4). Данный этап также включал сравнительный анализ диагностической значимости традиционного кариотипирования и хромосомного микроматричного анализа. 1000 пациенток, которым был проведен хромосомный микроматричный анализ абортивного материала вошли в группу $4_{\text{ХМА}}$. 253 пациентки, у которых было проведено стандартное цитогенетическое исследование, составили группу $4_{\text{Ц}}$. Группа $4_{\text{ХМА}}$ была поделена на подгруппы 4.1 и 4.2 в зависимости от предшествующего анамнеза. У 681 пациентки подгруппы 4.1 впервые произошла потеря беременности. У 319 пациенток подгруппы 4.2 уже были потери беременности в анамнезе: у 285 пациенток подгруппы 4.2А в анамнезе уже была 1 потеря беременности (неразвивающаяся беременность, либо самопроизвольный выкидыш). 34 пациентки подгруппы 4.2Б страдали

привычным невынашиванием беременности – имели в анамнезе 2 и более потери беременности.

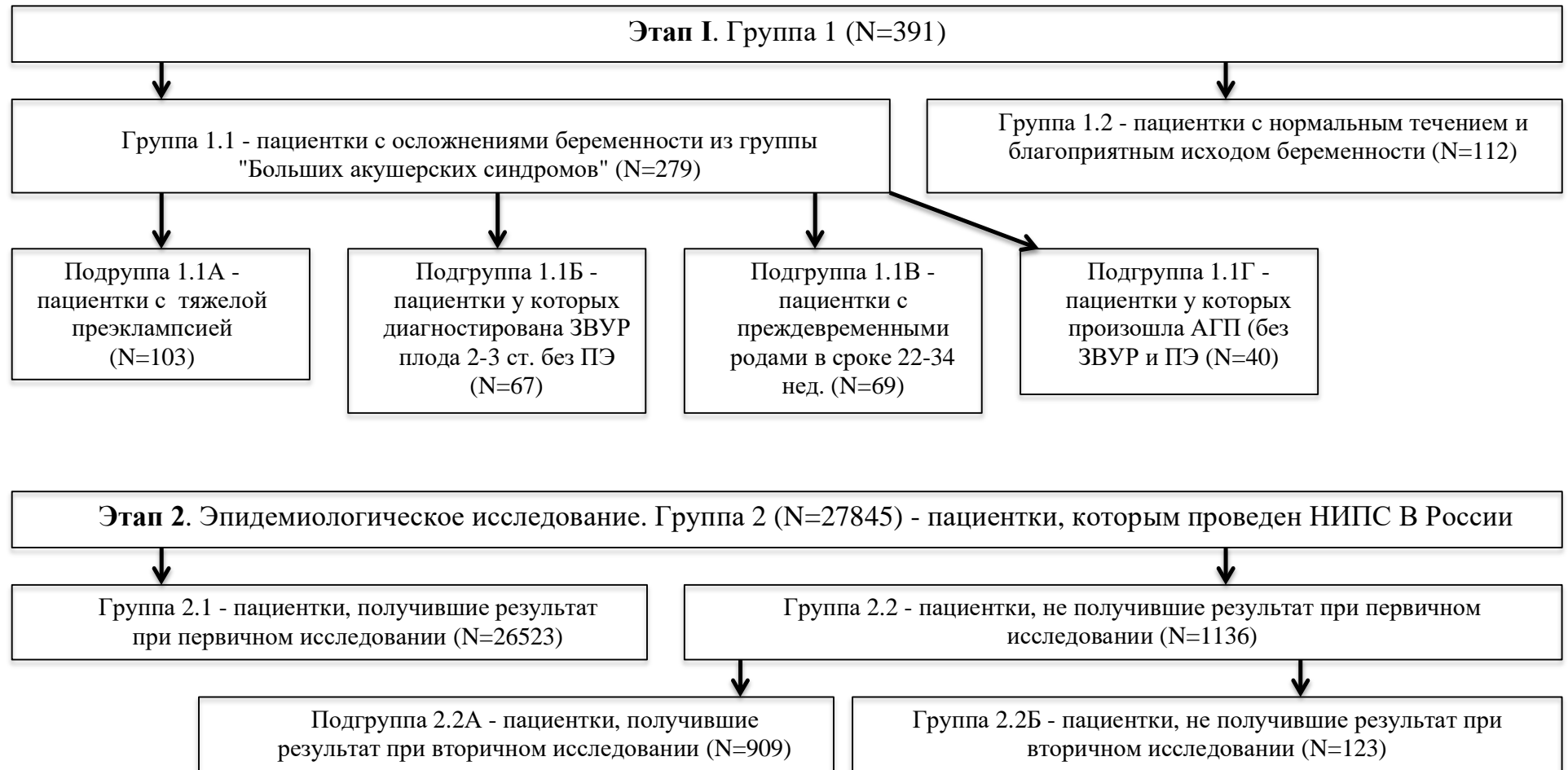
Критериями включения в исследование на 4 этапе явились: неразвивающаяся беременность в сроке 6-12 недель, самопроизвольно наступившая одноплодная беременность или беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий, информированное согласие на участие в исследовании.

Критериями невключения явились: отказ пациентки от участия в исследовании, тяжелая соматическая патология, являющаяся противопоказанием для вынашивания беременности; генитальный инфантилизм; врожденные аномалии развития матки; алкогольная и наркотическая зависимость; онкологические заболевания в анамнезе, острое воспалительное инфекционное заболевание, контаминация биологического материала кровью матери, наличие в супружеской паре ранее установленных генетических аномалий.

Критериев исключения из исследования на данном этапе выполнения работы не было.

На 5 этапе выполнения работы проводилась разработка прогностических моделей «больших акушерских синдромов», изучалась их эффективность с определением специфичности и чувствительности и построением ROC-кривых. Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

У всех пациенток до начала исследования было получено информированное согласие на использование биологического материала в соответствии с положениями 59 (Seoul, Republic of Korea, 2008) и 64 (Fortaleza, Brazil, 2013) пересмотров Хельсинкской декларации, разработанной Всемирной медицинской ассоциацией, информированное согласие на использование персональных данных.



*Примечание: 186 пациенток отказались от пересдачи анализа после первого неудачного анализа, 104 пациентки отказались от дальнейшего участия в исследовании после 2 неудачного анализа

Рисунок 2. Дизайн исследования



Рисунок 2 (продолжение). Дизайн исследования

Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России.

2.2. Клиническая характеристика исследуемых групп.

I этап исследования был посвящен изучению клинических, лабораторных и молекулярно-генетических предикторов осложнений беременности. На этом этапе в исследование была включена 391 пациентка. В группу 1.1 (основная группа) вошло 279 пациенток. Это были пациентки, имеющие осложнения беременности из группы «больших акушерских синдромов». Они были разделены еще на 4 подгруппы:

- 1.1А (N=103) – пациентки с преэклампсией тяжелой степени;
- 1.1Б (N=67) – пациентки с фето-плацентарной недостаточностью, клинически верифицированной задержкой внутриутробного роста плода (ЗВУР) 2-3 степени (без преэклампсии);
- 1.1В (N=69) – пациентки со спонтанными преждевременными родами в сроке гестации 22-34 недели;
- 1.1Г (N=40) – пациентки, у которых не было признаков ЗВУР или ПЭ, однако произошла антенатальная гибель морфологически нормального плода после 22 недель беременности.

Контрольную группу (группа 1.2) составили пациентки, у которых беременность завершилась благополучно в сроке 38-42 недели рождением живого доношенного ребенка (N=112).

Средний возраст пациенток описан в таблице 2. В основной и контрольной группах (1.1 и 1.2) средний возраст пациенток был практически одинаков и составил 30,1(5,66) лет и 30,1(4,25) лет.

Таблица 2. Средний возраст пациенток (этап I)

Группа	Средний возраст, M(SD)	p
1.1 (n=279)	30,1(5,66)	0,93
1.1А (n=103)	29,4(5,77)	0,11
1.1Б (n=67)	29,4(6,01)	0,40
1.1В (n=69)	31,4(5,18)	0,35
1.1Г (n=40)	30,5(5,18)	0,63
1.2 (n=112)	30,1(4,25)	-
Примечание: n – число женщин; p уровень значимости различий между группой 1.1 и 1.2, 1.1А и 1.2, 1.1Б и 1.2, 1.1В и 1.2, 1.1Г и 1.2. статистически значимые различия при $p < 0,05$		

Далее был проанализирован социальный статус пациенток исследуемой группы. Данные представлены в таблице 3. Статистически значимых различий по социальным характеристикам обследованных пациенток основной и контрольной групп не отмечено. В подгруппе 1.1В обнаружена достоверно более высокая доля домохозяек, по сравнению с основной группой – 25 (36,2%) (в контрольной группе – 25 (22,3%), $p=0,042$, $\chi^2=4,13$). В подгруппе 1.1А оказалась наиболее высокая доля учащихся – 4 (3,8%), в контрольной группе учащихся не было.

Поскольку «большие акушерские синдромы» оцениваются как патология с генетической предрасположенностью [89, 102, 329, 344], важно было оценить наследственность среди пациенток исследуемых групп. Количество пациенток с отягощенной наследственностью в исследуемых группах представлено в таблице 4.

Таблица 3. Социальный статус и семейное положение обследованных женщин (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%					
Служащий	102	36,5	42	40,1	23	34,3	20	29	17	42,5	40	35,7	0,87	0,44	0,85	0,35	0,44
Рабочий	93	33,3	30	29,1	26	38,8	23	33,3	14	35	47	42	0,11	0,05	0,67	0,25	0,44
Домохозяйка	77	28,6	27	26,1	16	23,9	25	36,2	9	22,5	25	22,3	0,28	0,51	0,81	0,04	0,98
Учащаяся	7	2,5	4	3,8	2	33,3	1	1,4	0	-	0	-	0,11	0,04	0,08	0,25	0,99
Брак не зарегистрирован	44	15,8	14	13,6	13	19,4	12	17,4	5	12,5	21	18,8	0,47	0,31	0,91	0,82	0,37
Брак зарегистрирован	235	84,2	89	86,4	54	80,6	57	82,6	35	87,5	91	81,2	0,47	0,31	0,91	0,82	0,37
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05																	

Таблица 4. Количество пациенток с отягощенной наследственностью среди обследованных женщин (этап 1)

Заболевание, по которому имеется отягощенная наследственность	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%					
Сердечно- сосудистая патология	38	13,6	19	18,44	10	14,9	6	7,5	2	5	6	5,3	0,02	<0,01	0,03	0,38	0,93
Онкология	13	4,7	6	5,8	3	4,5	3	4,3	1	2,5	3	2,7	0,37	0,25	0,51	0,54	0,95
Сахарный диабет	20	7,2	8	7,7	7	10,4	5	7,2	2	5	5	4,5	0,32	0,31	0,12	0,43	0,02
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05																	

Чаще всего пациентки указывали на наследственность, отягощенную по сердечно-сосудистой патологии (гипертоническая болезнь, инфаркты, инсульты, тромбоэмболические осложнения), по онкологическим заболеваниям и по сахарному диабету. По другим состояниям (в том числе, по осложнениям беременности) во всех группах имелись лишь единичные сообщения об отягощенной наследственности. Выявлено, что в группе 1.1, а также в подгруппах 1.1А и 1.1Б достоверно большее число пациенток имеют наследственность, отягощенную по сердечно-сосудистой патологии: 38 (13,6%) в группе 1.1 ($\chi^2=5,46$, $p=0,03$, ОШ=2,79, ДИ 95% 1,14-6,79), 19 (18,44%) в подгруппе 1.1А ($\chi^2=8,94$, $p<0,01$, ОШ=4, ДИ 95% 1,53-10,45), 10 (14,9%) в подгруппе 1.1Б ($\chi^2=4,71$, $p=0,03$, ОШ=3,1, ДИ 95% 1,07-8,96) в контрольной группе этот фактор выявлен лишь у 6 (5,3%) пациенток.

Во многих исследованиях показано, что фактором риска развития осложнений беременности является курение [6, 187, 204, 297, 353]. Нами проведен анализ распространенности этой зависимости среди пациенток исследуемых групп. В контрольной группе (1.2) было 9 (8%) табакозависимых. В основной группе (1.1) их было 45 (16,1%) ($\chi^2=4,39$, $p=0,036$, ОШ=2,2, ДИ 95% 1,04-4,67). В подгруппах 1.1А, 1.1Б, 1.1В, 1.1Г курящих пациенток было соответственно 10 (9,7%), 18 (26,4%), 13 (18,8%) и 4 (10%). Во всех подгруппах основной группы курильщиц было больше, чем в контрольной группе, но статистически значимые различия по сравнению с группой 1.2 выявлены только у пациенток с ЗВУР 2-3 степени (подгруппа 1.1Б) ($\chi^2=11,6$, $p<0,001$, ОШ=4,2, ДИ 95% 1,76-10,03) и с преждевременными родами (подгруппа 1.1В) ($\chi^2=4,67$, $p=0,03$, ОШ=2,66, ДИ 95% 1,07-6,6).

В таблице 5 представлены результаты анализа акушерского анамнеза пациенток исследуемых групп.

Таблица 5. Акушерский анамнез пациенток 1 этапа

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%					
Первобеременные	73	26,1	37	35,9	23	34,3	6	8,7	7	17,5	26	23,2	0,54	0,04	0,1	0,01	0,45
Повторнобеременные	206	73,9	66	64,1	44	65,7	63	92,3	33	82,5	86	76,8	0,54	0,04	0,1	0,01	0,45
Не рожавшие	109	39	53	51,4	32	47,7	9	13	15	37,5	44	39,3	0,96	0,07	0,26	<0,01	0,84
Рожавшие	170	61	50	48,6	35	52,3	60	87	25	62,5	68	60,7	0,96	0,07	0,26	<0,01	0,84
Многорожавшие	65	23,2	14	13,6	11	16,4	31	44,9	9	20	24	21,4	0,67	0,13	0,41	<0,01	0,88
Артифициальные аборты в анамнезе	110	39,4	28	27,2	12	17,9	36	55,1	14	35	27	24,1	<0,01	0,6	0,33	<0,01	0,18
Невынашивание беременности в анамнезе	47	16,8	12	11,7	10	14,9	17	24,6	8	20	14	12,5	0,28	0,84	0,64	0,04	0,24
Среднее количество беременностей, M(SD)	3,06(2,28)		2,46(2,085)		2,76(2,06)		4,28(2,5)		3,02(1,96)		2,68(1,5)		0,09	0,38	0,75	<0,01	0,25
Среднее количество родов, M(SD)	2,01(1,15)		1,7(0,96)		1,66(0,91)		2,55(1,08)		2,12(1,48)		1,88(0,9)		0,27	0,04	0,74	<0,01	0,06
Среднее количество абортов, M(SD)	0,82(1,45)		0,56(1,26)		0,83(1,37)		1,31(1,85)		0,6(0,95)		0,39(0,85)		<0,01	0,25	<0,01	<0,01	0,2
Среднее количество случаев невынашивания беременности, M(SD)	0,22(0,59)		0,16(0,42)		0,32(0,59)		0,34(0,7)		0,3(0,68)		0,14(0,42)		<0,01	0,25	<0,01	<0,01	0,2

Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05

Между пациентками исследуемых групп выявлены существенные различия по некоторым ключевым параметрам. Так, в основной группе значительно больше, чем в контрольной, было число пациенток, имеющих искусственный аборт в анамнезе – у 110 пациенток (39,3%) по сравнению с 27 (24,1%) ($\chi^2=8,24$, $p<0,01$, ОШ=2,05, ДИ 95% 1,24-3,36). Также в основной группе было больше среднее число аборт на одну пациентку – 0,82(1,45) в основной группе и 0,39(0,85) в контрольной ($p<0,01$), и среднее число случаев невынашивания беременности в анамнезе – 0,22(0,59) и 0,14(0,42) случая ($p<0,01$).

В подгруппе 1.1А (пациентки с тяжелой ПЭ) были выявлены следующие значимые различия, по сравнению с контрольной группой: чаще встречались первородящие пациентки – 37 (35,9%) по сравнению с 26 (23,2%), - и, соответственно, реже повторобеременные, - 66 (64,1%) и 86 (76,8%) ($\chi^2=4,18$, $p=0,04$). В подгруппе 1.1Б (пациентки со ЗВУР 2-3 степени) было большее среднее число аборт и случаев невынашивания беременности в анамнезе: в подгруппе 1.1Б эти показатели были соответственно 0,83(1,37) и 0,32(0,59), а в группе 1.2 соответственно – 0,39(0,85) и 0,14(0,42) ($p<0,05$). Наиболее значимые различия по сравнению с контрольной группой выявлены у пациенток подгруппы 1.1В (пациентки со спонтанными преждевременными родами). В этой подгруппе различия по всем показателям, приведенным в таблице 5, оказались статистически достоверными. 63 (92,3%) пациентки в этой группе были повторобеременными, 60 (87%) - повторородящие, 31 (44,9%) - многорожавшие ($p<0,01$). Это существенно превышает аналогичные параметры не только контрольной группы, но и других подгрупп основной группы. Доля пациенток, имеющих в анамнезе аборты и потери беременности, также в этой группе оказалась наибольшей – соответственно 36 (55,1%) и 17 (24,6%). Среднее количество беременностей, родов, искусственных аборт и случаев невынашивания беременности в анамнезе в этой группе было достоверно выше, чем в контрольной. Мы

предполагаем, что в этой группе было самое большое число домохозяек именно потому, что в анамнезе у пациенток было большее количество родов, следовательно, они имели больше детей, и это повлияло на их социальный статус. В подгруппе 1.1Б было, напротив, существенно меньшее количество родов, чем в группе 1.2 – соответственно 1,66(0,91) и 1,88(0,9) ($p=0,04$).

Важными показателями здоровья женщины являются менструальная функция и гинекологическая заболеваемость (таблицы 6 и 7).

Значимных различий по характеристикам менструальной функции и частоте встречаемости гинекологической патологии не получено.

Таблица 6. Характеристика менструальной функции обследованных женщин M(SD) (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Возраст менархе, лет	13,3 (1,84)	13,2 (1,38)	13,6 (1,89)	13,3 (1,34)	13 (1,56)	13,2 (1,48)	0,82	0,996	0,741	0,901	0,691
Продолжительность менструального цикла, дней	28,8 (2,45)	28,8 (2,65)	28,9 (1,95)	28,8 (2,5)	29 (2,67)	28,9 (2,89)	0,931	0,912	0,992	0,913	0,892
Продолжительность менструального кровотечения, дней	4,9 (1,01)	4,9 (0,99)	4,9 (1,01)	5,03 (0,97)	5,01 (1)	5,01 (1,11)	0,691	0,783	0,792	0,814	0,989
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

Таблица 7. Гинекологические заболевания в анамнезе (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%					
Эктопия шейки матки	50	17,9	18	17,4	13	19,4	12	17,4	7	17,5	22	19,6	0,69	0,68	0,97	0,71	0,77
Вагинит	28	10	10	9,7	5	7,5	8	11,6	5	12,5	12	10,7	0,84	0,81	0,47	0,85	0,57
ВЗОМТ	6	2,2	1	1	1	1,5	3	4,3	1	2,5	3	2,7	0,75	0,35	0,6	0,54	0,95
Миома матки	18	6,4	8	7,8	4	6	4	5,8	2	5	8	7,1	0,8	0,86	0,76	0,72	0,64
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05																	

В таблице 8 представлены антропометрические показатели обследованных женщин. В основной группе средний рост пациенток был достоверно меньше, чем в контрольной группе – он был соответственно 162,55(6,55) см и 166,3(5,37) см. Аналогичная тенденция наблюдалась во всех подгруппах основной группы, кроме 1.1Г. По средней массе тела принципиальных различий между группами 1.1 и 1.2 нет, однако в подгруппе 1.1Б этот показатель оказался самым низким - 59,4(12,4) кг и были получены статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой, в которой средняя масса тела пациенток была 66,2(11,9) кг ($p < 0,01$). Самая высокая масса тела наблюдалась в подгруппе 1.1А – она составила 68,4(14,95) кг, хотя значимых различий по сравнению с контрольной группой не получено ($p = 0,23$). При этом в этой подгруппе оказался значительно выше ИМТ - 25,8(5,6) кг/м², в контрольной группе средний ИМТ - 23,9 (4,3) ($p < 0,01$). Самый низкий ИМТ ожидаемо оказался в подгруппе 1.1Б, в которой самая низкая средняя масса тела пациенток, он составил 22,8(4,51) кг/м². Доля пациенток с нормальной массой тела в подгруппах 1.1 и 1.2 составила соответственно 54,1% ($n = 151$) и 62,5% ($n = 70$) ($\chi^2 = 1$, $p = 0,32$). Наименьшее количество пациенток с нормальной массой тела было в подгруппе 1.1В – всего 31 (44,9%) ($\chi^2 = 3$, $p = 0,08$). А вот количество пациенток с ожирением, напротив, в основной группе существенно опережало контрольную группу – 53 (19%) в группе 1.1 и всего 8 (7,1%) в группе 1.2 ($\chi^2 = 8,53$, $p < 0,01$, ОШ 3,05, 95% ДИ 1,4-6,64). Больше всего пациенток с ожирением наблюдалось в подгруппах 1.1А и 1.1В – по 23 (22,3%) и 18 (26,1%), различия по сравнению с контрольной группой статистически значимы ($p < 0,01$). В подгруппе 1.1Г пациенток с ожирением также было существенно больше, чем в группе 1.2 – 8 (20%) участниц ($\chi^2 = 5,17$, $p = 0,04$). В подгруппе 1.1Б таких пациенток было 4 (6%), что принципиально не отличалось от группы 1.2 ($p = 0,76$).

Таблица 8. Антропометрические показатели обследованных пациенток (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	Абс.	%					
Средний рост, см, M(SD)	162,55(6,55)		162,5(6,37)		162,1(6,28)		162,1(7,3)		164,5(5,85)		166,3(5,37)		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,1
Средняя масса тела, кг, M(SD)	66,29(14,8)		68,4(14,95)		59,4(12,4)		67,2(16,1)		66,3(11,3)		66,2(11,9)		0,48	0,23	<0,01	0,65	0,95
Средний ИМТ, кг/м ² , M(SD)	24,9(5,42)		25,8(5,6)		22,8(4,51)		25,3(5,5)		23,4(4,57)		23,9(4,3)		0,09	<0,01	0,17	0,09	0,63
Дефицит массы тела (ИМТ <18)	19	6,8	4	3,9	7	10,4	5	7,2	3	7,5	4	3,6	0,22	0,9	0,06	0,27	0,31
Нормальная масса тела (ИМТ 18-25)	151	54,1	55	53,4	42	62,7	31	44,9	23	57,5	70	62,5	0,13	0,18	0,73	0,08	0,58
Избыточная масса тела (ИМТ 25-30)	56	20,1	21	20,4	14	20,9	15	21,8	6	15	30	26,8	0,15	0,27	0,38	0,45	0,13
Ожирение (ИМТ >30)	53	19	23	22,3	4	6	18	26,1	8	20	8	7,1	<0,01	<0,01	0,76	<0,01	0,02
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05. Показатели масса тела и ИМТ оценивались при постановке на учет																	

Пациенток с дефицитом массы тела было намного меньше, чем с ожирением, всего 19 (6,8%) в группе 1.1, 4 (3,6%) в группе 1.2 ($p>0,05$). Больше всего пациенток с ИМТ меньше 18 при постановке на учет было в подгруппе 1.1Б – 7 (10,4%), но различия по сравнению с группой 1.2 статистически не значимы ($p=0,06$, $\chi^2=3,44$).

При анализе соматической патологии в исследуемой группе, мы должны отметить, что до и во время беременности все хронические заболевания у пациенток находились в стадии стойкой ремиссии, за исключением заболеваний крови и гипертонической болезни. Результаты анализа представлены в таблице 9.

По частоте встречаемости инфекционной патологии, такой как ВИЧ-инфекция и вирусные гепатиты, существенных различий между основной и контрольной группами не получено, хотя заметно, что в основной группе они выявлялись чаще. В группе 1.1 носительницами вирусного гепатита С и ВИЧ-инфекции было по 14 (5%) пациенток, в группе 1.2 только по 1 (0,9%) ($\chi^2=3,69$, $p=0,06$). Но в подгруппах 1.1Б эти заболевания встречались чаще, по сравнению с группой 1.2 – вирусные гепатиты С с частотой 8,9% ($n=6$) ($\chi^2=7,25$, $p<0,01$, ОШ=10,92, ДИ 95% 1,28-92,8), ВИЧ-инфекция – 7,5% ($n=5$) ($\chi^2=5,58$, $p=0,02$, ОШ=10,74, ДИ 95% 1,26-91,28). Доля зараженных ВИЧ-инфекцией оказалась существенно выше, чем в контрольной группе, также в подгруппе 1.1В – 7,2% ($n=5$) ($\chi^2=5,38$, $p=0,02$, ОШ=8,67, ДИ 95% 1,01-75,87).

Обращает на себя внимание широкое распространение анемии среди беременных, особенно среди пациенток, у которых развились осложнения беременности – в группе 1.1 анемия была более чем у половины пациенток – у 157 (56,2%), в группе 1.2 – у каждой третьей – у 34 (30,4%) ($\chi^2=21,48$, $p<0,01$, ОШ=2,95, ДИ 95% 1,85-4,71). Данные по контрольной группе примерно соответствуют уровню этой патологии в популяции беременных женщин в Свердловской области. Частота анемии в подгруппах 1.1А, 1.1Б, 1.1В, 1.1Г составила 54,4% ($n=56$), 56,7% ($n=38$) и 58,2% ($n=39$), 60% ($n=24$) ($p<0,01$ для всех подгрупп).

Таблица 9. Частота и структура соматической патологии (этап 1)

Вид патологии (МКБ-10)	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p
	1		2		3		4		5		6		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Класс I (B15-B19) Вирусный гепатит	14	5	4	3,9	6	8,9	2	2,9	2	5	1	0,9	p1-6=0,06 p2-6=0,15 p3-6< 0,01 p4-6=0,3 p5-6=0,11
Класс I (B20-B24) Болезнь, вызванная ВИЧ	14	5	2	1,9	5	7,5	5	7,2	2	5	1	0,9	p1-6=0,05 p2-6=0,51 p3-6= 0,02 p4-6= 0,02 p5-6=0,11
Класс III (D50-D89) Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунные механизмы (анемия)	157	56,2	56	54,4	38	56,7	39	58,2	24	60	34	30,4	p1-6< 0,01 p2-6< 0,01 p3-6< 0,01 p4-6< 0,01 p5-6< 0,01
Класс IV (E00-E07) Болезни щитовидной железы	13	4,7	5	4,9	2	3	4	5,7	2	5	11	9,8	p1-6=0,05 p2-6=0,17 p3-6=0,08 p4-6=0,34 p5-6=0,35
Класс VII (H00-H59) Болезни глаза и его придаточного аппарата (миопия I, II)	52	18,6	15	14,6	16	23,9	12	17,4	9	22,5	21	18,8	p1-6=0,86 p2-6=0,41 p3-6=0,41 p4-6=0,82 p5-6=0,61
Класс IX (I10-I15)	40	14,3	24	23,3	4	6	8	11,6	4	10	3	2,7	p1-6< 0,01

Болезни характеризующиеся повышенным кровяным давлением													p2-6< 0,01 p3-6=0,27 p4-6= 0,01 p5-6=0,06
Класс IX (I80-I89) Болезни вен	16	5,7	3	2,9	4	6	7	10,1	2	5	10	8,9	p1-6=0,25 p2-6=0,06 p3-6=0,48 p4-6=0,78 p5-6=0,43
Класс X. Болезни органов дыхания (J00-J99)	17	6,1	5	4,9	4	6	4	6	4	10	6	5,3	p1-6=0,78 p2-6=0,87 p3-6=0,86 p4-6=0,9 p5-6=0,31
Класс XI (K00-K93) Болезни органов пищеварения	35	12,5	10	9,7	7	10,4	8	11,6	10	25	16	14,3	p1-6=0,64 p2-6=0,3 p3-6=0,46 p4-6=0,6 p5-6=0,12
Класс XIV (N00-N99) Болезни мочеполовой системы	49	17,6	23	22,3	12	17,9	9	13	5	12,5	10	8,9	p1-6= 0,03 p2-6< 0,01 p3-6=0,07 p4-6=0,38 p5-6=0,52
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05													

По частоте встречаемости патологии эндокринной системы – болезни щитовидной железы, сахарный диабет, достоверных различий между пациентками исследуемых групп и подгрупп не получено.

Болезни, характеризующиеся повышенным кровяным давлением в основной группе встречались в несколько раз чаще, чем в контрольной – 40 (14,3%) по сравнению с 3 (2,7%) ($\chi^2=11,1$, $p<0,01$, ОШ=6,08, ДИ 95% 1,84-20,1). В подгруппе 1.1А доля пациенток, имеющих данную патологию, была наибольшей – 23,3% (n=24) ($\chi^2=20,78$, $p<0,01$, ОШ=11,03, ДИ 95% 3,21-37,9). Статистически значимые различия, по сравнению с группой 1.2, также были выявлены у пациенток подгруппы 1.1В, у них болезни этого класса выявлены в 8 (11,6%) случаях ($\chi^2=5,95$, $p=0,014$, ОШ=4,77, ДИ 95% 1,21-18,6).

Значимые различия выявлены также по частоте встречаемости болезней мочеполовой системы. Количество пациенток с этими заболеваниями в основной группе составило 49 (17,6%), а в контрольной – 10 (8,9%) ($\chi^2=4,65$, $p=0,031$, ОШ=2,1, ДИ 95% 1,02-4,33). Но среди отдельных подгрупп статистически значимые различия, по сравнению с группой 1.2, выявлены только у пациенток группы 1.1А, где частота встречаемости болезней мочеполовой системы была наибольшей – 22,2% (n=23) ($\chi^2=7,42$, $p<0,01$, ОШ=2,85, ДИ 95% 1,28-6,32).

По частоте встречаемости болезней глаза и его придаточного аппарата, болезней вен, болезней органов дыхания и органов пищеварения, принципиальных различий между исследуемыми группами и подгруппами не выявлено.

В основу деления массива пациенток на группы и подгруппы легло наличие таких осложнений беременности как преэклампсия, ЗВУР, преждевременные роды и антенатальная гибель плода. Однако, в ряде случаев, данные патологии «пересекаются». В подгруппе 1.1А (пациентки с преэклампсией) у 51 (49,5%) также была диагностирована ЗВУР. В подгруппе 1.1В (пациентки со спонтанными преждевременными родами) ЗВУР была у 2 (2,9%). Также встречались и другие осложнения

беременности – гестационный сахарный диабет (ГСД), истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН) и врожденные пороки развития плода (ВПП). Анализ этих патологий представлен в таблице 10.

Обращает на себя внимание высокая частота встречаемости гестационного сахарного диабета в исследуемых группах – он был выявлен у 94 (33,7%) пациенток группы 1.1 и у 37 (33%) пациенток группы 1.2 ($p=0,9$, $\chi^2=0,02$). Необходимо подчеркнуть, что диагноз ГСД был верифицирован результатами биохимических анализов сыворотки крови пациенток в соответствие с современными критериями, регламентированными клиническими рекомендациям [24]. Значимых различий по частоте встречаемости гестационного сахарного диабета между пациентками исследуемых групп не получено (вероятно, по той причине, что в наше исследование были включены только пациентки, у которых ГСД был компенсирован диетой, а гестационный сахарный диабет с потребностью в инсулине был критерием невключения в исследование).

ИЦН встречалась у каждой пятой пациентки подгруппы 1.1В – у 14 (20,3%) пациенток, различия по сравнению с группой 1.2, где ИЦН была диагностирована лишь у 3 (2,7%), были статистически значимыми ($\chi^2=15,56$, $p<0,01$, ОШ=9,25, ДИ 95% 2,55-33,54). При этом, в общем у пациенток основной группы, ИЦН была выявлена у 23 (8,2%), различия по сравнению с контрольной группой не существенны ($\chi^2=3,62$, $p=0,057$).

Таблица 10. Осложнения беременности в исследуемых группах

Вид патологии	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p
	1		2		3		4		5		6		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
ГСД	94	33,7	45	43,7	20	29,9	20	29	9	22,5	37	33	p1-6=0,9 p2-6=0,11 p3-6=0,66 p4-6=0,57 p5-6=0,21
ИЦН	23	8,2	4	3,9	2	3	14	20,3	0	-	3	2,7	p1-6=0,05 p2-6=0,62 p3-6=0,9 p4-6< 0,01 p5-6=0,35
ВПР	26	9,3	2	1,9	12	17,9	4	5,8	5	12,5	3	2,7	p1-6= 0,02 p2-6=0,72 p3-6< 0,01 p4-6=0,29 p5-6= 0,02
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05													

Сублетальные, летальные и тяжелые ВПР, установленные антенатально, были критерием невключения пациенток в исследование, но мы проанализировали наличие других врожденных аномалий, не угрожающих жизни ребенка. В группе 1.1 структурные аномалия (пороки развития) плода были выявлены в 26 (9,3%) случаев, в группе 1.2 – в 3 (2,7%) случаях ($\chi^2=5,13$, $p=0,023$, ОШ=3,73, ДИ 95% 1,1-12,6). Особенно часто пороки развития выявлялись в подгруппе 1.1Б – у 12 (17,9%) ($\chi^2=12,67$, $p<0,01$, ОШ=7,93, ДИ 95% 2,14-29,26), и в подгруппе 1.1Г – у 5 (12,5%) плодов ($\chi^2=5,7$, $p=0,016$, ОШ=5,19, ДИ 95% 1,18-22,83). В подгруппе 1.1А была наименьшая частота ВПР плода среди подгрупп основной группы, они были диагностированы у 2 (1,9%) пациенток ($\chi^2=0,13$, $p=0,72$). В подгруппе 1.1В частота ВПР была 5,8% (4 пациентки), различия по сравнению с группой 1.2 не значимы ($\chi^2=1,12$, $p=0,29$).

Оценка клинической характеристики пациенток на первом этапе исследования не может считаться завершенной без анализа исходов беременности. В связи с этим нами был предпринят анализ перинатальных исходов у пациенток исследуемых групп.

В основной группе значительное количество беременностей завершилось антенатальной гибелью плода. В подгруппе 1.1А антенатальная гибель плода произошла в 7 (6,8%) случаев, в подгруппе 1.1Б – в 12 (17,9%) случаев. Всех пациенток, у которых антенатальная гибель плода была выявлена при отсутствии ПЭ и/или ЗВУР, мы отнесли к подгруппе 1.1Г – всего 40 пациенток. Таким образом, в основной группе было 59 пациенток с дородовой гибелью плода, у 7 (11,9%) из которых была тяжелая ПЭ, у 12 (20,3%) – ЗВУР.

Случаев интранатальной гибели плода в исследуемых группах не было.

В группе 1.1 зарегистрировано 6 случаев ранней неонатальной смертности: 1 в подгруппе 1.1А, 3 – в подгруппе 1.1Б, 2 – в подгруппе 1.1В.

Таким образом, перинатальная смертность в основной группе оказалась очень высокой и составила 104,6 ‰ (без учета подгруппы 1.1Г). В подгруппе

1.1А этот показатель составил 77,7‰, в подгруппе 1.1Б – 223,9‰, в подгруппе 1.1В - 29‰. В группе 1.2 перинатальных потерь не было.

В контрольной группе (1.2) средний срок родоразрешения составил 39 недель 6 дней (± 4 дня), Me 40 недель. В основной группе срок родоразрешения в среднем составил 32 недели 6 дней (± 5 недель 2 дня).

Среди пациенток с тяжелой преэклампсией (подгруппа 1.1А) родоразрешение было проведено в сроке недоношенной беременности в 69 (67%) случаях: 14 (13,6%) – очень ранние ПР, 12 (11,7%) – ранние ПР, 21 (20,4%) – ПР, 22 (21,4%) – поздние ПР; 33% пациенток были родоразрешены в доношенном сроке. Средний срок беременности при родоразрешении в подгруппе 1.1А был 33 недели 6 дней (± 4 недели 3 дня).

В подгруппе 1.1Б (ЗВУР без ПЭ) недоношенных новорожденных было 23 (34,3%): 3 (4,5%) очень ранних ПР, 5 (7,5%) ранних ПР, 2 (3%) – ПР, 13 (19,4) поздних ПР; остальные 44 (65,6%) пациентки этой подгруппы были родоразрешены в доношенном сроке гестации. Средний срок родоразрешения в подгруппе 1.1Б составил 36 недель 1 день (± 3 недели 6 дней).

В подгруппе 1.1Г в недоношенном сроке погибли 27 (67,5%) плодов (10 в сроке очень ранних ПР, 9 – в сроке ранних ПР, 7 – в сроке ПР, 1 в сроке поздних ПР), в среднем беременность была завершена в сроке 30 недель 6 дней (± 7 недель).

Все пациентки, без ПЭ, ЗВУР и антенатальной гибели плода, у которых произошли спонтанные преждевременные роды, были отнесены к подгруппе 1.1В. Средний срок беременности при родоразрешении в этой подгруппе составил 27 недель 5 дней (± 2 недели 7 дней), Me 29 недель. По сроку гестации преждевременные роды в этой подгруппе распределились следующим образом: 8 (11,6%) очень ранних ПР, 14 (31,9%) ранних ПР, 47 (68,1%) – ПР.

Средняя масса новорожденных в группе 1.2 составила 3536,3 (417,4) г. Средняя длина – 52,04 (2,12) см. Оценка по Апгар на 1 минуте в среднем

равнялась 7,26(0,85), на 5 минуте – 8,26(0,6) баллов. Средняя масса новорожденных в основной группе была равна 1821,6 (868) г. Средняя – длина – 42,9(7,4) см. В подгруппе 1.1А эти показатели соответственно 1962,11(333)г и 42,98(7,09) см; в подгруппе 1.1Б – 1992,83(582) г и 43,37(4,8)см; в подгруппе 1.1В – 1385,32(524,26) г и 38,59(4,84) см; в подгруппе 1.1Г - 1827,03(1246,98) г и 40,86(11,65) см. Во всех подгруппах масса тела статистически ниже, чем в группе 1.2 ($p < 0,001$) (таблица 11).

Большинство пациенток группы 1.2 – 86 (76,8%), - были родоразрешены через естественные родовые пути, 26 (23,2%) пациенткам была проведена операция кесарева сечения.

Оперативное родоразрешение в основной группе было проведено у 167 (59,9%) пациенток. Это существенно выше, чем в контрольной группе ($\chi^2=42,93$, $p < 0,01$, ОШ=4,93, ДИ 95% 2,99-8,13). Наибольшее количество КС было в подгруппе 1.1А – у 97 (94,2%) пациенток. В подгруппах 1.1Б, 1.1В и 1.1Г оперативное родоразрешение было соответственно у 26 (38,8%), 35 (50,7%) и 9 (22,5%) пациенток.

Структура показаний к оперативному родоразрешению представлена в таблице 12.

Очевидно, что в структуре показаний к оперативному родоразрешению между исследуемыми группами были статистически достоверными различия по тем показаниям, которые легли в основу деления пациенток на группы, прежде всего «тяжелая преэклампсия» (с отсутствиями условий для самостоятельного родоразрешения) и «ЗВУР с гемодинамическими нарушениями». Помимо этого хочется отметить еще несколько интересных моментов. В группе 1.1 значительно чаще, чем в группе 1.2, показанием для оперативного родоразрешения послужила «Острая гипоксия плода в родах» - соответственно у 24 (8,6%) и 2 (18%) пациенток ($\chi^2=7,36$, $p < 0,01$, ОШ=5,17, ДИ 95% 1,2-22,28).

Таблица 11. Весо-ростовые параметры новорожденных (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Масса тела, гр, M(SD)	1821,6 (868)	1962,11(333)	1992,83(58 2)	1385,32(52 4,26)	1827,03(12 46,98)	3536,3 (417,4)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Длина, см, M(SD)	42,9(7,4)	42,98(7,09)	43,37(4,8)	38,59(4,84)	40,86(11,65)	52,04 (2,12)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05. Показатели масса тела и ИМТ оценивались при постановке на учет

Таблица 12. Показания к операции кесарева сечения в исследуемых группах

Показание	Группа 1.1 (n=279)		Подгруппа 1.1А (n=103)		Подгруппа 1.1Б (n=67)		Подгруппа 1.1В (n=69)		Подгруппа 1.1Г (n=40)		Группа 1.2 (n=112)		p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1		2		3		4		5		6						
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%					
Предлежание плаценты	9	3,2	2	1,9	1	1,5	5	7,2	2	5	1	0,9	0,18	0,51	0,71	0,02	0,11
ПОНРП в родах с кровотечением	11	3,9	5	4,9	-	-	5	7,2	2	5	1	0,9	0,11	0,08	0,44	0,02	0,11
Предыдущие операции на матке (КС, миомэктомия)	28	10	9	8,7	6	9	9	13	4	10	12	10,7	0,04	0,63	0,71	0,23	0,9
Неправильное положение плода	7	2,5	2	1,9	2	3	5	7,2	-	-	1	0,9	0,31	0,51	0,29	0,02	0,55

ФУТ	3	1,1	3	2,9	-	-	-	-	-	-	2	1,8	0,57	0,58	0,27	0,26	0,39	
Рубцовая деформация шейки матки	3	1,1	2	1,9	-	-	1	1,4	-	-	-	-	0,27	0,14	1	1	1	
HELLP-синдром	5	1,8	5	4,9	-	-	-	-	-	-	-	-	0,15	0,02	1	1	1	
Отсутствие условий для родоразрешение per vias naturalis при тяжелой ПЭ (незрелая шейка матки)	47	16,8	47	45,6	-	-	-	-	-	-	-	-	<0,01	<0,01	1	1	1	
Миопия высокой степени	7	2,5	3	2,9	2	3	1	1,4	1	2,5	3	2,7	0,92	0,58	0,9	0,58	0,95	
Острая гипоксия плода в родах	24	8,6	9	8,7	6	9	9	13	-	-	2	1,8	0,01	0,02	0,02	<0,01	-	
ЗВУР с гемодинамическими нарушениями	41	14,7	30	29,1	11	16,4	-	-	-	-	-	-	<0,01	<0,01	<0,01	1	-	
Выпадение пуповины	1	0,3	-	-	0	-	1	1,4	-	-	-	-	0,27	1	0,19	1	1	
Слабость родовой деятельности, отсутствие эффекта от родостимуляции	3	1,1	1	1	-	-	2	2,9	-	-	4	3,6	0,09	0,29	0,12	0,81	0,23	
ПРПП, незрелая шейка матки	4	1,4	-	-	4	6	-	-	-	-	4	3,6	0,18	0,05	0,45	0,11	1	
Всего операций КС	167	59,9	97	94,2	26	38,8	35	50,7	9	22,5	26	23,2	<0,01	<0,01	0,03	<0,01	0,93	
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05																		

В подгруппе 1.1А помимо собственно тяжелой преэклампсии (которая была у всех пациенток данной подгруппы) частым показанием для КС были ЗВУР плода с гемодинамическими нарушениями фетоплацентарного комплекса – у 30 (29,1%) пациенток и HELLP-синдром – у 5 (4,9%) пациенток. Острая гипоксия плода в родах в этой подгруппе также встречалась существенно чаще, чем в группе 1.2 – у 9 (8,7%) пациенток ($\chi^2=5,34$, $p=0,02$). В подгруппе 1.1Б также были статистически значимые различия по частоте острой гипоксии плода в родах, по сравнению с группой 1.2 – это послужило показанием для КС у 6 (9%) пациенток данной подгруппы ($\chi^2=5,05$, $p=0,02$).

Несколько значимых расхождений выявлено между контрольной группой и подгруппой 1.1В. В подгруппе 1.1В было по 5 (7,2%) пациенток с предлежанием плаценты, ПОНРП в родах и с неправильным положением плода, в группе 1.2 было всего по 1 (0,9%) пациентке с такими показаниями для КС – различия статистически достоверны ($\chi^2=5,38$, $p=0,02$). В подгруппе 1.1Г значимых различий по структуре показаний к оперативному родоразрешению по сравнению с группой 1.2 не выявлено.

Среди живорожденных детей основной группы ($n=220$) мы проанализировали среднюю оценку по шкале Апгар при рождении, она составила на 1 минуте 5,19 (1,6), на 5 минуте – 6,23 (1,41) баллов. В подгруппе 1.1А ($n=96$) это показатель был равен 5,4(1,58) и 6,35(1,44) балла; в подгруппе 1.1Б ($n=56$) – 6(1,24) и 7,01(0,91); в подгруппе 1.1В ($n=69$) – 4,23(1,45) и 5,46(1,31). Различия между основной и контрольной группой, а также во всех подгруппах по сравнению с основной группой, были высокодостоверны ($p<0,01$) (даже без учета нулевой оценки при антенатальной гибели плода в основной группе). Данные различия не удивительны, поскольку при наличии тяжелой преэклампсии, выраженной фето-плацентарной недостаточности и при преждевременных родах дети рождаются в худшем состоянии и имеют более низкую оценку по шкале Апгар. Представляет интерес тот факт, что при оценке различий между

подгруппами основной группы также наблюдались существенные расхождения: в подгруппе 1.1Б оценка по Апгар среди живорожденных была значимо выше, чем в подгруппах 1.1А и 1.1В ($p < 0,01$), а в подгруппе 1.1В существенно ниже, чем в подгруппах 1.1А и 1.1Б ($p < 0,01$). Если взять в расчет также новорожденных с антенатальной гибелью в подгруппах 1.1А и 1.1Б, то средняя оценка по Апгар в них составит 5,04(2,05)/5,9(2,13) и 5(2,52)/5,85(2,76). В этом случае статистически значимых различий между подгруппами 1.1А и 1.1Б нет, но статистически значимые различий по сравнению с подгруппой 1.1В сохраняются ($p < 0,001$).

Ряд публикаций свидетельствует о том, что пол плода может влиять на уровень риска осложнений беременности [248, 328, 337, 338]. Например, есть данные что риск преэклампсии выше в случае если плод женского пола [337, 338]. Поэтому мы сочли нужным провести анализ гендерных различий детей в исследуемых группах. В основной группе было 148 (53%) девочек и 131 (47%) мальчиков, а в контрольной группе родилось 54 (48,2%) девочки и 58 (51,8%) мальчиков (рисунок 3).

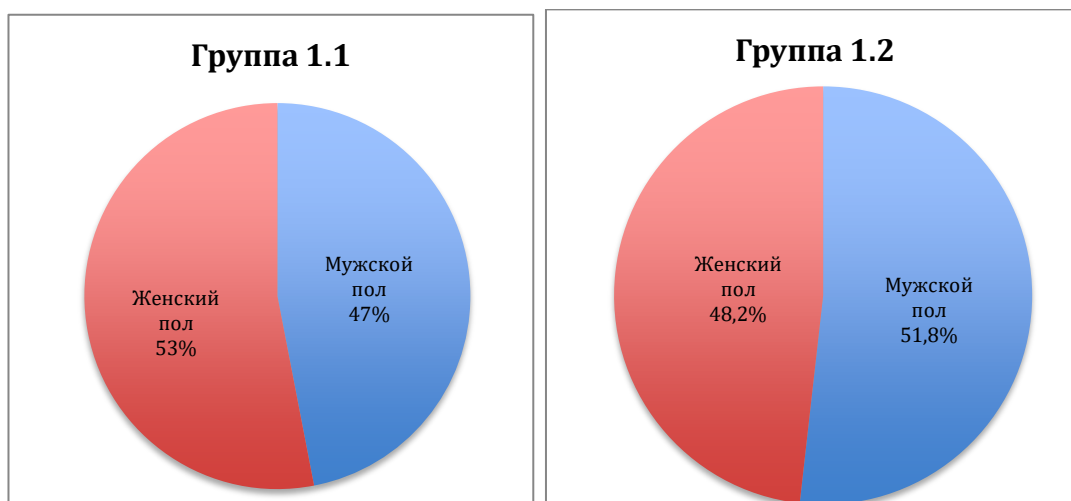


Рисунок 3. Соотношение плодов женского и мужского пола в исследуемых группах

В подгруппе 1.1А было 58 (56,3%) девочек и 45 (43,7%) мальчиков, в подгруппе 1.1Б – 41 (61,2%) девочек и 28 (39,8%) мальчиков, в подгруппе

1.1В – 35 (50,7%) девочек и 34 (49,3%) мальчиков, в подгруппе 1.1Г – 14 (35%) плодов женского пола и 26 (65%) плодов мужского пола (рисунок 4). Статистически значимых различий между группами и подгруппами не получено. Однако обращает на себя внимание тот факт, что в основной группе и во всех подгруппах, кроме 1.1Г, девочек было больше, чем мальчиков, а в контрольной группе – наоборот.

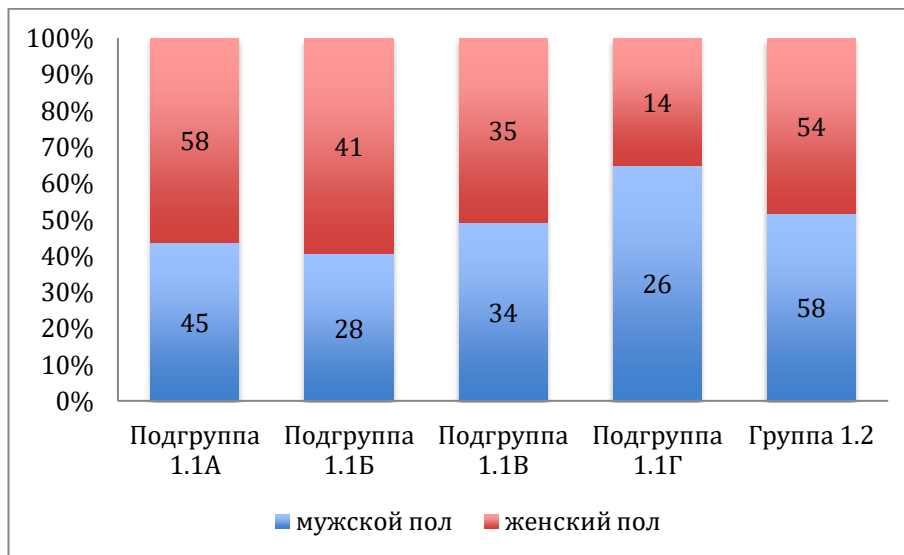


Рисунок 4. Количество плодов разного пола в исследуемых подгруппах

На 2 этапе работы мы провели популяционное исследование, в которое было включено 27845 пациенток, прошедших неинвазивный пренатальный скрининг (НИПС) в РФ в 2013-2018 гг. (группа 2).

Все пациентки проживали на территории РФ. Средний возраст пациенток, направленных на НИПС, составил 34,2(3,63) года (M(SD)).

Средний срок беременности, в котором женщины проходили НИПС, составил 14 недель 6 дней. Только у 6849 (24,6%) пациенток НИПТ выполнялся в сроке беременности менее 11 недель. Чаще всего в России пациентки изъявляют желание участвовать в проведении НИПС после проведения стандартного комбинированного пренатального скрининга 1 триместра, при получении неудовлетворительного или сомнительного результата и нежелании по каким-либо причинам проходить инвазивную пренатальную диагностику – большинство пациенток сдали НИПС именно в

декретированные сроки скрининга 1 триместра – 11-14 недель (11506 пациенток, 41,32%).

Наиболее подробно были изучены клинические характеристики у пациенток, проживающих и состоявших на учете в женских консультациях Свердловской области, прошедших процедуру НИПС в 2015-2018 гг., с известными исходами беременностей – всего 288 пациенток (группа 3). Средний возраст пациенток этой группы составил 33,57(5,6) лет. Различия по сравнению с общероссийской популяцией не существенны ($p>0,05$). Средний срок беременности при проведении НИПС в этой группе составил 13 недель 4 дня (Me 13 недель), что несколько меньше, чем по России в целом, хотя различия статистически не значимы ($p>0,05$). У 34 пациенток по результатам НИПС был выявлен высокий риск, и впоследствии были диагностированы различные хромосомные аномалии у плода (трисомия 21, трисомия 13, трисомия 18 или моносомии X), эти пациентки вошли в группу 3.1 (n=34). Пациентки, у которых был определен низкий риск и кариотип ребенка был в норме составили группу 3.2.

Нас интересовала предсказательная составляющая результатов НИПС в отношении «больших акушерских синдромов». С целью проверки данной гипотезы нами был проведен ретроспективный анализ течения беременности и ее исходов. В зависимости от исхода беременности группа 3.2 была подразделена еще на 2 подгруппы. В подгруппу 3.2А (n=203) вошли пациентки, у которых беременность протекала без осложнений и закончилась рождением живого доношенного ребенка. Подгруппа 3.2Б (n=51) включала пациенток, у которых было диагностировано хотя бы одно из состояний из группы «больших акушерских синдромов» - преждевременные роды, либо ЗВУР, либо ПЭ, либо антенатальная гибель плода.

Анализ среднего возраста и возрастных категорий пациенток исследуемых групп представлен в таблице 13.

Таблица 13. Возрастные категории пациенток (3 этап)

Возраст, лет	Группа 3.1 (n=34)		Группа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	1		2		3		4					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Средний возраст, лет M(SD)	34,54(4,92)		33,86(5,7)		33,84(5,6)		33,92(5,9)		0,52	0,59	0,62	0,93
18-25	1	2,9	15	5,9	12	5,9	3	5,9	0,48	0,48	0,53	0,99
25-30	5	14,7	51	20,1	38	18,7	13	25,5	0,45	0,31	0,32	0,23
30-35	13	38,2	87	34,3	75	36,9	12	23,5	0,64	0,88	0,14	0,07
35-40	10	29,4	66	26	50	24,6	16	31,4	0,67	0,35	0,84	0,32
>40	5	14,7	35	13,7	28	13,8	7	13,7	0,88	0,88	0,89	0,99
Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при p<0,05												

Средний возраст пациенток, у которых имелись ХА у плода был несколько выше, но различия статистически не значимы. Возраст пациенток 3.2А и 3.2Б был практически одинаков.

Далее мы проанализировали репродуктивную функцию и паритет у пациенток исследуемых групп. В подгруппе 3.1 было 5 (14,7%) первобеременных и 29 (85,3%) повторнобеременных женщин. В подгруппе 3.2 их было соответственно 51 (20,1%) и 203 (79,9%): 40 (19,7%) и 163 (80,3%) в подгруппе 3.2А, 11 (21,6%) и 40 (78,4%) в подгруппе 3.2Б. Акушерский анамнез пациенток подробно изложен в таблице 14. Пациентки, беременные плодом с аномальным кариотипом, имели в анамнезе достоверно большее количество беременностей, по сравнению с теми, у кого плод был с нормальным кариотипом. А у пациенток подгруппы 3.2Б отмечено существенно большее количество случаев невынашивания беременности в анамнезе, по сравнению с подгруппой 3.2А.

Таблица 14. Акушерский анамнез пациенток 3 этапа

Характеристика	Группа 3.1 (n=34)		Группа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	1		2		3		4					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Первобеременные	5	14,7	51	20,1	40	19,7	11	21,6	0,61	0,65	0,54	0,74
Повторнобеременные	29	85,3	203	79,9	163	80,3	40	78,4	0,61	0,65	0,54	0,74
рожавшие	24	70,6	167	65,7	136	67	31	60,8	0,85	0,96	0,52	0,38
Искусственные аборт в анамнезе	14	41,2	92	36,2	76	37,4	16	31,3	0,58	0,67	0,38	0,44
Невынашивание беременности в анамнезе	8	23,5	57	22,4	37	18,2	20	39,2	0,65	0,3	0,21	<0,01
Среднее количество беременностей, M(SD)	3,54(2,27)		2,83(1,69)		2,76(1,53)		2,94(2,12)		0,04	0,02	0,22	0,53
Среднее количество родов, M(SD)	1,06(0,98)		0,89(0,81)		0,89(0,78)		0,84(0,88)		0,27	0,28	0,29	0,67
Среднее количество абортов, M(SD)	0,87(1,26)		0,59(1,06)		0,59(1,05)		0,5(1,02)		0,26	0,26	0,2	0,58
Среднее количество случаев невынашивания беременности, M(SD)	0,23(0,42)		0,24(0,54)		0,2(0,5)		0,52(0,73)		0,73	0,98	0,03	<0,01
Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при p<0,05												

Затем мы проанализировали параметры менструальной функции и наличие гинекологических заболеваний в анамнезе. Возраст менархе в основной группе составил 13,4(1,36) лет, в контрольной группе он был 13,2(2,21) лет, ($p>0,05$). Длительность цикла в исследуемых группах оказалась соответственно 28,6(1,98) и 28,9(2,51) дней, продолжительность менструального кровотечения – 4,28(1,1) и 4,45(1,3) дней ($p>0,05$). Структура гинекологической патологии представлена в таблице 15.

По частоте встречаемости эктопии шейки матки, вагинита, ВЗОМТ и миомы матки в анамнезе существенных различий между пациентками исследуемых групп не обнаружено. Значимые различия выявлены по частоте

встречаемости бесплодия в анамнезе: эта патология существенно чаще встречалась в группе 3.1 (у пациенток, с подтвержденными хромосомными аномалиями у плода), чем у пациенток группы 3.2 – соответственно у 5 (14,7%) и у 12 (4,7%) ($\chi^2=5,37$, $p=0,02$, ОШ=3,48, ДИ 95% 1,14-10,57). Значимые различия были выявлены также между группой 3.1 и подгруппой 3.2А, в которой бесплодие в анамнезе было у 9 (4,4%) ($\chi^2=5,53$, $p=0,02$, ОШ=3,71, ДИ 95% 1,16-11,86). При этом между группой 3.1 и подгруппой 3.2Б, а также между подгруппами 3.2А и 3.2Б различия были не значимы ($p>0,05$).

Таблица 15. Гинекологические заболевания в анамнезе (этап 3)

Характеристика	Группа 3.1 (n=34)		Группа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	1		2		3		4					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Эктопия шейки матки	8	23,5	61	24	49	24,1	12	23,5	0,95	0,94	0,99	0,92
Вагинит	6	17,6	30	11,8	22	10,8	8	15,7	0,33	0,25	0,81	0,2
ВЗОМТ	2	5,9	13	5,1	10	4,9	3	5,9	0,85	0,81	1	0,78
Миома матки	3	8,8	23	9,1	19	9,3	4	7,8	0,96	0,92	0,87	0,74
Бесплодие в анамнезе	5	14,7	12	4,7	9	4,4	3	5,9	0,02	0,02	0,17	0,19

Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при $p<0,05$

На 3 этапе беременность, наступившая в результате ЭКО, не была критерием исключения (кроме тех случаев, когда использовалась донорская яйцеклетка или суррогатное материнство). В группе 3.1 у 4 (11,8%) женщин беременность наступила с применением ЭКО, в группе 3.2 – у 8 (3,1%), различия статистически достоверны ($\chi^2=5,54$, $p=0,02$, ОШ=4,1 ДИ 95% 1,16-14,43). В подгруппе 3.2А вспомогательные репродуктивные технологии (ЭКО) были применены у 6 (3%) пациенток, что намного меньше, чем в группе 3.1 ($\chi^2=5,59$, $p=0,02$, ОШ=4,38, ДИ 95% 1,17-16,42). В подгруппе 3.2Б

ЭКО было проведено у 2 (3,9%), различия с группой 3.1 не существенны (возможно из-за небольшого объема данной подгруппы) ($\chi^2=1,91$, $p=0,17$). Различия между подгруппами группы 3.2 также не значимы ($p>0,05$).

Социальный статус и семейное положение обследованных женщин описано в таблице 16.

Таблица 16. Социальный статус и семейное положение обследованных женщин (этап 3)

Характеристика	Группа 3.1 (n=34)		Группа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Служащий	16	47,1	140	55,1	111	54,7	29	56,9	0,38	0,39	0,38	0,78
Рабочий	11	32,4	57	22,4	41	20,2	16	31,3	0,2	0,11	0,92	0,09
Домохозяйка	7	20,6	57	22,4	51	25,1	6	11,8	0,81	0,57	0,27	0,04
Брак не зарегистрирован	4	11,8	38	15	33	16,3	5	9,8	0,62	0,5	0,72	0,25
Брак зарегистрирован	29	88,2	216	85	170	83,7	46	90,2	0,62	0,5	0,72	0,25

Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при $p<0,05$

На 3 этапе исследования отмечен достаточно высокий социальный статус пациенток: большинство были работающими – 224 человека (77,8%), 64 (22,2%) указали статус “домохозяйка”, 259 (89,9%) пациенток имели высшее образование, учащихся в этой группе не было. Статистически значимых различий между подгруппами не было, за исключением той особенности, что в группе 3.2А было существенно больше домохозяек, чем в группе 3.2Б – соответственно по 51 (25,1%) и 6 (11,8%) ($\chi^2=4,18$, $p=0,04$, ОШ=2,52, ДИ 1,01-6,23).

При оценке биохимических параметров пренатальной диагностики (уровень РАРР-А, бета-ХГЧ, фетальной фракции) необходимо иметь ввиду массу тела пациентки, поскольку она может критически повлиять на уровень данных показателей. Антропометрические показатели и весовые категории

пациенток исследуемых подгрупп представлены в таблице 17. Различия между средними значениями роста, веса и ИМТ между подгруппами ничтожно малы. Однако следует обратить внимание на то, что доля пациенток как с дефицитом массы тела, так и с избыточной массой тела и ожирением в группе 3.1 оказалась наиболее высокой.

Таблица 17. Антропометрические показатели и весовые категории пациенток группы 2

Характеристика	Подгруппа 3.1 (n=34)		Подгруппа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	1		2		3		4					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Средний рост, см M(SD)	165,38 (5,84)		165,28 (6,57)		165,24 (6,76)		165,42 (5,86)		0,93	0,91	0,91	0,93
Средняя масса тела, кг M(SD)	65,85(13,6)		63,94(12,57)		64,14(12,7)		63,15(12,02)		0,41	0,47	0,35	0,61
Средний ИМТ, кг/м ² M(SD)	24,08(4,91)		23,39(4,53)		23,52(4,65)		23,05(4,3)		0,41	0,52	0,32	0,53
дефицит массы тела (ИМТ <18)	2	5,9	9	3,5	6	2,9	3	5,8	0,5	0,38	1	0,31
Нормальная масса тела (ИМТ 18-25)	20	58,9	181	71,3	144	70,9	37	72,5	0,13	0,15	0,18	0,82
Избыточная масса тела (ИМТ 25-30)	8	23,5	40	15,7	34	16,7	6	11,8	0,25	0,33	0,15	0,38
Ожирение (ИМТ >30)	4	11,7	24	9,4	19	9,4	5	9,8	0,66	0,66	0,77	0,92
Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при p<0,05												

Следующей нашей задачей была оценка вредных привычек у обследованных беременных. Пациенток, страдающих алкоголизмом и наркоманией, в исследуемых группах не было, но были никотинозависимые.

В группе 3.1 было 2 (5,9%) курящие пациентки. В группе 3.2 их было 13 (5,1%) - 11 (5%) в подгруппе 3.2А и 2 (3,9%) в подгруппе 3.2Б. Различия между исследуемыми группами и подгруппами были несущественными ($p>0,05$).

В таблице 18 представлена структура соматической патологии среди пациенток 2 этапа исследования. Статистически значимые различия получены только между подгруппами группы 3.2 – 3.2А и 3.2Б (пациентки с нормальным хромосомным набором у плода с физиологически протекающей беременностью и имеющие акушерские осложнения).

У пациенток подгруппы 3.2Б чаще выявлялась анемия – в этой подгруппе она была диагностирована у 31 (60,8%) пациенток, а в подгруппе 3.2А у 88 (43,3%) ($\chi^2=4,98$, $p=0,03$, ОШ=2,03, ДИ 95% 1,08-3,79). Также у пациенток подгруппы 3.2Б чаще диагностировались заболевания мочевыводящих путей – у 15 (29,4%) по сравнению с 25 (12,3%) в подгруппе 3.2А ($\chi^2=8,98$, $p=0,003$, ОШ=2,97, ДИ 95% 1,42-6,18).

Аналогичные закономерности были выявлены на 1 этапе исследования – у пациенток с осложнениями беременности из группы «больших акушерских синдромов» анемия и болезни мочеполовой системы выявлялись значительно чаще. На 1 этапе также были выявлены значимые различия по частоте встречаемости болезней, характеризующихся повышенным кровяным давлением. На 2 этапе статистически значимых различий по данному параметру не выявлено, при этом частота встречаемости артериальной гипертензии в подгруппе 3.2Б была самой высокой – у 10 (19,6%) по сравнению с 24 (11,8%) в подгруппе 3.2А.

Таблица 18. Частота и структура соматической патологии (этап 3)

Характеристика	Группа 3.1 (n=34)		Группа 3.2 (n=254)		Подгруппа 3.2А (n=203)		Подгруппа 3.2Б (n=51)		p1-2	p1-3	p1-4	p3-4
	1		2		3		4					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Класс I (B15-B19) Вирусный гепатит	0	-	2	0,8	2	1	0	-	0,6	0,56	-	0,48
Класс I (B20-B24) Болезнь, вызванная ВИЧ	0	-	0	-	0	-	0	-	-	-	-	-
Класс III (D50-D89) Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунные механизмы (анемия)	15	44,1	119	46,9	88	43,3	31	60,8	0,76	0,93	0,13	0,03
Класс IV (E00-E07) Болезни щитовидной железы	4	11,8	28	11	23	11,3	5	9,8	0,9	0,94	0,77	0,5
Класс VII (H00-H59) Болезни глаза и его придаточного аппарата (миопия I, II)	3	8,8	24	9,4	19	8,3	5	9,8	0,91	0,92	0,88	0,92
Класс IX (I10-I15) Болезни характеризующиеся повышенным кровяным давлением	2	5,9	34	13,4	24	11,8	10	19,6	0,21	0,31	0,08	0,14
Класс IX (I80-I89) Болезни вен	3	8,8	18	7,1	13	6,4	5	9,8	0,71	0,89	0,88	0,4
Класс X. Болезни органов дыхания (J00-J99)	2	5,9	9	3,5	7	3,4	2	1	0,5	0,49	0,68	0,87
Класс XI (K00-K93) Болезни органов пищеварения	4	11,8	19	7,5	14	6,9	5	9,8	0,39	0,32	0,77	0,48
Класс XIV (N00-N99) Болезни мочеполовой системы	4	11,8	40	15,7	25	12,3	15	29,4	0,54	0,93	0,06	<0,01
Примечание: n – число женщин; p1-2 – уровень значимости различий между подгруппами 3.1 и 3.2, p1-3 – между 3.1 и 3.2А, p1-4 – между 3.1 и 3.2Б, p3-4 – между 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при p<0,05												

Мы также, как и на 1 этапе исследования, проанализировали гендерные различия между плодами в исследуемых группах.

В группе 3.1 у 18 (52,9%) плодов с помощью кариотипирования был определен женский пол, у 16 (47,1%) – мужской. В подгруппе 3.2А родилось 94 (46,3%) девочек и 109 (53,7%) мальчиков, в подгруппе 3.2Б – 26 (51%) девочек и 24 (49%) мальчиков. Всего в группе 3.2 было 120 (47,2%) девочек и 133 (52,8%) мальчиков. Различия между исследуемыми группами не являются статистически достоверными, однако интересно, что на первом этапе в группе с неосложненной гестацией также родилось больше мальчиков, а в группе пациенток с «большими акушерскими синдромами» было больше девочек.

4 этап выполнения работы заключался в изучении роли различных хромосомных aberrаций в генезе спорадического и привычного невынашивания беременности. Мощность выборки на данном этапе составила 1253 пациентки – 1000 пациенток был проведен ХМА (группа 4_{ХМА}), 253 пациенткам – стандартное цитогенетическое исследование abortивного материала (группа 4_Ц). Группа 4_{ХМА} была разделена на 2 дополнительные подгруппы: подгруппа 4.1 – пациентки, у которых потеря беременности произошла впервые (n=681), подгруппа 4.2 – пациентки, уже имеющие невынашивание беременности в анамнезе (n=319). Подгруппа 4.2 была поделена на 2 подгруппы: 4.2А – пациентки, имеющие в анамнезе 1 случай невынашивания беременности (n=286) и 4.2Б – пациентки, имеющие в анамнезе 2 и более случаев невынашивания беременности (n=34).

Чем старше пациентка, тем больше у нее риск наличия ХА у эмбриона / плода [196, 232, 233, 241, 300]. Поэтому исследуемые группы должны быть сопоставимы по возрасту. Данные о возрасте пациенток 4 этапа указаны в таблице 19. Значительных различий между исследуемыми группами и подгруппами не было.

Таблица 19. Возрастные категории пациенток (4 этап)

Возраст, лет	Группа 4 _{ХМА} (n=1000)		Группа 4.1 (n=680)		Подгруппа 4.2А (n=286)		Подгруппа 4.2.Б (n=34)		Группа 4 _Ц (n=253)		p1-5	p2-3	p2-4	p3-4
	1		2		3		4		5					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Средний возраст, M(SD)	33,1(5,4)		33,17 (5,53)		34,24 (5,25)		33,06 (4,62)		33,5 (5,6)					
18-25	56	5,6	44	6,5	11	3,8	1	2,9	13	5,1	0,77	0,11	0,88	0,79
25-30	209	20,9	149	21,9	53	18,5	7	20,6	50	19,8	0,69	0,23	0,85	0,77
30-35	295	29,5	201	29,6	81	28,3	13	38,2	84	33,2	0,06	0,69	0,29	0,23
35-40	296	29,6	193	28,4	92	32,2	11	34,4	80	31,6	0,53	0,24	0,62	0,98
>40	144	14,4	93	13,7	49	17,1	2	5,9	26	10,3	0,07	0,15	0,19	0,09

Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между группами 4_{ХМА} и 4_Ц, p2-3 – между подгруппами 4.1 и 4.2А, p2-4 – между подгруппами 4.1 и 4.2Б, p3-4 – между подгруппами 4.2А и 4.2Б, статистически значимые различия при p<0,05

Средний срок завершения беременности (по данным УЗИ) в 4.1 группе составил 7 недель 5 дней (± 1 неделя 5 дней), в группе 4.2 – 7 недель 3 дня (± 1 неделя 2 дня). Различия между группами не существенны ($p > 0,05$).

В группе 4_{ХМА} 330 (33%) пациенток имели роды в анамнезе – 221 (32,5%) в подгруппе 4.1, 109 (38,1%) в подгруппе 4.2А и 10 (23,5%) в подгруппе 4.2Б. Различия между исследуемыми группами не существенны ($p > 0,05$). В группе 4_Ц была 91 (36%) рожавшая пациентка, различия по сравнению с группой 4_{ХМА} не значимы. 152 (15,2%) пациенток из группы 4_{ХМА} имели аборт в анамнезе – 109 (16%) пациенток подгруппы 4.1, 50 (17,5%) пациенток из подгруппы 4.2А и 3 (8,8%) из подгруппы 4.2Б. В группе 4_Ц аборт в анамнезе были у 30 (11,9%) пациенток. Различия между группами 4_{ХМА} и 4_Ц, а также между подгруппами группы 4_{ХМА}, статистически не значимы ($p > 0,05$).

При анализе менструальной функции значимых различий между исследуемыми группами и подгруппами также не выявлено. Возраст менархе в группе 4_{ХМА} составил 13,1 (1,15) лет (в подгруппах 4.1, 4.2А и 4.2Б соответственно 13,1(1,08), 13,03(1,27), 13,23(0,92) лет), в группе 4_Ц - 13 (1,17) лет ($p > 0,05$). Длительность менструального цикла в группе 4_{ХМА} составила

28,5(4,85) дней (в подгруппах 4.1, 4.2А и 4.2Б соответственно 28,33(3,4), 29,2(5,39) и 28,2(4,1) дней), в группе 4ц – 29,1(4,32) дней. Продолжительность менструации в группе 4_{ХМА} в среднем была 4,71(1,3) дня (в подгруппах 4.1, 4.2А и 4.2Б соответственно 4,69(1,41), 4,82(1,17) и 4,21(1,3) дня), в группе 4ц – 4,51(0,99) дней.

Структура гинекологической патологии представлена в таблице 20.

Таблица 20. Гинекологические заболевания в анамнезе (этап 4)

Характеристика	Группа 4 _{ХМА} (n=1000)		Группа 4.1 (n=680)		Подгруппа 4.2А (n=286)		Подгруппа 4.2.Б (n=34)		Группа 4ц (n=253)		p
	1		2		3		4		5		
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	
Эктопия шейки матки	190	19	142	20,9	51	17,8	7	20,6	40	15,8	p1-5=0,25 p2-3=0,28 p2-4=0,97 p3-4=0,69
Вагинит	172	17,2	108	15,9	53	18,5	11	32,4	35	13,8	p1-5=0,2 p2-3=0,01 p2-4=0,01 p3-4=0,06
ВЗОМТ	8	0,8	6	0,9	1	0,3	1	2,9	4	1,6	p1-5=0,25 p2-3=0,37 p2-4=0,24 p3-4=0,07
Миома матки	91	9,1	59	8,7	29	10,1	3	8,8	29	11,4	p1-5=0,25 p2-3=0,47 p2-4=0,98 p3-4=0,81
Бесплодие в анамнезе	102	10,2	66	9,7	33	11,5	3	8,8	35	13,8	p1-5=0,1 p2-3=0,84 p2-4=0,87 p3-4=0,64
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между группами 4 _{ХМА} и 4ц, p2-3 – между подгруппами 4.1 и 4.2А, p2-4 – между подгруппами 4.1 и 4.2Б, p3-4 – между подгруппами 4.2А и 4.2Б, статистически значимые различия при p<0,05											

Статистически достоверных различий между группами 4_{ХМА} и 4ц нет. Между подгруппами группы 4_{ХМА} значимые различия выявлены только по частоте встречаемости вагинитов между подгруппами 4.1, 4.2А и 4.2Б – они

были в анамнезе соответственно у 108 (15,9%), 53 (18,5%) и 11 (32,4%) ($p=0,01$, $\chi^2=6,32$). То, что частота встречаемости вагинитов увеличивается по мере увеличения количества невынашиваний беременности объяснимо: нарушение вагинальной микрофлоры может быть как дополнительным фактором риска невынашивания беременности, так и следствием повторных внутриматочных вмешательств, проводимых с целью удаления продуктов зачатия.

На четвертом этапе исследования беременность, наступившая в результате ВРТ, не была критерием невключения. В 4_{ХМА} группе беременность, наступившая в результате ЭКО, была в 88 (8,8%) случаях: 59 (8,7%) случаев в группе 4.1, 26 (9,1%) в подгруппе 4.1А и 3 (8,8%) случая в подгруппе 4.1Б. В группе 4ц ЭКО было проведено у 27 (10,7% пациенток). Различия между группами и подгруппами статистически не значимы ($p>0,05$)

При анализе социального статуса выявлено, что в группе 4_{ХМА} 682 (68,2%) пациентки были работающими, 298 (29,8%) – домохозяйками, 20 (2%) – учащимися. В группе 4ц была примерно аналогичная картина – 179 (70,84) пациенток работали, 72 (28,5%) были домохозяйками, 2 (0,8%) учились. Различия между группами не существенны. Между подгруппами основной группы статистически значимых различий также не было.

В результате анализа распространенности вредных привычек среди пациенток исследуемых групп было установлено следующее. В группе 4_{ХМА} никотинозависимыми были 139 (13,9%) пациенток, в группе 4ц – 36 (14,2%), различия не значимы. В подгруппах 4.1, 4.2А и 4.2Б курящих пациенток было соответственно 89 (13,1%), 38 (13,3%) и 2 (5,9%), группы по данному параметру сопоставимы ($p>0,05$). В злоупотреблении алкоголем в группе 4_{ХМА} признались 29 (2,9%) пациенток (соответственно 20 (2,9%), 8 (2,8%) и 1 (2,9%) в подгруппах 4.1, 4.2А и 4.2Б), в группе 4ц – 6 (2,4%) пациенток, различия практически отсутствуют ($p>0,05$). Пациенток, употребляющих психоактивные вещества, в исследуемых группах выявлено не было.

В таблице 21 представлены антропометрические характеристики

пациенток исследуемых групп и подгрупп. Значимых различий между исследуемыми группами и подгруппами не выявлено.

Таблица 21. Антропометрические характеристики (этап 4)

Характеристика	Группа 4 _{ХМА} (n=1000)	Группа 4.1 (n=680)	Подгруппа 4.2А (n=286)	Подгруппа 4.2.Б (n=34)	Группа 4ц (n=253)	p
Средний рост, см M(SD)	165,9 (7,51)	164,9 (7,09)	166,64 (7,7)	165,4 (6,81)	165,7 (8,43)	p1-5=0,77 p2-3=0,25 p2-4=0,31 p3-4=0,29
Средняя масса тела, кг M(SD)	66,3 (11,39)	66,73 (14,67)	66 (8,42)	64,12 (12,17)	65,9 (13,21)	p1-5=0,52 p2-3=0,43 p2-4=0,44 p3-4=0,12
Средний ИМТ, кг/м ² M(SD)	24,1 (4,35)	24,54 (5,54)	23,81 (4,27)	23,41 (4,15)	24,23 (4,81)	p1-5=0,68 p2-3=0,33 p2-4=0,35 p3-4=0,35
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между группами 4 _{ХМА} и 4ц, p2-3 – между подгруппами 4.1 и 4.2А, p2-4 – между подгруппами 4.1 и 4.2Б, p3-4 – между подгруппами 4.2А и 4.2Б, статистически значимые различия при p<0,05						

Таблица 22 иллюстрирует структуру соматической патологии у пациенток обследованных на 4 этапе работы. Единственное значимое различие, которое было выявлено – это расхождение по частоте встречаемости болезней вен (варикозного расширения вен) между пациентками группы 4.1 и подгруппы 4.2Б. Данная патология была выявлена соответственно у 136 (20%) и 12 (25,3%) ($\chi^2=4,61$, p=0,03, ОШ=2,18, ДИ 95% 1,05-4,52). То, что варикозное расширение вен чаще всего встречается у пациенток с наибольшим количеством случаев невынашивания беременности в анамнезе можно трактовать двояко: во-первых, это может свидетельствовать о том, что варикозная болезнь является фактором риска невынашивания беременности, а во-вторых, возможно, то, что данная патология часто встречается у этого контингента может говорить о том, что есть некие общие механизмы, которые имеют значение в патогенезе как потери беременности, так и заболеваний вен (например, недифференцированная дисплазия соединительной ткани).

Таблица 22. Частота и структура соматической патологии (этап 4)

Характеристика	Группа 4 _{ХМА} (n=1000)		Группа 4.1 (n=680)		Подгруппа 4.2А (n=286)		Подгруппа 4.2.Б (n=34)		Группа 4ц (n=253)		p1-5	p2-3	p2-4	p3-4
	1		2		3		4		5					
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%				
Класс I (B15-B19) Вирусный гепатит	8	0,8	5	0,7	2	0,7	1	2,9	2	0,8	0,99	0,95	0,17	0,2
Класс I (B20-B24) Болезнь, вызванная ВИЧ	5	0,5	3	0,4	2	0,7	0	-	2	0,8	0,58	0,61	0,7	0,62
Класс III (D50-D89) Болезни крови, кроветворных органов и отдельные нарушения, вовлекающие иммунные механизмы (анемия)	173	17,3	113	16,6	56	19,6	4	11,8	42	16,6	0,81	0,27	0,46	0,27
Класс IV (E00-E07) Болезни щитовидной железы	86	8,6	59	8,7	21	7,3	6	17,6	19	7,5	0,58	0,49	0,23	0,14
Класс IX (I10-I15) Болезни характеризующиеся повышенным кровяным давлением	77	7,7	46	6,8	26	9,1	5	14,7	16	6,3	0,56	0,21	0,08	0,3
Класс IX (I80-I89) Болезни вен	209	20,9	136	20	61	21,3	12	35,3	52	20,6	0,9	0,64	0,03	0,07
Класс X. Болезни органов дыхания (J00-J99)	59	5,9	34	5	21	7,3	4	11,8	13	5,1	0,64	0,15	0,09	0,36
Класс XI (K00-K93) Болезни органов пищеварения	137	13,7	91	13,4	41	14,3	5	14,7	28	11,1	0,27	0,69	0,83	0,95
Класс XIV (N00-N99) Болезни мочеполовой системы	98	9,8	67	9,9	28	9,8	3	8,8	27	10,7	0,68	0,98	0,84	0,86
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между группами 4 _{ХМА} и 4ц, p2-3 – между подгруппами 4.1 и 4.2А, p2-4 – между подгруппами 4.1 и 4.2Б, p3-4 – между подгруппами 4.2А и 4.2Б, статистически значимые различия при p<0,05														

Таким образом, на этапе 4 группы 4_{ХМА} и 4_ц клинически сопоставимы, поэтому сравнение эффективности двух методов исследования при использовании данных групп корректно. Между подгруппами группы 4_{ХМА} имеется ряд значимых различий, выявление которых может помочь в выявлении факторов риска привычного невынашивания беременности.

2.3. Методы исследования

Всем группам обследованных женщин проведено полное клинико-лабораторное обследование в соответствии с отраслевым объемом обследования по специальности «акушерство и гинекология». Общие клинические и биофизические методы проведены в женских консультациях г. Екатеринбурга. Родоразрешение пациенток из групп 1.1 и 1.2 проводилось на базе Областного перинатального центра Свердловской области (руководитель – Каюмова А.В., к.м.н., зав. операционно-родовым блоком Слабинская Т.В., к.м.н.).

Комплекс пренатальной диагностики 1 триместра проводился в межтерриториальных кабинетах пренатальной диагностики (МКПД), анализ биохимических показателей проводился в МАУ КДЦ «ОЗМР» (главный врач – Николаева Е.Б., зав. лабораторией Дерябина С.С., к.м.н.). Риск хромосомных анеуплоидий у плода оценивался как высокий при уровне риска 1:100 и выше, расчет риска проводился с помощью программы Astrapa. Неинвазивный пренатальный тест и молекулярно-генетические исследования проводились в медико-генетическом центре «Геномед» (генеральный директор – Коростелев С.А., д.м.н., профессор, руководитель направления «Пренатальная диагностика» - Киевская Ю.К.).

Оценка состояния новорожденных проводилась по шкале Апгар и с помощью оценки физического развития в соответствии с таблицами перцентильного типа Дементьевой (1980 г.).

Все пациентки, у которых был выявлен высокий риск хромосомных

аномалий по результатам НИПС, а также пациентки с высоким риском хромосомных анеуплоидий по результатам скрининга 1 триместра, которым не был проведен НИПС, были направлены на инвазивную пренатальную диагностику. Пациенткам группы 3 забор плодного материала проводился методом аспирации ворсин хориона, либо методом кордоцентеза (в зависимости от срока беременности). Далее проводилось цитогенетическое исследование ворсин хориона, либо пуповинной крови. При подтверждении наличия хромосомной аномалии у плода, пациентки информировались о наличии медицинских показаний для прерывания беременности. Инвазивная пренатальная диагностика проводилась в отделении пренатальной диагностики В МАУ КДЦ «ОЗМР» (зав. отделением Шаманская Е.Ф., к.м.н.).

В МАУ КДЦ «ОЗМР» в цитогенетической лаборатории проводилось цитогенетическое исследование abortивного материала (зав. лабораторией Ворошилин В.В.). Хромосомный микроматричный анализ abortивного материала проводился в медико-генетическом центре «Геномед» (генеральный директор – Коростелев С.А., д.м.н., профессор, руководитель отдела генетики Канивец И.В., к.м.н., зав. лабораторией Пьянков Д.В.). Прерывание беременности методом вакуум-аспирации и получение биологического материала (продуктов зачатия) проводилось в гинекологических отделениях г. Екатеринбурга.

2.3.1 Общие клинические исследования (общий анализ крови, общий анализ мочи, микроскопическое исследование отделяемого половых органов, гемостазиологические параметры, биохимические показатели крови)

Общий анализ крови (ОАК) выполнялся на автоматическом гематологическом анализаторе «Mythic 18» («CORMAY», Германия). В общем анализе крови оценивался уровень гемоглобина и гематокрита, цветной показатель, количество эритроцитов, количество лейкоцитов,

скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Общий клинический анализ мочи (ОАМ) проведен унифицированным методом на автоматическом мочевом анализаторе «Clinitek STATUS» фирмы «Bayer» (Великобритания). Оценивались плотность мочи, уровень протеинурии, количество эритроцитов и лейкоцитов в поле зрения. Микроскопическое исследование мазка из влагалища, цервикального канала и уретры проводилось унифицированным микроскопическим методом.

Лабораторная диагностика состояния системы гемостаза выполнялась унифицированными методами на коагулометре «Coatron M4» («CORMAY», Германия). Оценивались уровень тромбоцитов, уровень фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), международное нормализованное отношение (МНО), тромбиновое время.

Биохимическое исследование сыворотки венозной крови включало определение фракций билирубина, активности ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), общего белка, глюкозы, мочевины, креатинина. Исследования выполнялись на биохимическом анализаторе «Cobas C111» («Roche» Швейцария).

Анализ PAPP-A и β -ХГЧ проводился при помощи автоматической системы для проведения иммунологического анализа 1235 AutoDELFIA® (Финляндия). Это твердосайтовый флуорометрический двухсайтовый метод, основанный на непрямой многослойной («сэндвич») методике.

Для определения уровня PAPP-A два моноклональных антитела (полученные от мышей) направляются против двух отдельных детерминант на комплексе PAPP-A/ProMBP. Процедура анализа предполагает 2 инкубации. При первой инкубации меченые биотином иммобилизованные антитела подвергаются воздействию реагента с микротитровальными полосками, покрытыми стрептовидином. Затем полоски промываются. При второй инкубации стандарты, контрольные пробы и образцы сыворотки реагируют с антителами, мечеными хелатами европия. После этапа

дальнейшего промывания добавляется раствор-усилитель. Раствор-усилитель диссоциирует ионы европия из меченного антигена в раствор, где они образуют высокофлюоресцентные хелаты с компонентами раствора-усилителя. После этого измеряется флюоресценция в каждой лунке. Уровень флюоресценции в каждой пробе пропорционален концентрации в ней PAPP-A.

Для определения уровня β -ХГЧ, два моноклональных антитела направляются против двух отдельных антигенных детерминант на молекуле свободного β -ХГЧ. Образцы сыворотки беременных женщин, содержащие β -ХГЧ, взаимодействуют с иммобилизованными β -ХГЧ-специфическими моноклональными антителами. β -ХГЧ взаимодействует с меченым сомарием моноклональным антителом. Меченные и иммобилизованные антитела, соответственно, направлены против двух разных специфических антигенных участков. Анализ требует только одной инкубации. Раствор-усилитель диссоциирует ионы сомария из меченных антител в раствор, где они образуют высокофлюоресцентные хелатные комплексы с компонентами раствора-усилителя. После этого измеряется флюоресценция в каждой лунке. Флюоресценция сомария в каждом образце пропорциональна концентрации β -ХГЧ в нем.

2.3.2. Молекулярно-генетические методы исследования (анализ полиморфизмов генов, цитогенетические исследования, хромосомный микроматричный анализ, неинвазивный пренатальный тест)

Молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов проводилось методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа серии PyroMark Q24.

Исследуемые гены и полиморфизмы представлены в таблице 23. Изучено 37 полиморфизмов в 35 генах.

Таблица 23. Исследуемые гены и полиморфизмы

Ген	Локализация на хромосоме	Белковый продукт	Полиморфизм	SNP_ID
Гены системы гемостаза				
FGB	4q28	Фибриноген (фактор свертывания 1)	G-455A	rs1800790
F2	11p11	Протромбин	G-20210A	rs1799963
F5	1q23	V коагуляционный фактор	G1691A	rs6025
F7	13q34	VII коагуляционный фактор	G10976A	rs6046
F13	6p25.1	XIII коагуляционный фактор	G103A	rs5985
PLAT	8p11.21	Тканевой активатор плазминогена	C-7351T	rs2020918
PAI1	7q21.3-q22	Ингибитор активатора плазминогена	-657 5G/4G	rs1799889
PROC	2q14.3	Протеин С	A2583T	rs1799810
ITGA2	5q11.2	Тромбоцитарный гликопротеин Ia (интегрин-альфа-2)	C807T	rs1126643
ITGB3	17q21.32	Тромбоцитарный гликопротеин IIIa (интегрин-бета-3)	T176C	rs5918
GpVI	19q13.42	Тромбоцитарный гликопротеин 6	A683G	rs1613662
Гены фолатного цикла				
MTHFR	1p36.22	Метилентетрагидрофолатредуктаза	C677T	rs1801133
MTHFD	14q23.3	Метилентетрагидрофолатдегидрогеназа	G1958A	rs2236225
MTR	1q43	Метионинредуктаза	A2756G	rs1805087
MTRR	5p15.31	Метионинсинтаза-редуктаза	A66G	rs1801394
CBS	21q22.3	Цистатион бета-синтаза	844 D/I	rs5742905
SLC19A1	21q22.3	Транспортер фолатов	T80C	rs1051266
Гены "дисфункции эндотелия"				
EDN1	6p24.1	Эндотелин I	G5393T	rs5370
NOS3	7q36.1	Эндотелиальная-NO-синтаза	G894T	rs1799983
NOS3	7q36.1	Эндотелиальная-NO-синтаза	VNTR	POL_GF_69
Гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы				
CYP11B2	8q24.3	Альдостерон синтаза	G-344A	rs1799998
ACE	17q23.3	Ангиотензин-превращающий фермент	Alu I/D	rs4646994
ADD1	4p16.3	α -аддуктин	G1378T	rs4961
AGT	1q42.2	Ангиотензиноген	A704G	rs699
Гены цитокинов				
IL1 β	2q13	Интерлейкин 1b	G-511A	rs16944
IL1 β	2q13	Интерлейкин 1b	G+3953A	rs1143634
TNF-a	6p21.33	Фактор некроза опухолей альфа	G-308A	rs1800629
Гены системы детоксикации				
GSTM	1p13.3	глутатион-S-трансфераза M	N/del	POL_GF_48
GSTP1	11q13	Плацентарная глутатион-S-трансфераза	A313G	rs1138272
GSTP1	11q13	Плацентарная глутатион-S-трансфераза	C341T	rs947894
GSTT	22q11.23	глутатион-S-трансфераза T	N/del	POL_GF_49
Гены антиоксидантной системы				
GPX1	3p21.31	Глутатион пероксидаза	C593T	rs1050450

MnSOD	6q25	Митохондриальная супероксиддисмутаза	A251G	rs4880
Гены рецепторов половых гормонов				
ESR1	6q25.1	Рецептор эстрогенов 1	T397C	rs2234693
ESR2	12q23.2	Рецептор эстрогенов 2	A1730G	rs4986938
PRG	11q22.1	Рецептор прогестерона	G2721T	rs1042838

ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, используя комплект реагентов «ДНК-сорб-В» производства ФГУН «Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора» (Россия). Далее проводились реакция амплификации с помощью комплекта праймеров АмплиСенсПирокрин производства ФГУН «Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора» (Россия) с последующей инкубацией ампликонов с частицами сефарозы, покрытыми стрептовидином. С использованием полуавтоматической вакуумно-фильтрационной станции (Vacuum Prep Workstation) проводилась щелочная денатурация ампликонов и серия отмывок с образованием одноцепочечного ПЦР-продукта, используемого как матрица для пиросеквенирующего синтеза. Впоследствии проводилась реакция пиросеквенирования и анализ полученных результатов. Детекция реакции пиросеквенирующего синтеза проводилась автоматически в режиме реального времени с помощью пиросеквинатора серии QIAGEN PyroMark Q24 (Германия).

Цитогенетическое исследование проводилось на ворсинах хориона или пуповинной крови (при проведении инвазивной пренатальной диагностики), а также на абортивном материале (у пациенток группы 4_Ц).

Сбор биологического материала проводился в специальные пробирки, содержащие 100-500 единиц гепарина, в количестве 1-3 мл. Далее исследование осуществлялось в 3 этапа:

1. Подготовка клеточного материала: культивирование клеток (стимуляция деления), остановка деления, обработка гипертоническим раствором, удаление лишних клеток, центрифугирование;

2. Подготовка хромосомного препарата: фиксация смесью этилового спирта и уксусной кислоты, нанесение материала на предметные стекла, окрашивание препарата;

3. Собственно микроскопия с компьютерной обработкой изображения и составление заключения.

Окрашивание препарата выполнялось стандартным дифференциальным способом G-методом, так называемая окраска для световой микроскопии. Для уточнения вариабельности хромосомного набора использовался C-метод окраски препарата (окрашивался только конститутивный гетерохроматин).

Микроскопия окрашенных препаратов проводилась без использования покровных стекол с применением бинокулярных микроскопов фирмы «Nicon» (Япония), сопряженных с системой оцифровки изображения, с увеличением в 1000 и более раз. Компьютерная обработка изображения с идентификацией хромосом выполнялась с помощью программ Video Test Cario. Цитогенетическое заключение включало формулу кариотипа и словесное описание данной формулы.

Хромосомный микроматричный анализ (ХМА) – это полногеномный анализ с высокой разрешающей способностью, использующийся для определения хромосомных аномалий, как тех, которые определяются с помощью стандартного цитогенетического исследования, так и субмикроскопических делеций и дупликаций (вариации числа копий – CNVs). Опыт, накопленный в течение последнего десятилетия, демонстрирует лучшее выявление хромосомных аномалий при проведении ХМА по сравнению с традиционным кариотипированием [55, 156, 177, 241, 312, 350]. Помимо более высокой разрешающей способности, ХМА имеет и ряд дополнительных преимуществ перед стандартным кариотипированием: более короткий срок выполнения анализа, отсутствие необходимости культивирования клеток, возможность отсроченной диагностики и, следовательно, транспортировки материала на значительные расстояния, возможность проведения анализа на архивных образцах [156, 241, 350]. Тем

не менее, ХМА имеет и определенные недостатки по сравнению с традиционным цитогенетическим исследованием: не выявляются сбалансированные структурные перестройки (инверсии, транслокации), не определяется мозаицизм низкого уровня (ниже 5-10%). ХМА не дает информацию о структуре хромосом и конкретной локализации генетического дисбаланса. Например, при увеличении интенсивности сигнала от 21 хромосомы, с помощью ХМА нельзя дифференцировать трисомию данной хромосомы от несбалансированной Робертсоновской транслокации [177, 312].

При проведении ХМА использовались SNP-олигонуклеотидные микроматрицы Cytoscan Optima (Thermo Fisher, США) с разрешающей способностью от 800 000 п.н. (в отдельных клинически значимых регионах от 500 000 п.н.). Выделение и анализ ДНК проводились в соответствии с протоколом производителя реагентов. При проведении ХМА используется достаточно сложная технология, включающая выделение ДНК, ее амплификацию и дальнейшую энзиматическую рестрикцию. На полученные фрагменты далее наносится флуоресцентная метка. Каждый фрагмент имеет специфическую структуру и связывается с комплиментарным олигонуклеотидом расположенным в строго определенном участке микроматрицы, возникает свечение. По относительной интенсивности свечения участков микроматрицы при сканировании можно количественно определить число таких фрагментов. Определение вариаций числа копий (CNVs) производилось путем измерения интенсивности сигнала с зондов. С помощью данного типа матриц, помимо определения CNVs, возможно определение полиплоидии и однородительской дисомии.

Неинвазивный пренатальный скрининг (НИПС), основанный на выделении свободной ДНК плода из крови беременной для определения степени риска наличия хромосомных аномалий (ХА) у плода, сегодня широко применяется во всем мире [121].

Пациенткам, включенным в исследование, проводились неинвазивные

пренатальные тесты разных производителей - У 21042 пациенток был сделан тест Panorama (лаборатория Natera, США), у 1726 – тест Veracity (NIPD Genetics, Кипр), у 321 – тест Harmony Ariosa (Roche, США), у 4756 – «НИПС» - патентованное название Российского теста (Геномед, Россия).

Для проведения «НИПС» использовалась плазма крови беременной женщины. Взятие крови проводилось в специальные пробирки со стабилизатором внеклеточной ДНК. Клинический материал доставлялся в лабораторию с соблюдением правил транспортировки. В лаборатории проводилось центрифугирование крови для получения плазмы, далее с целью выделения внеклеточной ДНК использовались специальные наборы, после чего проводилась амплификация с последующим секвенированием. В результате высокопроизводительного секвенирования (NGS) внеклеточной ДНК получали информацию о 5-10 млн фрагментов, каждый фрагмент анализировался на принадлежность к определенной хромосоме с помощью биоинформатического анализа и устанавливалось количество фрагментов внеклеточной ДНК. При трисомии одной из хромосом у плода, наблюдается увеличение общего числа фрагментов данной хромосомы по сравнению с нормой.

При проведении остальных тестов биологический материал направлялся в страну, где находилась соответствующая лаборатория, и анализ проводился в нативной лаборатории.

2.3.3. Ультразвуковое исследование, доплерометрия и кардиотокография.

Ультразвуковое исследование (УЗИ) всем пациенткам проводилось в рекомендуемые скрининговые сроки – в 11-14, 18-21 и в 30-34 недели беременности. Ультразвуковое исследование плода, плацентарного комплекса, околоплодных вод, матки, а также доплерометрия проведены на аппарате Voluson S6/S8 (GE Ultrasound Korea, Ltd). Использовался

конвексный датчик. В 1 триместре проводились измерения копчико-теменного размера (КТР) плода, толщины воротникового пространства (ТВП), оценка визуализации носовой кости, оценка кровотока в венозном протоке, исследование анатомии и размеров плода. Во 2 и 3 триместре оценивалась анатомия плода, проводилась фетометрия (измерение бипариетального размера, окружности головки, окружности живота, длины трубчатых костей), локализация и структура плаценты, количество околоплодных вод. В 30-34 недели проводилась доплерометрия маточных артерий и артерии пуповины.

Кардиотокография (КТГ) и наружная гистерография (НГГ) проводились с помощью фетального монитора Sonicade Team фирмы Huntleigh Healthcare Ltd (Англия). Запись осуществляли в положении беременной на правом боку в течение 40 минут.

2.4. Статистические методы

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью программ Microsoft Excel (2010), SPSS 22.0, IBM, Statistica for Windows 10.0 (Stat Soft Inc., США), Jamovi (США).

Соответствие распределения совокупности количественных признаков закону нормального распределения проводилось с использованием критерия Шапиро-Уилкса.

Признаки, для которых гипотеза о принадлежности к нормально распределенной совокупности не отвергалась, исследовались параметрическими методами. В этом случае описательная статистика включала в себя расчет средних арифметических величин (M), среднеквадратичных отклонений (SD) и 95%-ных доверительных интервалов (ДИ-95%). Проверку гипотез о различиях двух исследуемых совокупностей проводили по статистическому критерию Стьюдента (t -критерий). При уровне значимости $p < 0,05$ гипотеза о принадлежности к

нормальной совокупности отвергалась.

При отклонении распределения признака от закона нормального распределения применяли непараметрические методы статистики, данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25-Q75). Проверку гипотез о различиях двух исследуемых совокупностей проводили по статистическому критерию Манна-Уитни. При числе групп более двух проверку статистических гипотез об отсутствии межгрупповых различий количественных признаков использовался непараметрический критерий Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis) [51, 70].

Для показателей, характеризующих качественные признаки, указывали абсолютное значение и относительную величину в процентах. Частотный анализ номинальных (качественных) признаков проводили с помощью таблиц сопряженности с оценкой значимости по критерию хи-квадрат (χ^2 Пирсона). Для бинарных признаков вычисляли отношение шансов (ОШ) и 95% - доверительный интервал (ДИ-95%). Критический уровень значимости различий (p), при котором нулевая гипотеза об отсутствии различий отвергалась и принималась альтернативная устанавливали равным $p < 0,05$. Определение достоверности различий между сравниваемыми группами или подгруппами по частотам генотипов и аллелей проводили с помощью критерия χ^2 Пирсона [26, 49]. Силу ассоциации оценивали в значениях показателя соотношения шансов (ОШ). Значение ОШ и 95%-ный доверительный интервал (ДИ-95%) вычисляли с помощью программы «Calculator for confidence intervals or odds ratio». Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Корреляционные связи количественных и ранговых признаков оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена и коэффициента Пирсона (r) с оценкой уровня значимости с помощью таблиц «Критические значения корреляции $r_{\text{крит}}$ для уровня значимости α и степени свободы f' » [49].

Для оценки информативности, эффективности и разрешающей

способности различных методов исследования и математических моделей прогноза рассчитывали следующие показатели чувствительность, специфичность и точность (эффективность). Чувствительность (Se, sensitivity) – это доля истинно положительных результатов у больных пациенток. Специфичность (Sp, specificity) - это доля истинно отрицательных результатов среди здоровых пациенток. Эффективность способа показывает долю «правильных срабатываний теста» среди всех обследованных и является совокупным показателем информативности теста. Способы расчета:

$$\text{Чувствительность} = (a / (a+c)) \times 100\%;$$

$$\text{Специфичность} = (d / (d+b)) \times 100\%;$$

$$\text{Эффективность} = ((a+d) / (a+b+c+d)) \times 100\%,$$

$$\text{PPV (положительная предсказательная величина)} = (a / (a+b)) \times 100\%$$

$$\text{NPV (отрицательная предсказательная величина)} = (d / (c+d)) \times 100\%$$

где а - истинно положительный результат; b - ложноположительный результат; с - ложноотрицательный результат; d - истинно отрицательный результат. Указывалось отношение правдоподобия с 95% ДИ.

Тест на соответствие распределения генотипов закону равновесия Харди-Вайнберга в обеих выборках проводили с помощью критерия χ^2 ($p > 0,05$). Уровень значимости $p < 0,05$ свидетельствовал об отклонениях от этого закона.

Для учета влияния полиморфных генетических маркеров использовалось несколько моделей риска. Общая (аддитивная) модель предполагает, что пенетрантность (ожидаемое значение признака) у гетерозигот лежит между значениями пенетрантности для обеих гомозигот. При анализе с использованием общей модели по отдельности оцениваются частоты «дикого» гомозиготного, гетерозиготного и полиморфного генотипов. Мультипликативная модель предполагает, что пенетрантность зависит от количества копий предрасполагающего аллеля, в исследуемых группах оценивается частота по отдельности каждого вариантного аллеля. Доминантная модель предполагает, что полиморфный аллель является

доминантным, и его значение проявляется при гетеро- и гомозиготном носительстве – оценивается суммарная частота гетерозигот и полиморфных гомозигот. Рецессивная модель предполагает, что полиморфный аллель является рецессивным, и что влияние на пенетрантность проявляется только для полиморфных гомозигот, в исследуемых группах сравниваются частота полиморфных гомозигот и суммарная частота гетерозигот и «диких» гомозигот [103].

Для анализа межгенных взаимодействий применяли биоинформатический метод сокращения многофакторной размерности (Multifactor Dimensionality Reduction, MDR) с использованием компьютерной программы MDR v.2.0 beta 8.

Модели прогноза и прогностические индексы развития «больших акушерских синдромов» получены путем математической обработки результатов исследований методом кластерного и пошагового дискриминантного анализа с помощью пакетов прикладных программ SPSS-22, Statistica for Windows 10.0. Зависимость чувствительности и специфичности прогностических моделей анализировали при помощи ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic - операционная характеристика приемника), который указывает на зависимость количества верно диагностированных положительных случаев от количества неверно диагностированных отрицательных случаев (ось X=специфичность, ось Y=чувствительность), и построения ROC-кривых. По результатам построения ROC-кривой определяли количественную оценку характеристической кривой - AUC (area under ROC curve — площадь под ROC-кривой), на этой основе оценивали степень качества моделей для прогнозирования развития осложнений беременности. Шкала значений AUC, отражающая качество диагностического теста такова: AUC=0,9-1,0 – отличное качество; AUC=0,8-0,9 – высокое качество; AUC=0,7-0,8 – хорошее качество; AUC=0,6-0,7 – среднее качество; AUC=0,5-0,6 – плохое (неудовлетворительное) качество [30].

Количество выполненных исследований представлено в таблице 24.

Таблица 24. Общее количество выполненных исследований

Методы исследования	Количество
Анамнестические	1932
Общие клинические, гемостазиологические	15509
Биохимические	4790
Неинвазивный пренатальный тест	29267
Цитогенетические	587
Молекулярно-генетические	18255
Биофизические	4290
Статистические (описательная статистика, дисперсионный, корреляционный, дискриминантный анализ)	5503
Всего	80133

ГЛАВА 3. ДЕВИАЦИИ МАТЕРИНСКОГО ГЕНОМА И РИСК «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»

3.1 Полиморфные варианты генов-кандидатов ассоциированных с «большими акушерскими синдромами»

Многочисленные клинические наблюдения, результаты научных исследований, мета-анализов и систематических обзоров свидетельствуют о существовании генетической предрасположенности к развитию «больших акушерских синдромов» [102, 329, 344]. В связи с этим для выявления генетически-детерминированных факторов риска развития «больших акушерских синдромов», мы предприняли молекулярно-генетические исследования пациенток исследуемых групп в соответствии с представленным ранее дизайном. На основании данных научной литературы [1, 23, 96, 153, 154, 161, 173, 181, 207, 210, 216, 222, 234, 243, 264, 265, 272, 281, 282, 322, 330, 357, 359, 370] и знаний о патогенезе акушерских осложнений [23, 117, 139, 183, 249], нами были выбраны полиморфные варианты генов-кандидатов, о которых известно, что их наличие ассоциировано с риском развития осложнений гестации. Молекулярно-генетическое исследование было проведено у 391 женщин, которых мы обследовали на 1 этапе исследования. Из них 279 женщин входили в группу 1.1 (имели осложненное течение беременности), 112 женщин составили контрольную группу 1.2. Необходимо отметить, что все женщины имели славянское происхождение и проживали на территории Свердловской области. Исследовано 37 полиморфизмов в 35 генах: гены системы гемостаза (FGB, F2, F5, F7, F13, PLAT, PAI1, PROC, ITGA2, ITGB3, GPVI), гены фолатного цикла (MTHFR, MTHFD, MTR, MTRR, CBS, SLC19A1), гены «дисфункции эндотелия» (END1, NOS3), гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (CYP11B2, ACE, ADD1, AGT), гены цитокинов (IL1 β , TNF- α), гены системы детоксикации

(GSTM, GSTP, GSTT), гены антиоксидантной системы (GPX1, MnSOD), гены рецепторов половых гормонов (ESR1, ESR2, PGR).

Для оценки возможного влияния полиморфных аллелей на риск осложненного течения беременности мы использовали общую, мультипликативную, доминантную и рецессивную модели генетического анализа. Характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам изученных генов в исследуемых группах соответствовал равновесию Харди-Вайнберга [54].

Участие различных генетических сетей в развитии осложнений беременности схематично представлено на рисунке 5.

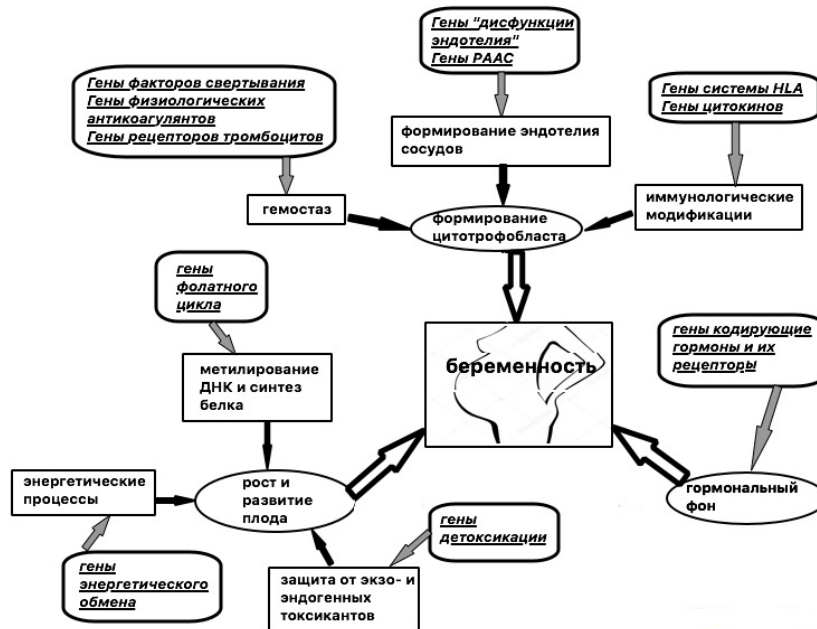


Рисунок 5. Генетические сети, ассоциированные с осложнениями беременности

Результаты распределения генотипов исследуемых генов и сравнение их частот в группах 1.1 и 1.2 представлены в таблицах 25-30.

Анализ на полиморфизмы в генах тромбофилии применяется в клинической практике врачей акушеров-гинекологов наиболее часто [19, 69, 115, 123]. Сравнение частот генотипов данной генной сети в соответствии с общей моделью генетического анализа представлено в

таблице 25.

Таблица 25. Распределение полиморфных генотипов генов системы гемостаза у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	GG	190	68,2	76	67,9	0,00	0,96	1,01(0,63-1,62)
	GA	62	22,2	31	27,7	1,31	0,25	0,75(0,45-1,23)
	AA	27	9,7	5	4,5	2,89	0,09	2,29(0,85-6,11)
F2 G-20210A	GG	272	97,5	111	99,1	1,04	0,31	0,35(0,04-2,88)
	GA	7	2,5	1	0,9	1,04	0,31	2,86(0,35-23,5)
	AA	0	-	0	-	0,00	1	-
F5 G1691A	GG	271	97,1	106	94,6	1,43	0,23	1,92(0,65-5,66)
	GA	8	2,9	6	5,2	1,43	0,23	0,52(0,17-1,53)
	AA	0	-	0	-	0,00	1	-
F7 G10976A	GG	218	78,1	89	79,5	0,08	0,77	0,92(0,54-1,58)
	GA	59	21,1	20	17,9	0,54	0,46	1,23(0,07-2,16)
	AA	2	0,7	3	2,7	2,44	0,11	0,26(0,04-1,59)
F13 G103A	GG	179	64,2	49	43,8	13,69	<0,01	2,3(1,47-3,6)
	GA	80	28,7	57	50,9	17,33	<0,01	0,39(0,24-0,61)
	AA	20	7,2	6	5,2	0,42	0,52	1,36(0,53-3,49)
PLAT C-7351T	CC	131	47	48	42,9	0,54	0,46	1,18(0,76-1,84)
	CT	119	42,7	39	34,8	0,15	2,04	1,39(0,88-2,19)
	TT	29	10,4	25	22,3	9,55	<0,01	0,4(0,22-0,73)
PAI1 -657 5G/4G	5G5G	67	23,5	27	24,1	0,00	0,98	0,99(0,6-1,66)
	5G4G	124	44,4	57	50,9	1,34	0,25	0,77(0,5-1,2)
	4G4G	88	31,6	28	25	1,64	0,2	1,38(0,84-2,27)
PROC A2583T	AA	91	31,5	39	34,8	0,18	0,68	0,91(0,57-1,44)
	AT	76	27,2	39	34,8	2,21	0,14	0,7(0,43-1,12)
	TT	112	40,1	34	30,4	3,27	0,07	1,54(0,96-2,46)
ITGA2 C807T	CC	76	27,2	33	29,5	0,2	0,66	0,9(0,55-1,45)
	CT	124	46,3	51	45,5	0,04	0,84	0,96(0,61-1,49)
	CC	79	28,3	28	25	0,44	0,51	1,19(0,72-1,96)
ITGB3 T176C	TT	172	61,6	80	71,4	3,34	0,07	0,64(0,4-1,03)
	TC	90	32,3	25	22,3	1,47	0,22	1,37(0,82-2,3)
	CC	17	6,1	7	6,3	0,00	0,95	0,97(0,39-2,41)
GPVI A683G	AA	207	74,2	85	75,9	0,12	0,73	0,91(0,55-1,52)
	AG	60	21,5	21	18,8	0,3	0,58	1,16(0,67-2,02)
	GG	12	4,3	6	5,4	0,2	0,65	0,79(0,29-2,17)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

При анализе генов системы гемостаза мы выявили различия по

частоте встречаемости полиморфных генотипов лишь для двух генов – F13 и PLAT. При анализе частот генотипов гена F13 (полиморфизм G103A) установлено, что гомозигота GG чаще встречалась в основной группе – у 179 (64,2%) по сравнению с 49 (43,8%) в контрольной группе ($\chi^2=13,69$, $p<0,001$, ОШ 2,3, (ДИ 95% 1,47-3,6)), а гетерозиготный вариант GA чаще выявлялся в контрольной группе – у 57 (50,9%) участниц по сравнению с 80 (28,7%) в основной группе ($\chi^2=17,33$, $p<0,001$, ОШ 0,39, (ДИ 95% 0,24-0,61)). Предположения о возможном протективном эффекте полиморфного варианта гена F13 в отношении тромбоэмболических осложнений и невынашивания беременности уже ранее высказывались в научных публикациях [173, 236, 322]. Возможно, полиморфный генотип F13 G103A также имеет протективный эффект в отношении «больших акушерских синдромов». По частоте встречаемости гомозиготного генотипа AA достоверных различий не выявлено – в основной группе он выявлен у 20 (7,2%) пациенток, в контрольной – у 6 (5,2%) ($\chi^2=0,42$, $p=0,52$, ОШ 1,36, (ДИ 95% 0,53-3,49)). В гене PLAT (полиморфизм C7351T) полиморфный гомозиготный генотип TT, вопреки нашим ожиданиям, достоверно чаще встречался в контрольной группе. В группе 1.1 такой вариант был у 29 (10,4%) пациенток, в группе 1.2 – у 25 (22,3%) ($\chi^2=9,55$, $p=0,002$, ОШ 0,4, (ДИ 95% 0,22-0,73))

Вместе с генами тромбофилии нередко анализируются гены фолатного цикла, которые представлены в таблице 26. В этой системе при использовании общей модели мы не выявили никаких значимых различий между исследуемыми группами по частоте встречаемости полиморфных вариантов генов MTHFR, MTR, MTRR, CBS, несмотря на то, что в ряде научных публикаций продемонстрирована связь данной генной сети с акушерской патологией [166, 258, 318, 348]. Возможно, определенная связь полиморфизмов в генах фолатного цикла с акушерской патологией существует, но их пенетрантность в этом аспекте достаточно низкая, и патологическое действие будет реализовано только в сочетании с другими

факторами риска, в том числе с полиморфизмами в других генных сетях. Единственное значимое различие было получено по частоте встречаемости полиморфного гомозиготного генотипа СС гена SLC19A1 – в группе 1.1 данный вариант был выявлен у 61 (21,9%) пациенток, а в группе 1.2 – у 13 (11,6%) ($\chi^2=5,48$, $p=0,02$, ОШ 2,13, (ДИ 95% 1,11-4,06))

Таблица 26. Распределение полиморфных генотипов генов фолатного цикла у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	CC	150	53,8	52	46,4	1,72	0,19	1,34(0,86-2,08)
	CT	88	31,5	45	40,2	2,66	0,1	0,69(0,44-1,08)
	TT	41	14,7	15	13,4	0,11	0,74	1,11(0,59-2,11)
MTHFD G1958A	GG	114	40,9	39	34,8	1,22	0,27	1,29(0,82-2,04)
	GA	111	39,8	50	44,6	0,78	0,38	0,82(0,53-1,28)
	AA	54	19,4	23	20,5	0,07	0,79	0,93(0,54-1,6)
MTR A2756G	AA	201	72	79	70,5	0,09	0,77	1,07(0,66-1,74)
	AG	61	21,9	20	17,9	0,78	0,38	1,46(0,82-2,6)
	GG	17	6,1	13	11,6	3,43	0,06	0,49(0,23-1,05)
MTRR A66G	AA	70	25,1	22	19,6	1,32	0,25	1,37(0,8-2,35)
	AG	119	42,7	59	52,7	3,24	0,07	0,67(0,43-1,04)
	GG	90	32,3	31	27,7	0,78	0,38	1,24(0,77-2,02)
CBS 844 D/I	DD	269	96,4	106	94,6	0,64	0,42	1,52(0,54-4,29)
	DI	8	2,9	3	2,7	0,01	0,92	1,07(0,28-4,12)
	II	2	0,7	3	2,7	2,44	0,12	0,26(0,04-1,59)
SLC19A1 T80C	TT	119	42,7	60	53,6	3,8	0,05	0,64(0,41-1)
	TC	99	35,5	39	34,8	0,02	0,9	1,03(0,65-1,63)
	CC	61	21,9	13	11,6	5,48	0,02	2,13(1,11-4,06)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

Многими исследователями «большие акушерские синдромы» рассматриваются в качестве классической модели патологии обусловленной эндотелиальной дисфункцией [171, 182]. В таблице 27 представлены полиморфные варианты генов «дисфункции эндотелия» и генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

Таблица 27. Распределение полиморфных генотипов генов «дисфункции эндотелия» и РААС у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	GG	179	64,2	74	66,1	0,13	0,72	0,92(0,58-1,46)
	GT	75	26,9	30	26,8	0,00	0,98	1(0,61-1,65)
	TT	25	9	8	7,1	0,34	0,56	1,28(0,55-2,93)
NOS3 G894T	GG	156	55,9	63	56,3	1,27	0,26	1,19(0,77-1,82)
	GT	119	42,7	45	40,2	0,2	0,65	1,11(0,71-1,73)
	TT	4	1,4	4	3,6	1,8	0,18	0,4(0,1-1,61)
NOS3 VNTR	5R5R	180	64,5	78	69,6	0,93	0,33	0,79(0,49-1,27)
	5R4R	89	31,9	29	25,9	1,36	0,24	1,34(0,82-2,19)
	4R4R	10	3,6	5	4,5	0,16	0,68	0,8(0,27-2,38)
CYP11B2 G-344A	GG	96	34,4	28	25	3,26	0,07	1,57(0,96-2,58)
	GA	110	39,4	65	58	4,64	0,03	0,65(0,42-0,99)
	AA	73	26,2	19	17	3,76	0,05	1,73(0,99-3,04)
ACE Alu I/D	II	73	26,2	28	25	0,06	0,81	1,06(0,64-1,76)
	ID	150	53,8	65	58	0,59	0,44	0,84(0,54-1,31)
	DD	56	20,1	19	17	0,5	0,48	1,23(0,69-2,18)
AGT A704G	AA	91	32,6	31	27,8	0,91	0,34	1,26(0,78-2,05)
	AG	110	39,4	55	49,1	1,78	0,18	0,79(0,52-1,22)
	GG	78	28	26	23,2	0,92	0,34	1,28(0,77-2,14)
ADD1 G1378T	GG	183	65,6	78	69,6	0,59	0,44	0,83(0,52-1,33)
	GT	75	26,9	29	25,9	0,04	0,84	1,05(0,64-1,73)
	TT	21	7,5	5	4,5	1,21	0,27	1,74(0,64-4,74)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p < 0,05$

Обнаружено, что в контрольной группе чаще встречается полиморфный гетерозиготный генотип GA гена CYP11B2 (полиморфизм G-344A). В группе 1.1 он был выявлен у 110 (39,4%) участниц, а в группе 1.2 – у 65 (58%) ($\chi^2=4,64$, $p=0,03$, ОШ 0,65 (ДИ 95% 0,42-0,99)). По остальным полиморфным вариантам генов статистически значимых различий не было.

Одним из наиболее перспективных направлений научного поиска

причин возникновения «больших акушерских синдромов» считается исследование роли генетически детерминированных иммунологических факторов [7, 139, 183, 229, 369]. Очевидно, что иммунная система в той или иной степени всегда участвует в реализации патогенетических механизмов, приводящих к клиническим проявлениям осложнений беременности. В связи с этим мы сочли целесообразным изучить некоторые аспекты формирования иммунологического ответа на гестационную стимуляцию. В таблице 28 представлены частотные характеристики изученных нами полиморфных вариантов генов в соответствии с общей аналитической моделью.

Таблица 28. Распределение полиморфных генотипов генов цитокинов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	GG	150	53,8	52	46,4	1,72	0,19	1,34(0,86-2,08)
	GA	103	36,9	52	46,4	3,02	0,08	0,68(0,43-1,05)
	AA	26	9,3	8	7,2	0,48	0,49	1,34(0,59-3,05)
IL1 β G+3953A	GG	132	47,3	78	69,6	16,03	<0,01	0,39(0,24-0,62)
	GA	121	43,4	30	26,8	9,27	<0,01	2,09(1,29-3,38)
	AA	26	9,3	4	3,6	3,73	0,05	2,77(0,94-8,14)
TNF-a G-308A	GG	230	82,4	89	79,5	0,47	0,49	1,21(0,69-2,11)
	GA	35	12,5	20	17,9	1,87	0,17	0,66(0,36-1,2)
	AA	14	5	3	2,7	1,05	0,31	1,92(0,54-6,81)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Выявлены существенные различия по полиморфизму IL1 β G+3953A. Мажорный гомозиготный генотип GG в группе 1.1 был выявлен у 132 (47,3%) пациенток, а в группе 1.2 – у 78 (69,6%) ($\chi^2=16,03$, p<0,001, ОШ 0,39 (ДИ 95% 0,24-0,62)). Гетерозиготный генотип GA в основной группе был обнаружен у 121 (43,4%) пациенток, а в контрольной – у 30 (26,8%) ($\chi^2=9,27$, p=0,002, ОШ 2,09 (ДИ 95% 1,29-3,38)). Гомозиготный

генотип АА также в основной группе встречался чаще, чем в контрольной, соответственно у 26 (9,3%) и 4 (3,6%), но различия статистически не значимы ($\chi^2=3,73$, $p=0,053$, ОШ 2,77 (ДИ 95% 0,94-8,14)).

Очень интересной, с точки зрения формирования изучаемой патологии, представляется сеть так называемых «генов детоксикации» (таблица 29), отвечающих за элиминацию из организма токсикантов различного происхождения [23].

Таблица 29. Распределение полиморфных генотипов генов системы детоксикации и антиоксидантной системы у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+/+	258	92,5	73	65,2	45,8	<0,01	6,56(3,63-11,85)
	+/del	-	-	7	6,3	17,7	<0,01	0,01(0,00-2,77)
	del/del	21	7,5	32	28,6	30,2	<0,01	0,2(0,11-0,37)
GSTP A313G	AA	221	79,2	81	72,3	2,15	0,14	1,46(0,88-2,42)
	AG	42	15,1	25	22,3	2,97	0,08	0,62(0,35-1,07)
	GG	16	5,7	6	5,4	0,02	0,88	1,07(0,41-2,82)
GSTP C341T	CC	230	82,4	78	69,6	7,82	<0,01	2,05(1,23-3,4)
	CT	34	12,2	30	26,8	12,4	<0,01	0,38(0,22-0,66)
	TT	15	5,4	4	3,5	0,56	0,45	1,53(0,5-4,73)
GSTT N/del	+/+	251	90	102	91,1	0,11	0,74	0,88(0,41-1,88)
	+/del	14	5	5	4,5	0,05	0,82	1,13(0,4-3,22)
	del/del	14	5	5	4,5	0,05	0,82	1,13(0,4-3,22)
GPX1 C593T	CC	70	25	38	33,9	3,12	0,08	0,65(0,41-1,05)
	CT	192	68,8	72	64,3	0,75	0,39	1,23(0,77-1,95)
	TT	17	6,1	2	1,8	3,21	0,07	3,57(0,81-15,71)
MnSOD A251G	AA	51	18,3	21	18,8	0,01	0,91	0,97(0,55-1,7)
	AG	130	46,6	62	55,4	2,46	0,12	0,7(0,45-1,09)
	GG	98	35,1	29	25,9	3,11	0,08	1,55(0,95-2,53)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

При анализе частоты встречаемости полиморфных генотипов этой

сети мы получили весьма неожиданные результаты. Мажорные гомозиготные генотипы генов GSTM (N/del) и GSTP (C341T) чаще встречались в основной группе, то есть у пациенток, у которых беременность имела осложненное течение ($p < 0,001$). В контрольной же группе значительно чаще, чем в основной встречалась гомозиготная и гетерозиготная делеция в гене GSTM и гетерозиготный генотип СТ гена GSTP ($p < 0,01$). Объяснения выявленному генетическому феномену могут быть даны лишь при комбинированном осмыслении полученных данных.

В основе благополучного течения беременности лежит всеобъемлющая гормональная регуляция процессов, обеспечивающих все этапы формирования фетоплацентарного комплекса, включая ростовые факторы, ангиогенез, иммуномодуляцию и др. [139, 183]. Реализация тканевого действия гормонов осуществляется через специфические рецепторы, которые, в свою очередь, контролируются специализированными генетическими сетями. В связи с этим теоретический и практический интерес представляет исследование роли генов регуляторов гормональных рецепторов. В таблице 30 представлена общая модель анализа генов рецепторов к эстрогенам (ESR1, ESR2) и прогестерону (PGR) в исследуемых группах.

Достоверных различий по частоте встречаемости полиморфных вариантов этих генов между пациентками исследуемых групп не выявлено. Эти данные наводят на мысль, что гормональная регуляция гестационного процесса является не единственным механизмом, определяющим характер течения беременности, детерминирующим осложнения в ее течении.

Таблица 30. Распределение полиморфных генотипов генов рецепторов половых гормонов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	TT	58	20,8	32	27,6	2,73	0,1	0,66(0,4-1,08)
	TC	139	49,8	53	47,3	0,2	0,65	1,11(0,71-1,71)
	CC	82	29,4	27	24,1	1,11	0,29	1,31(0,79-2,17)
ESR2 A1730G	AA	179	64,2	80	71,4	1,89	0,17	0,72(0,44-1,15)
	AG	61	21,9	18	16,1	1,66	0,2	1,46(0,82-2,61)
	GG	39	14	14	12,5	0,15	0,7	1,14(0,59-2,19)
PRG G2721T	GG	251	90	96	85,7	1,44	0,23	1,49(0,77-2,88)
	GT	19	6,8	10	8,9	0,52	0,5	0,75(0,33-1,66)
	TT	9	3,2	6	5,4	0,98	3,2	0,59(0,2-1,69)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Следующим разделом генетического анализа исследуемых групп стало использование мультипликативной модели, которая в отличие от общей модели направлена на выявление различий на уровне отдельных аллелей.

В таблицах 31-36 представлено сравнение исследуемых групп по частоте встречаемости полиморфных аллелей анализируемых генов (мультипликативная модель). Анализ генетических предрасположенностей к «большим акушерским синдромам» с помощью данного инструмента традиционно начнем с полиморфизмов генов, контролирующих систему гемостаза.

При использовании мультипликативной модели генетического анализа, также как и при использовании общей модели, выявлены значимые различия между пациентками исследуемых групп по частоте встречаемости полиморфных аллелей генов F13 и PLAT (таблица 31).

Таблица 31. Распределение полиморфных аллелей генов тромбофилии у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	G	442	79,2	183	81,7	0,62	0,43	0,85(0,57-1,27)
	A	116	20,8	41	18,3			1,17(0,78-1,74)
F2 G-20210A	G	551	98,7	223	99,6	1,03	0,31	0,35(0,04-2,88)
	A	7	1,3	1	0,4			2,83(0,34-23,1)
F5 G1691A	G	550	98,6	218	97,3	1,41	0,24	1,89(0,64-5,52)
	A	8	1,4	6	2,7			0,52(0,18-1,54)
F7 G10976A	G	495	88,7	198	88,4	0,02	0,9	1,03(0,63-1,67)
	A	63	11,3	26	11,6			0,96(0,59-1,58)
F13 G103A	G	438	78,5	155	69,2	7,54	<0,01	1,62(1,14-2,3)
	A	120	21,5	69	30,8			0,61(0,43-0,87)
PLAT C-7351T	C	381	68,3	135	60,3	4,57	0,03	1,42(1,03-1,96)
	T	177	31,7	89	39,7			0,7(0,51-0,97)
PAI1 -657 5G/4G	5G	258	46,2	111	49,6	0,7	0,4	0,87(0,64-1,19)
	4G	300	53,8	113	50,4			1,14(0,83-1,56)
PROC A2583T	A	258	46,2	117	52,2	2,3	0,13	0,79(0,57-1,07)
	T	300	53,8	107	47,8			2,11(1,57-2,87)
ITGA2 C807T	C	276	49,5	117	52,2	0,49	0,48	0,9(0,66-1,22)
	T	282	50,5	107	47,8			1,11(0,82-1,52)
ITGB3 T176C	T	434	77,8	185	82,3	2,24	0,13	0,74(0,5-1,1)
	C	124	22,2	39	17,7			1,35(0,9-2,02)
GPVI A683G	A	474	84,9	191	85,3	0,01	0,91	0,97(0,63-1,51)
	G	84	15,1	33	14,7			1,02(0,66-1,58)

Примечание: n – число обследованных в группе χ^2 ; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p < 0,05$

Аллель G в 103 положении гена F13 в группе 1.1 встречался с частотой 78,5%, а в группе 1.2 с частотой 69,2% ($\chi^2=7,54$, $p=0,006$, ОШ 1,62 (ДИ 95% 1,14-2,3)). Аллель A в этом гене в группе 1.1 встречался с частотой 21,5%, а в группе 1.2 – 30,8% ($\chi^2=7,54$, $p=0,006$, ОШ 0,61 (ДИ 95% 0,43-0,87)). В гене PLAT (C-7351T) аллель C в основной группе обнаружен в 68,3% случаев, а в контрольной – в 60,3% ($\chi^2=4,57$, $p=0,03$, ОШ 1,42 (ДИ 95% 1,03-1,96)), а аллель T соответственно в 31,7% и в 39,7% ($\chi^2=4,57$, $p=0,03$, ОШ 0,7 (ДИ 95% 0,51-0,97)).

В научной литературе большое внимание уделяется изучению роли нарушений метаболизма фолиевой кислоты в генезе «больших акушерских синдромов» [40, 44, 78, 167, 223, 227, 352, 368]. В значительной степени это объясняется существованием простой и привлекательной идеи – с помощью назначения недорогого и доступного препарата фолиевой кислоты или его активных форм (метилфолат) решить одновременно несколько проблем: профилактика пороков развития плода (пороки нервной трубки, пороки сердца и сосудов) и предупреждение грозных осложнений в течение беременности. Основанием для этих надежд стало известное повреждающее действие на эндотелий высоких концентраций гомоцистеина, которое, в свою очередь, ассоциировано с генетически обусловленными нарушениями метаболизма фолиевой кислоты [126, 150, 152, 184, 242, 274]. В таблице 32 представлены результаты анализа частоты полиморфных аллелей генов, регулирующих фолатный цикл.

Таблица 32. Распределение полиморфных аллелей генов фолатного цикла у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	C	388	69,5	149	66,5	0,68	0,41	1,14(0,82-1,6)
	T	170	30,5	75	33,5			0,87(0,62-1,21)
MTHFD G1958A	G	339	60,9	128	57,1	0,87	0,35	1,16(0,84-1,59)
	A	219	39,1	96	42,9			0,86(0,62-1,18)
MTR A2756G	A	463	83,2	178	79,5	1,33	0,25	1,26(0,85-1,86)
	G	95	16,8	46	20,5			0,79(0,53-1,18)
MTRR A66G	A	259	46,4	103	46	0,5	0,48	0,93(0,68-1,28)
	G	299	53,6	111	54			1,07(0,78-1,47)
CBS 844 D/I	D	546	97,8	215	96	2,13	0,14	1,9(0,79-4,59)
	I	12	2,2	9	4			0,53(0,22-1,26)
SLC19A1 T80C	T	337	60,4	159	71	7,72	<0,01	0,62(0,44-0,87)
	C	221	39,6	65	29			1,6(1,14-2,24)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Нами получены статистически значимые различия по частоте встречаемости аллелей T и C в 80 позиции гена транспортера фолатов SLC19A1. В группе 1.1 аллель T выявлен в 60,4% случаев, а C – в 39,6%, а в группе 1.2 соответственно в 71% и 29% ($\chi^2=7,72$, $p=0,005$)

При анализе частоты встречаемости полиморфных аллелей в генах ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и генов, связанных с состоянием эндотелия, статистически значимых различий между исследуемыми группами не получено. Мультипликативная модель анализа этих генов представлена в таблице 33.

Таблица 33. Распределение полиморфных аллелей генов «дисфункции эндотелия» и генов РААС у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	G	433	77,6	178	79,4	0,32	0,57	0,9(0,61-1,31)
	T	125	22,4	46	20,6			1,12(0,76-1,63)
NOS3 G894T	G	431	77,2	171	76,3	0,07	0,79	1,05(0,73-1,52)
	T	127	22,8	53	23,7			0,95(0,66-1,37)
NOS3 VNTR	5R	449	80,5	185	82,6	0,47	0,49	0,87(0,58-1,3)
	4R	109	19,5	39	17,4			1,15(0,77-1,72)
CYP11B2 G-344A	G	302	54,1	121	54	0,00	0,98	1(0,73-1,37)
	A	256	45,9	103	46			1(0,73-1,36)
ACE Alu I/D	I	296	53	121	54	0,06	0,8	0,96(0,7-1,31)
	D	262	47	103	46			1,04(0,76-1,42)
AGT A704G	A	292	52,3	117	52,2	0,00	0,98	1(0,73-1,37)
	G	266	47,7	107	47,8			1(0,73-1,36)
ADD1 G1378T	G	441	79	185	82,6	1,27	0,26	0,79(0,53-1,19)
	T	117	21	39	17,4			1,26(0,84-1,88)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

Генетическая регуляция состояния иммунной системы, как указывалось выше, имеет важное значение в регуляции гестационного

процесса. В таблице 34 представлены результаты анализа по мультипликативной модели генов цитокинов.

Таблица 34. Распределение полиморфных аллелей генов цитокинов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	G	403	72,2	156	69,6	0,52	0,47	1,33(0,81-1,59)
	A	155	27,8	68	30,5			0,88(0,62-1,24)
IL1 β G+3953A	G	385	69	186	83	15,99	<0,01	0,45(0,3-0,67)
	A	173	31	38	17			2,2(1,48-3,26)
TNF-a G-308A	G	495	88,7	198	88,4	0,02	0,9	1,03(0,63-1,68)
	A	63	11,3	26	12,6			0,97(0,57-1,57)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

При использовании мультипликативной модели мы подтвердили те закономерности, которые были получены при анализе генов цитокинов с помощью общей модели: получены высокостатистически значимые различия по частоте встречаемости вариантных аллелей гена IL1 β (полиморфизм G+3953A). Аллель G в группе 1.1 встречался реже – в 69% случаях по сравнению с 83% в группе 1.2 ($\chi^2=15,99$, p<0,001, ОШ 0,45 (ДИ 95% 0,3-0,67)), а аллель A чаще – в 31% случаев по сравнению с 17% ($\chi^2=15,99$, p<0,001, ОШ 2,2 (ДИ 95% 1,48-3,26)). Неблагоприятный эффект данного полиморфизма реализуется, вероятно, путем усиления воспалительного ответа организма.

При анализе распределения полиморфных вариантов «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы по общей модели были получены статистически значимые различия между исследуемыми группами по генам GSTM и GSTP. В связи с этим представляет интерес распределение полиморфных аллелей этих же генов (мультипликативная модель), анализ представлен в таблице 35.

Таблица 35. Распределение полиморфных аллелей «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+	516	92,5	153	68,3	75,53	<0,01	5,7(3,73-8,69)
	del	42	7,5	71	31,7			0,18(0,11-0,27)
GSTP A313G	A	484	86,7	187	83,5	1,39	0,24	1,29(0,84-1,99)
	G	74	13,3	37	16,5			0,77(0,5-1,19)
GSTP C341T	C	494	88,5	186	83	4,25	0,04	1,58(1,02-2,44)
	T	64	11,5	38	17			0,63(0,41-0,98)
GSTT N/del	+	516	92,5	209	93,3	0,16	0,69	0,88(1,62-0,48)
	del	42	7,5	15	6,7			1,13(0,62-2,09)
GPX1 C593T	C	332	59,5	148	66,1	2,91	0,09	0,75(0,55-1,04)
	T	226	40,5	76	33,9			1,33(0,96-1,83)
MnSOD A251G	A	232	41,6	104	46,4	1,53	0,22	0,82(0,6-1,12)
	G	326	58,4	120	53,6			1,22(0,89-1,66)

Примечание: n – число обследованных в группе x2; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

При использовании мультипликативной модели результаты аналогичны общей. Мажорный аллель гена GSTM в основной группе выявлен в 92,5% случаев, а в контрольной – в 68,3%, а «нулевой» полиморфный аллель соответственно в 7,5% и 31,7% случаев ($\chi^2=75,53$, p<0,001). При анализе полиморфизма GSTP C341T также установлено, что аллель С чаще встречался у пациенток с осложнениями беременности, а полиморфный аллель Т – у женщин, у которых беременность протекала без осложнений и благополучно завершилась ($\chi^2=4,25$, p=0,04).

Мультипликативная модель анализа полиморфных вариантов генов, регулирующих рецепторы половых стероидов представлена в таблице 36. При анализе полиморфных аллелей также, как и в рамках общей модели анализа, в генах рецепторов эстрогенов и прогестерона статистически значимых различий между пациентками групп 1.1 и 1.2 не выявлено.

Таблица 36. Распределение полиморфных аллелей генов рецепторов половых гормонов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=558)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	T	255	45,7	117	52,2	2,73	0,1	0,77(0,56-1,05)
	C	303	54,3	107	47,8			1,3(0,95-1,77)
ESR2 A1730G	A	419	75,1	178	79,5	1,69	0,19	0,78(0,53-1,14)
	G	139	24,9	46	20,5			1,28(0,88-1,87)
PRG G2721T	G	521	93,4	202	90,2	2,33	0,13	1,53(0,88-2,66)
	T	37	6,6	22	9,8			0,65(0,37-1,13)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Следующим этапом генетического анализа полученного материала стали расчеты распределения полиморфных вариантов генов с использованием доминантной и рецессивной модели анализа. При использовании доминантной модели суммарно оценивается частота генотипов, содержащих полиморфный аллель (гетерозиготный и полиморфный гомозиготный генотипы). При использовании рецессивной модели суммарно оценивается частота гомозиготного «мажорного» генотипа и гетерозиготного генотипа.

Анализ полиморфных вариантов генов, регулирующих систему гемостаза, на основе доминантной и рецессивной модели представлен в таблице 37. Полиморфные генотипы гена F13 GA+AA суммарно встречались существенно реже в основной группе – у 100 (35,8%) пациенток, в контрольной группе они выявлялись чаще – у 63 (56,3%) пациенток ($\chi^2=13,69$, p<0,001, ОШ=0,43, ДИ 0,27-0,68, доминантная модель). Для гена PLAT различия были получены при использовании рецессивной модели – мажорный гомозиготный и гетерозиготный генотипы (CC+CT) суммарно чаще встречались в основной группе – у 250 (89,6%), чем в контрольной – 87 (77,7%), различия статистически достоверны ($\chi^2=9,55$, p=0,002, ОШ=2,47, ДИ

1,37-4,46). Это свидетельствует о неочевидных, но потенциально существенных нарушениях в регуляции коагуляционных свойств крови у пациенток основной группы.

Таблица 37. Распределение полиморфных генотипов генов системы гемостаза у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	GG+GA	252	90,3	107	95,5	2,89	0,09	0,44(0,16-1,16)
	GA+AA	89	31,9	36	32,1	0,00	0,96	0,99(0,62-1,58)
F2 G-20210A	GG+GA	279	100	112	100	0,00	1	-
	GA+AA	9	3,2	1	0,9	1,74	0,19	3,7(0,46-29,55)
F5 G1691A	GG+GA	279	100	112	100	0,00	1	-
	GA+AA	8	2,9	6	5,4	1,43	0,23	0,51(0,18-1,54)
F7 G10976A	GG+GA	277	99,3	109	97,3	2,43	0,12	3,81(0,63-23,12)
	GA+AA	61	21,9	23	20,5	0,08	0,77	1,08(0,63-1,86)
F13 G103A	GG+GA	259	92,8	106	94,6	0,42	0,52	0,73(0,28-1,88)
	GA+AA	100	35,8	63	56,3	13,69	<0,01	0,43(0,27-0,68)
PLAT C7351T	CC+CT	250	89,6	87	77,7	9,55	<0,01	2,47(1,37-4,46)
	CT+TT	148	53	64	57,1	0,54	0,46	0,85(0,54-1,32)
PAI1 -657 5G/4G	5G5G+ 5G4G	191	68,5	84	75	1,64	0,2	0,72(0,44-1,19)
	5G4G+ 4G4G	212	76	85	75,9	0,04	0,84	1,05(0,63-1,75)
PROC A2583T	AA+AT	167	60	78	69,6	2,9	0,09	0,67(0,42-1,07)
	AT+TT	188	67,4	73	65,2	0,18	0,68	1,1(0,69-1,75)
ITGA2 C807T	CC+CT	200	71,7	84	75	0,44	0,51	0,84(0,51-1,39)
	CT+TT	203	72,8	79	70,5	0,2	0,66	1,12(0,69-1,81)
ITGB3 T176C	TT+TC	262	93,9	105	93,8	0,00	0,95	1,03(0,41-2,55)
	TC+CC	107	38,4	32	28,6	3,33	0,07	1,56(0,97-2,5)
GPVI A683G	AA+AG	267	95,7	106	94,6	0,2	0,65	1,26(0,46-3,44)
	AG+GG	72	25,8	27	24,1	0,12	0,73	1,1(0,66-1,82)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Доминантная и рецессивная модель анализа полиморфизмов генов

фолатного цикла, представлена в таблице 38.

Таблица 38. Распределение полиморфных генотипов генов фолатного цикла у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	CC+CT	238	85,3	97	86,6	0,11	0,74	0,9(0,47-1,7)
	CT+TT	129	46,2	60	53,6	1,72	0,19	0,75(0,48-1,16)
MTHFD G1958A	GG+GA	225	80,6	89	79,5	0,07	0,79	1,08(0,62-1,86)
	GA+AA	165	59,1	73	68,8	1,22	0,27	0,77(0,49-1,22)
MTR A2756G	AA+AG	262	93,9	99	88,4	3,43	0,06	2,02(0,94-4,32)
	AG+GG	78	28	33	29,5	0,09	0,77	0,93(0,57-1,51)
MTRR A66G	AA+AG	189	67,7	81	72,3	0,78	0,38	0,8(0,49-1,3)
	AG+GG	209	74,9	90	80,4	1,32	0,25	0,73(0,42-1,25)
CBS 844 D/I	DD+DI	277	99,3	109	97,3	0,58	0,45	0,64(0,17-2,29)
	DI+II	10	3,6	6	5,4	0,64	0,42	0,66(0,23-1,85)
SLC19A1 T80C	TT+TC	218	78,1	99	88,4	5,48	0,02	0,47(0,24-0,89)
	TC+CC	160	57,3	52	46,4	3,84	0,051	1,55(0,99-2,41)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

При анализе генов фолатного цикла с использованием доминантной и рецессивной моделей значимых для большинства генов различий между основной и контрольной группами не обнаружено. Статистически существенные различия выявлены лишь при анализе полиморфизма SLC19A1 T80C при использовании рецессивной модели. Генотипы TT+TC в группе 1.1 выявлены у 218 (78,1%) пациенток, а в группе 1.2 – у 99 (88,4%) пациенток ($\chi^2=5,48$, p=0,019, ОШ=0,47, ДИ 0,24-0,89).

О возможной роли генов, контролирующих функциональное состояние эндотелия и ренин-ангиотензин-альдостероновую систему, говорилось ранее. В таблице 39 представлены результаты анализа распределения этих генов на основе доминантной и рецессивной модели.

Таблица 39. Распределение полиморфных генотипов генов «дисфункции эндотелия» и генов РААС у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	GG+GT	254	91	104	92,9	0,34	0,56	0,78(0,34-1,79)
	GT+TT	100	35,8	38	33,9	0,13	0,72	1,09(0,69-1,73)
NOS3 G894T	GG+GT	275	98,6	108	96,4	1,82	0,18	2,55(0,2-10,36)
	GT+TT	123	44,1	49	43,8	0,00	0,95	1,01(0,65-1,58)
NOS3 VNTR	5R5R+5R4R	269	96,4	107	95,5	0,17	0,68	1,26(0,42-3,76)
	5R4R+4R4R	99	35,5	34	30,4	0,94	0,33	1,26(0,78-2,02)
CYP11B2 G-344A	GG+GA	206	73,8	93	83	3,76	0,052	0,58(0,33-1,01)
	GA+AA	183	65,6	84	75	3,27	0,07	0,64(0,38-1,04)
ACE Alu I/D	II+ID	223	79,9	93	83	0,5	0,48	0,81(0,46-1,44)
	ID+DD	206	73,8	84	75	0,06	0,81	0,94(0,56-1,56)
AGT A704G	AA+AG	201	72	86	76,8	0,92	0,34	0,78(0,47-1,3)
	AG+GG	188	67,4	81	72,3	0,91	0,34	0,79(0,49-1,28)
ADD1 G1378T	GG+GT	258	92,5	107	95,5	1,21	0,27	0,57(0,21-1,56)
	GT+TT	96	34,4	34	30,4	0,59	0,44	1,2(0,75-1,93)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p < 0,05$

При анализе полиморфных генотипов генов «дисфункции эндотелия» и генов РААС при использовании доминантной и рецессивной модели статистически достоверных различий между исследуемыми группами не выявлено, также как они не были выявлены при использовании мультипликативной модели.

Углубленный анализ состояния генетических механизмов регуляции иммунной системы представляет как теоретический, так и практический интерес, так как неизбежное при беременности вторжение антигенно чужеродных агентов также неизбежно должно вызывать ответную реакцию иммунной системы. Проблема заключается лишь в степени выраженности и характере этой реакции. Таблица 40 содержит результаты анализа

распределения генов, определяющих некоторые параметры гуморального иммунитета.

Таблица 40. Распределение полиморфных генотипов генов цитокинов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Аллель	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	GG+GA	253	90,7	104	92,8	0,48	0,49	0,75(0,32-1,71)
	GA+AA	129	46,2	60	53,6	1,72	0,19	0,75(0,48-1,16)
IL1 β G+3953A	GG+GA	253	90,7	108	92,8	3,73	0,053	0,36(0,12-1,06)
	GA+AA	147	52,7	34	30,4	14,4	<0,01	2,46(1,53-3,92)
TNF-a G-308A	GG+GA	265	94,9	109	97,4	1,05	0,31	0,52(0,15-1,85)
	GA+AA	49	17,5	23	20,6	0,47	0,49	0,82(0,47-1,43)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

По частоте встречаемости полиморфных вариантов гена IL1 β (полиморфизм G+3953A) статистически значимые различия получены при использовании доминантной модели: генотипы, содержащие полиморфный аллель A, в группе 1.1 выявлены у 147 (52,7%), а в группе 1.2 – у 34 (30,4%) ($\chi^2=14,4$, p<0,001, ОШ=2,46, ДИ 1,53-3,92).

Сложная система детоксикации и антиоксидантной защиты контролируется рядом генных сетей [23, 89, 97, 222, 246]. Анализ распределения полиморфных вариантов этих генов при использовании доминантной и рецессивной моделей представлены в таблице 41.

При анализе генов системы детоксикации по доминантной и рецессивной модели выявлены статистически значимые расхождения между исследуемыми группами по ряду позиций. В случае с полиморфизмом в гене GSTM существенные различия выявлены при использовании и доминантной, и рецессивной моделей. Мажорный гомозиготный генотип и гетерозиготный генотип суммарно чаще встречались в группе 1.1 – у 258 (92,5%) по

сравнению с 80 (71,5%) в группе 1.2. ($\chi^2=30,21$, $p<0,001$, ОШ 4,91 (ДИ 95% 2,68-9)). Генотипы, в которых имеется гетеро- или гомозиготная делеция гена GSTM, чаще выявлялись в группе 1.2 – у 39 (34,9%) пациенток, в группе 1.1 они были определены только у 21 (7,5%) ($\chi^2=45,83$, $p<0,001$, ОШ 0,15, ДИ 0,08-0,28)). Для гена GSTP (полиморфизм С341Т) статистически значимые различия выявлены при использовании доминантной модели – генотип СС встречался чаще в основной группе, полиморфные генотипы СТ+ТТ – в контрольной. Суммарно частота встречаемости СТ+ТТ в основной группе составила 17,6%(49 пациенток), а в контрольной – 30,3% (34 пациенток) ($\chi^2=7,82$, $p=0,005$, ОШ 0,49, ДИ 0,29-0,81).

Таблица 41. Распределение полиморфных генотипов «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Гено типы	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+/+ + +/del	258	92,5	80	71,5	30,21	<0,01	4,91(2,68-9)
	+/del + del/del	21	7,5	39	34,9	45,83	<0,01	0,15(0,08-0,28)
GSTP A313G	AA+AG	263	94,3	106	94,6	0,02	0,88	0,93(0,35-2,44)
	AG+GG	58	20,8	31	27,7	2,15	0,14	0,69(0,41-1,14)
GSTP C341T	CC+CT	264	94,6	108	96,4	0,56	0,45	0,65(0,21-2,01)
	CT+TT	49	17,6	34	30,3	7,82	0,01	0,49(0,29-0,81)
GSTT N/del	+/+ + +/del	265	95	107	95,6	0,05	0,82	0,88(0,31-2,51)
	+/del + del/del	28	10	10	9	0,11	0,74	1,14(0,53-2,43)
GPX1 C593T	CC+CT	262	93,8	110	98,2	3,21	0,07	0,28(0,06-1,23)
	CT+TT	219	74,9	74	66,1	3,12	0,08	1,53(0,95-2,47)
MnSOD A251G	AA+AG	181	64,9	83	74,2	3,11	0,08	0,65(0,4-1,05)
	AG+GG	228	81,7	91	81,3	0,01	0,91	1,03(0,58-1,81)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

При анализе полиморфных вариантов генов антиоксидантной системы

существенных различий между исследуемыми группами не выявлено.

Генетически детерминированный уровень рецепции к стероидным половым гормонам был подвергнут анализу с помощью доминантной и рецессивной модели. Результаты данного анализа представлены в таблице 42.

Таблица 42. Распределение полиморфных генотипов генов рецепторов половых гормонов у пациенток групп 1.1 и 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Гено-типы	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	TT+TC	197	71,06	85	74,9	1,11	0,29	0,76(0,46-1,26)
	TC+CC	221	79,2	80	71,4	2,73	0,1	1,52(0,92-2,52)
ESR2 A1730G	AA+AG	240	86,1	98	87,5	0,15	0,7	0,88(0,46-1,69)
	AG+GG	100	35,9	32	28,6	1,89	0,17	1,4(0,87-2,25)
PRG G2721T	GG+GT	270	96,8	106	94,6	0,98	0,32	1,7(0,59-4,89)
	GT+TT	28	10	16	14,4	1,45	0,23	0,67(0,35-1,29)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Различия по частоте встречаемости полиморфных вариантов генов рецепторов эстрогенов и прогестерона статистически не существенны, при использовании доминантной и рецессивной моделей результаты аналогичны тем, которые были получены при использовании общей и мультипликативной моделей.

3.2 Сочетания наиболее значимых полиморфных вариантов генов и риск «больших акушерских синдромов»

Не вызывает сомнения факт, что каждая человеческая особь является носителем практически бесконечного множества сочетаний различных

полиморфных вариантов генов, относящихся к разным генным сетям и контролирующим разнообразные фенотипические проявления. Если с этой точки зрения рассматривать изучаемые нами «большие акушерские синдромы», то в русле этих логических построений становится целесообразным исследование сочетаний наиболее значимых полиморфных вариантов генов, относящихся к одной и той же или разным генным сетям. Поэтому следующим этапом нашей научной работы был поиск различий по частоте встречаемости сочетаний различных полиморфных вариантов генов, предположительно имеющих важное значение в генезе «больших акушерских синдромов».

Наиболее значимые сочетания генотипов, установленные нами в результате предшествующих исследований, и отобранные в результате компьютерного моделирования представлены в таблице 43. Как следует из представленного анализа статистические закономерности встречаемости сочетаний различных полиморфных генотипов у пациенток исследуемых групп были получены по разнообразным генным сетям, включенных в нашу работу.

Понимая, что в сферу нашего внимания попала относительно небольшая часть генома наших пациенток способная оказать влияние на течение беременности, тем не менее мы полагаем возможным ограничиться данной выборкой, как наиболее значимой с теоретических и практических позиций. Иными словами представленный объем исследования генотипа, на наш взгляд, позволяет не только обосновать некоторые патогенетические значимые положения, касающиеся генеза «больших акушерских синдромов», но и разработать практические рекомендации по их прогнозированию и, возможно, профилактике. Подробный анализ значения отдельных сочетаний полиморфных генотипов представлен в виде графических фигур, наглядно демонстрирующих все возможные их варианты.

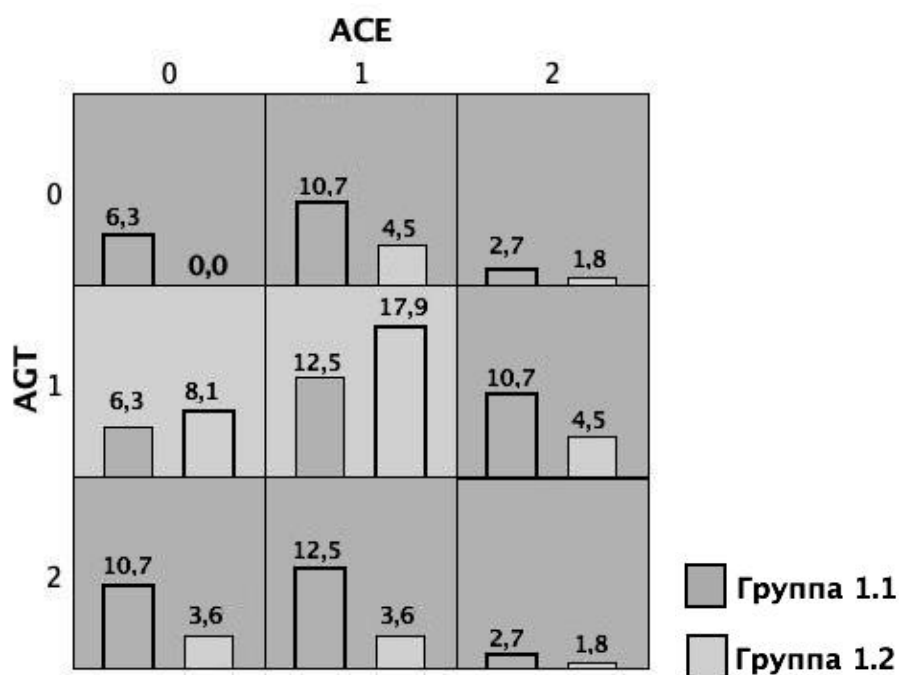
Таблица 43. Сочетания полиморфных вариантов генов в исследуемых группах

Сочетание полиморфных генотипов	Группа 1.1 (n=279)		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
	абс.	%	абс.	%			
ACE Alu I/D ID + AGT A704G GG	35	12,5	4	3,6	7,17	0,007	3,87(1,34-11,16)
AGT A704G GG + MTRR A66G AG	38	13,6	4	3,6	8,42	0,004	4,26(1,48-12,22)
AGT A704G AA + MTRR A66G AG	3	1,1	14	12,5	25,08	0,000	0,08(0,02-0,27)
AGT A704G AG + MTRR A66G AG	23	8,2	20	17,9	6,77	0,009	0,45(0,23-0,86)
F7 G10976A GG + AGT A704G GG	59	21,1	5	4,5	16,25	0,000	7,74(2,23-14,71)
F7 G10976A GG + F13 G103A GG	109	39,1	11	9,8	32,14	0,000	5,89(3,02-11,47)
F7 G10976A GG + ITGA2 C807T CC	70	25,1	4	3,6	24,12	0,000	9,04(25,4-3,22)
F7 G10976A GG + MTHFR C677T CC	97	34,8	9	8	38,06	0,000	11,41(4,5-28,91)
CYP11B2 G-344A GA + IL1 β G+3953A GA	56	20,1	4	3,6	16,74	0,000	6,78(2,39-19,18)
PAI1 -657 5G/4G 5G4G + IL1 β G+3953A AA	53	19	5	4,5	13,34	0,000	5,02(1,95-12,92)
PAI1 -657 5G/4G 4G4G + IL1 β G+3953A AA	38	13,6	2	1,8	12,19	0,001	8,67(2,06-36,59)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 1.1 и 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Рисунок 6 демонстрирует сочетания полиморфных вариантов генов ангиотезинпревращающего фермента (АПФ) и ангиотензиногена.

Получены статистически значимые различия по частоте встречаемости сочетания гетерозиготного генотипа ACE Alu I/D ID и полиморфного гомозиготного генотипа AGT A704G GG. В основной группе данное сочетание было выявлено у 35 (12,5%) пациенток, а в контрольной лишь у 4 (3,6%) ($\chi^2=7,17$, $p=0,007$, ОШ=3,87, ДИ 1,34-11,16). Причем, когда мы анализировали данные гены по отдельности, достоверных различий при использовании всех использованных нами моделей (общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной) получено не было. Вероятно, по отдельности полиморфные варианты в этих генах незначительно изменяют функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, но при их сочетании они потенцируют неблагоприятный эффект друг друга и могут приводить к существенному увеличению риска осложнений беременности.

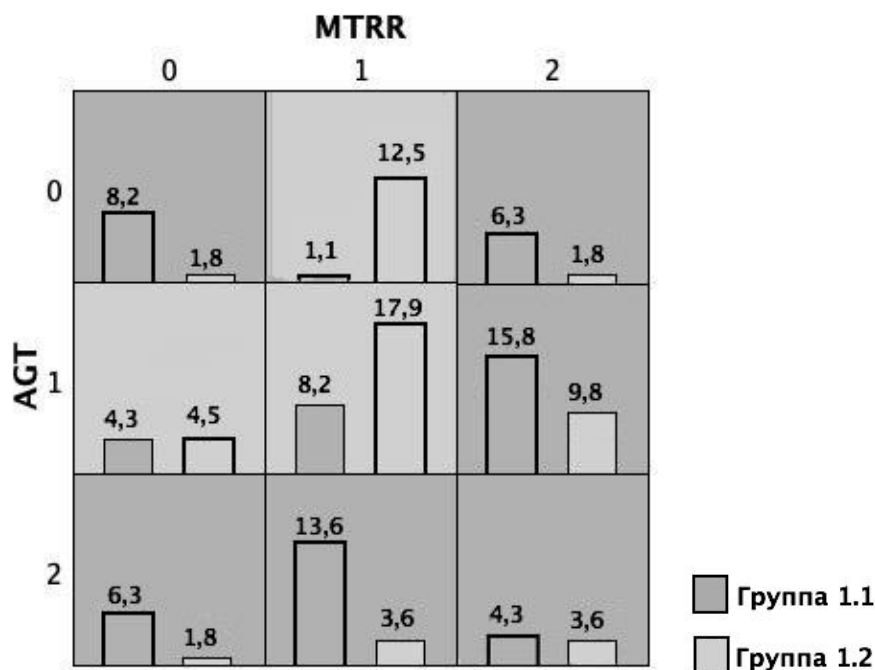


Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 6. Сочетания генотипов в генах ACE (Alu I/D) и AGT (A704G), %

Следующее сочетание полиморфных генотипов также касается, гена

контролирующего синтез ангиотензиногена, и гена метионинсинтазы-редуктазы, регулирующего метаболизм фолиевой кислоты (рисунок 7).



Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

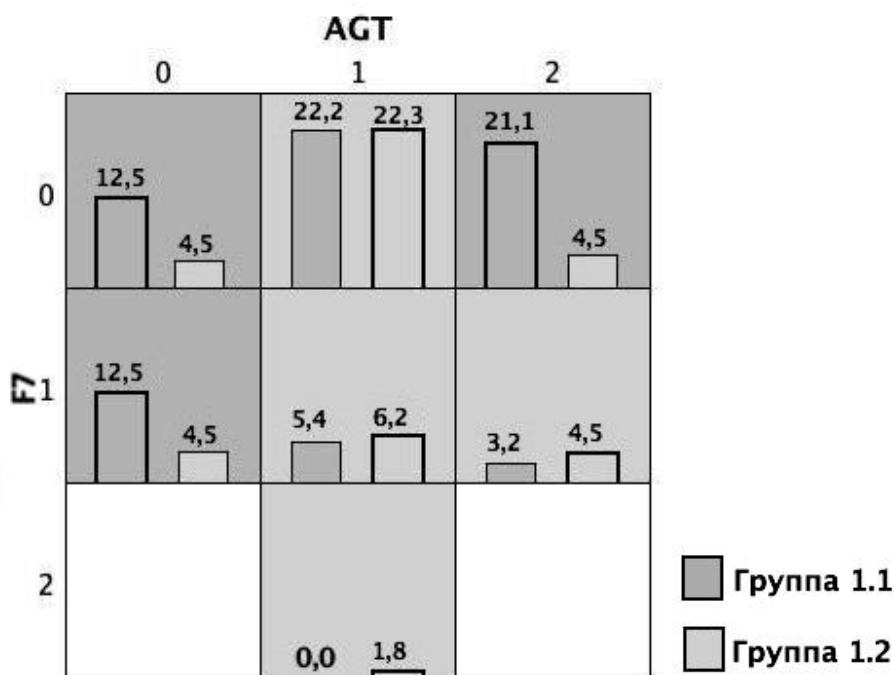
Рисунок 7. Сочетания генотипов в генах AGT (A704G) + MTRR (A66G), %

В группе 1.1 значительно чаще, чем в группе 1.2 встречалось сочетание полиморфного гомозиготного генотипа AGT A704G GG с гетерозиготным генотипом MTRR A66G AG – соответственно у 38 (13,6%) и 4 (3,6%) пациенток ($\chi^2=8,42$, $p=0,004$, ОШ=4,26, ДИ 95% 1,48-12,22). Сочетание «дикого» генотипа AGT A704G AA с гетерозиготным генотипом MTRR A66G AG в группе 1.1, напротив, встречалось существенно реже – только у 3 (1,1%) пациенток по сравнению с 14 (12,5%) пациентками в группе 1.2 ($\chi^2=25,08$, $p<0,001$, ОШ=0,08, ДИ 95% 0,02-0,27). Частота двух гетерозиготных генотипов также чаще выявлялась в контрольной группе – у 20 (17,9%) участниц, по сравнению с 23 (8,2%) пациенток основной группы ($\chi^2=6,77$, $p=0,009$, ОШ=0,45, ДИ 0,23-0,86). По частоте встречаемости гетерозиготного генотипа GA в гене MTRR между исследуемыми группами

различий получено не было. Вероятно, эффект данного генотипа зависит от наличия или отсутствия полиморфных вариантов в других генах. Например, в сочетании с полиморфным гомозиготным генотипом в гене AGT он может повышать риск «больших акушерских синдромов», а в комбинации с «диким» или гетерозиготным генотипом может оказывать некий протективный эффект.

Рисунок 8 представляет графическую интерпретацию сочетания у пациенток исследуемых групп полиморфных вариантов генов регулирующих ангиотензин и седьмой коагуляционный фактор FVII.

В группе 1.1 существенно чаще встречалось сочетание генотипа GG гена F7 и гомозиготного генотипа GG гена AGT – соответственно 59 (21,1%) и 5 (4,5%) в основной и контрольной группах ($\chi^2=16,25$, $p<0,001$, ОШ=7,74, ДИ 95% 2,23-14,71).



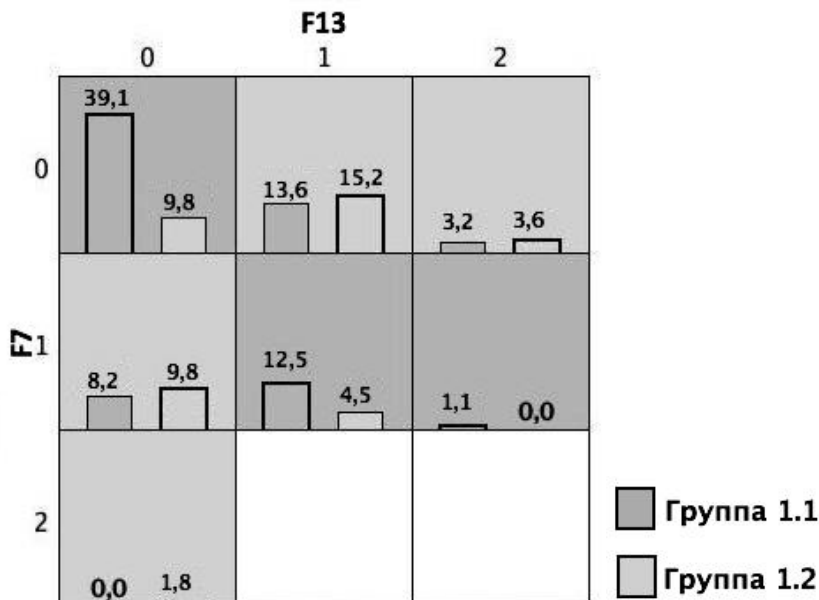
Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 8. Сочетания генотипов в генах AGT (A704G) + F7 (G10976A), %

В ряде работ [129] ранее было высказано предположение о возможном

протективном эффекте полиморфного аллеля А в гене F7 в отношении тромбофилии и осложненного течения беременности, и, соответственно, об увеличении риска у носителей генотипа GG. В нашем исследовании при анализе отдельных генов и при использовании общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной моделей мы таких данных не выявили. Тем не менее, в комбинации с другими генами этот эффект может быть более заметен – как, например, в показанном на рисунке 8 сочетании с гомозиготным полиморфизмом AGT A704G.

Роль системы гемостаза в этиопатогенезе «больших акушерских синдромов» представляется вполне очевидной, однако отдельные полиморфные варианты генов, контролирующих конкретные факторы этой системы и ее составляющих в нашей работе в большинстве случаев не продемонстрировали статистически существенных различий между исследуемыми группами. В то же время анализ сочетания полиморфных генотипов коагуляционных факторов F13 и F7 показал статистически значимые различия между пациентками исследуемых групп (рисунок 9).

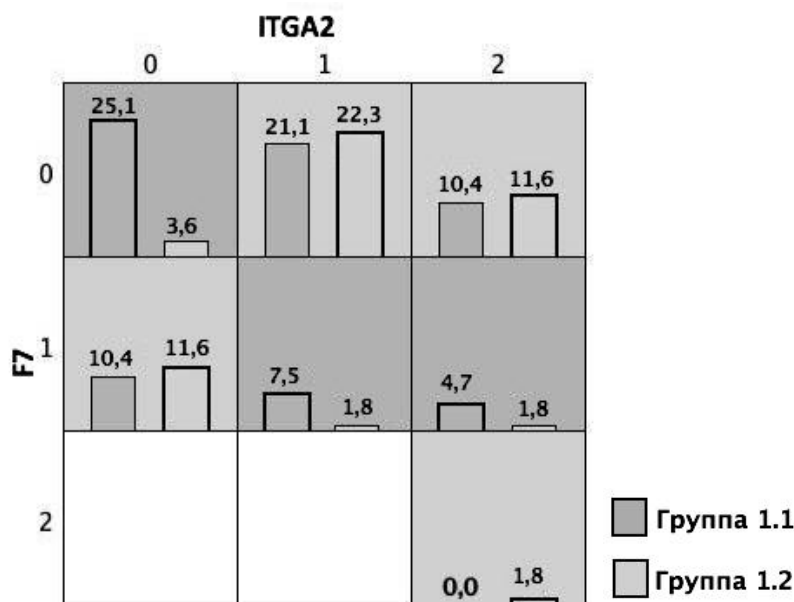


Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 9. Сочетания генотипов в генах F13 (G103A) + F7 (G10976A), %

В основной группе существенно чаще, чем в контрольной выявлялось сочетание мажорных гомозиготных генотипов генов F7 и F13: у 109 (39,1%) пациенток группы 1.1 и только у 11 (9,8%) пациенток группы 1.2 ($\chi^2=32,14$, $p<0,001$, ОШ=5,89, ДИ 3,02-11,47). Можно сделать заключение, что наличие хотя бы 1 полиморфного аллеля в одном из этих генов снижает риск акушерских осложнений. О протективном эффекте полиморфных вариантов этих генов в отношении тромбофилии и осложнений беременности ранее упоминалось в научной литературе [184, 333]. Выше нами были описаны статистически значимые различия по частоте встречаемости гомозиготного генотипа GG в гене F13 (он чаще встречался в основной группе) при использовании общей модели и полиморфных генотипов GA+AA при использовании доминантной модели (они чаще встречались в группе 1.2).

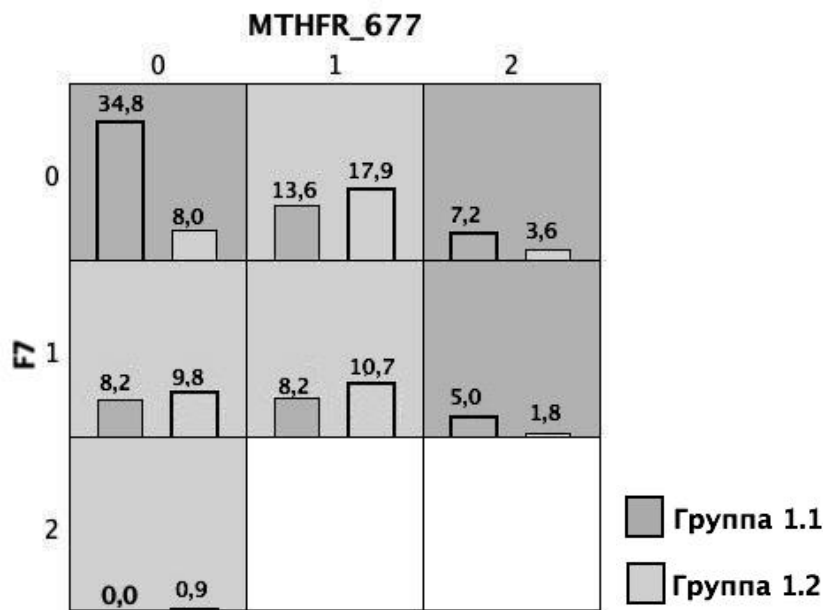
В группе 1.1 также чаще встречалось сочетание генотипа F7 G10976A GG и ITGA2 C807T CC – у 70 (25,1%) пациенток по сравнению с 4 (3,6%) в группе 1.2 ($\chi^2=24,12$, $p<0,001$, ОШ=9,04, ДИ 3,22-25,4) (рисунок 10).



Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 10. Сочетания генотипов в генах ITGA2 (C807T) + F7 (G10976A), %

Генотип CC в 677 положении гена MTHFR в сочетании с генотипом GG в 10976 позиции гена F7 тоже чаще регистрировался в основной группе ($\chi^2=28,9$, $p<0,001$, ОШ=6,1, ДИ 2,96-12,59) (рисунок 11). В группе 1.1 носительницами данной комбинации были 97 (34,8%) пациенток, а в группе 1.2 – только 9 (8%) пациенток. Это наглядно иллюстрирует тот факт, что ряд полиморфизмов в определенных комбинациях обладает протективным эффектом, а отсутствие полиморфных вариантов не всегда свидетельствует о низком риске патологии.

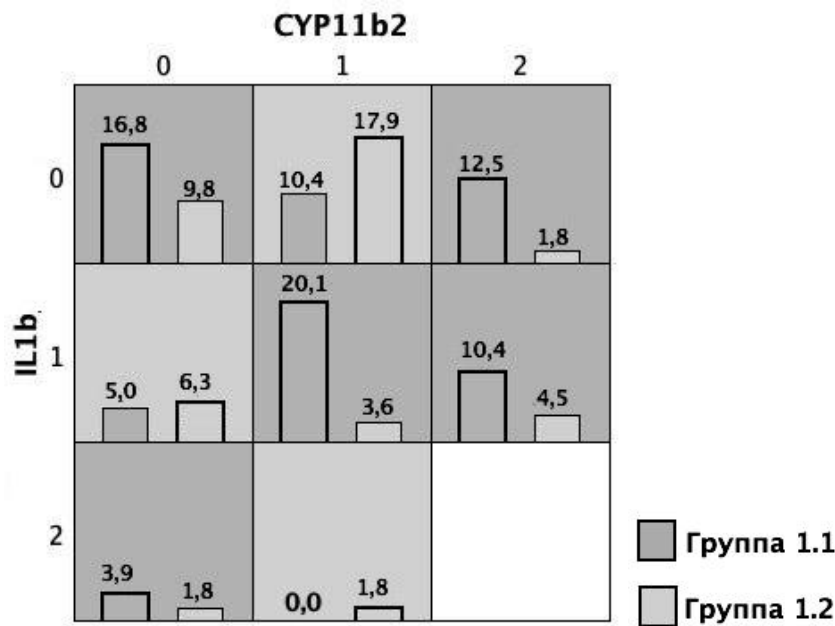


Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 11. Сочетания генотипов в генах MTHFR (C677T) + F7 (G10976A), %

У пациенток, у которых в течение беременности возникли осложнения (группа 1.1), чаще встречалось сочетание гетерозиготных генотипов GA CYP11B2 G-344A и GA IL1 β G+3953A (рисунок 12). В основной группе такая комбинация была у 56 (20,1%) пациенток, а в контрольной – у 4 (3,6%) ($\chi^2=16,74$, $p<0,001$, ОШ=6,78, ДИ 2,39-12,92). При этом сам по себе гетерозиготный генотип GA в гене CYP11B2 чаще встречался в группе 1.2.

Это еще раз подтверждает мысль, что само по себе отсутствие или наличие определенных полиморфизмов в генотипе пациентки не дает оснований для выводов о повышенном риске ряда состояний – один и тот же генетический вариант в зависимости от межгенных взаимодействий может проявлять себя совершенно по-разному. Более обоснован подход, основанный на анализе именно сочетаний и комбинаций полиморфных аллелей в нескольких генах, хотя такой анализ намного сложнее.

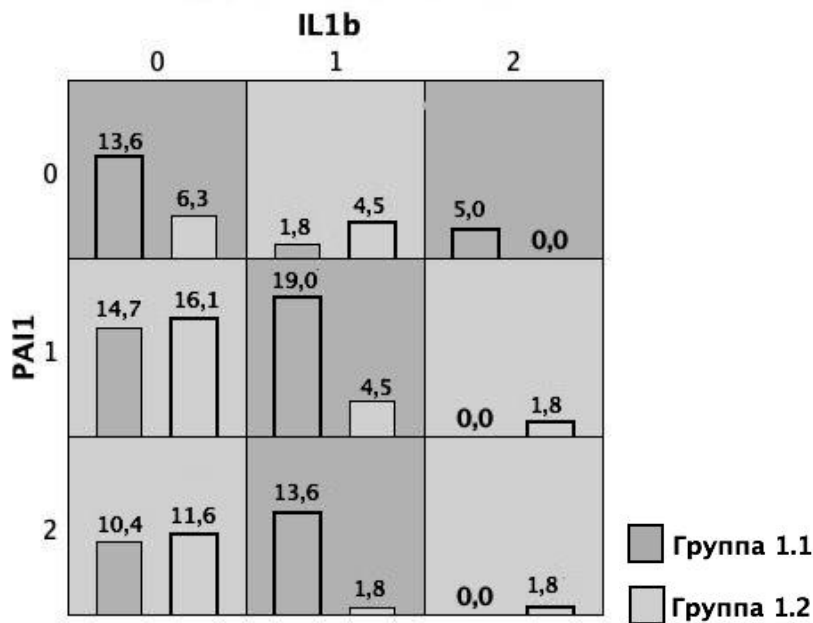


Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 12. Сочетания генотипов в генах CYP11B2 (G-344A) + IL1 β (G+3953A), %

При анализе сочетаний генотипов генов PAI1 (полиморфизм -657 5G/4G) и IL1 β (полиморфизм G+3953A) расхождение между исследуемыми группами выявлена по частоте встречаемости двух комбинаций (рисунок 13). В основной группе достоверно чаще встречалась комбинация гетерозиготного генотипа 5G4G в гене PAI1 с полиморфным гомозиготным генотипом AA в гене IL1 β , а также комбинация полиморфных гомозиготных генотипов обоих генов. Эти комбинации в основной группе встречались

соответственно у 53 (19%) пациенток и 38 (13,6%) пациенток. В контрольной группе первый вариант сочетаний был диагностирован у 5 (4,5%) пациенток, а 2 – только у 2 (1,8%). Различия статистически достоверны. В гене PAI1 гетерозиготный вариант выявлялся даже чаще, чем гомозигота 5G5G, что позволяет считать его вариантом нормы. Впрочем, при неблагоприятной комбинации даже такой частый полиморфный вариант может играть определенную роль в развитии осложнений беременности. Например, в данном случае можно предположить, что незначительное снижение фибринолиза, к которому может приводить полиморфизм PAI1 -657 5G/4G, не оказывает значимого влияния на течение беременности, но в сочетании с усилением воспалительных реакций, обусловленных полиморфизмом IL1 β G+3953A, местные иммунные реакции и функционирование системы гемостаза искажаются более значительно, что может проявляться клинически.



Примечание: 0 – мажорный гомозиготный генотип, 1 – гетерозиготный генотип, 2 – полиморфный гомозиготный генотип. Светлые квадраты – сочетания, снижающие риск развития «больших акушерских синдромов», темные – повышающие риск.

Рисунок 13. Сочетания генотипов в генах PAI1 (-657 5G/4G) + IL1 β (G+3953A), %

Таким образом, нами было показано, что даже при построении

двухлокусных моделей сочетаний полиморфных генотипов, между исследуемыми группами выявлены существенные различия. Если же в модель прогнозирования включать большее количество локусов, межгенные взаимодействия могут быть еще более интересны. Мы утверждаем, что анализ отдельных полиморфных вариантов в генах, косвенно ассоциированных с осложнениями беременности, не целесообразен и не должен влиять на тактику практического врача при работе с пациенткой. Если использовать молекулярно-генетические исследования для анализа риска акушерской патологии в практике, требуются мультилокусные модели, учитывающие множественные межгенные сочетания, а также средовые воздействия. Кроме того, более эффективным нам представляется анализ генов из различных генных сетей.

3.3 Компьютеризированный прогноз «больших акушерских синдромов» на основе анализа полиморфных вариантов генов

Для упрощения применения в практических целях анализа на полиморфизмы в различных генах, на основе результатов данной работы создана компьютерная программа для оценки риска осложнений беременности «GOS RISK». Оформлено Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2020615790 (дата государственной регистрации в реестре программ для ЭВМ – 2 июня 2020 года).

Программа обеспечивает ввод и анализ совокупности генотипов, ассоциированных с повышенным риском осложнений беременности. В результате анализа введенных данных программа по заданному алгоритму формирует оценку риска осложнений беременности («повышенный» / «общепопуляционный»). Программа снабжена наглядным дружественным интерфейсом (рисунок 14), обеспечивающим реализацию функций программы.

Программа написана в среде визуального проектирования приложений

MS Visual Studio 98, visual basic 6.0 и является составным соединением и создана на основе платформы для разработки диагностических программ xGen IDS (свидетельство о регистрации №2008611796 от 7 мая 2008 г).

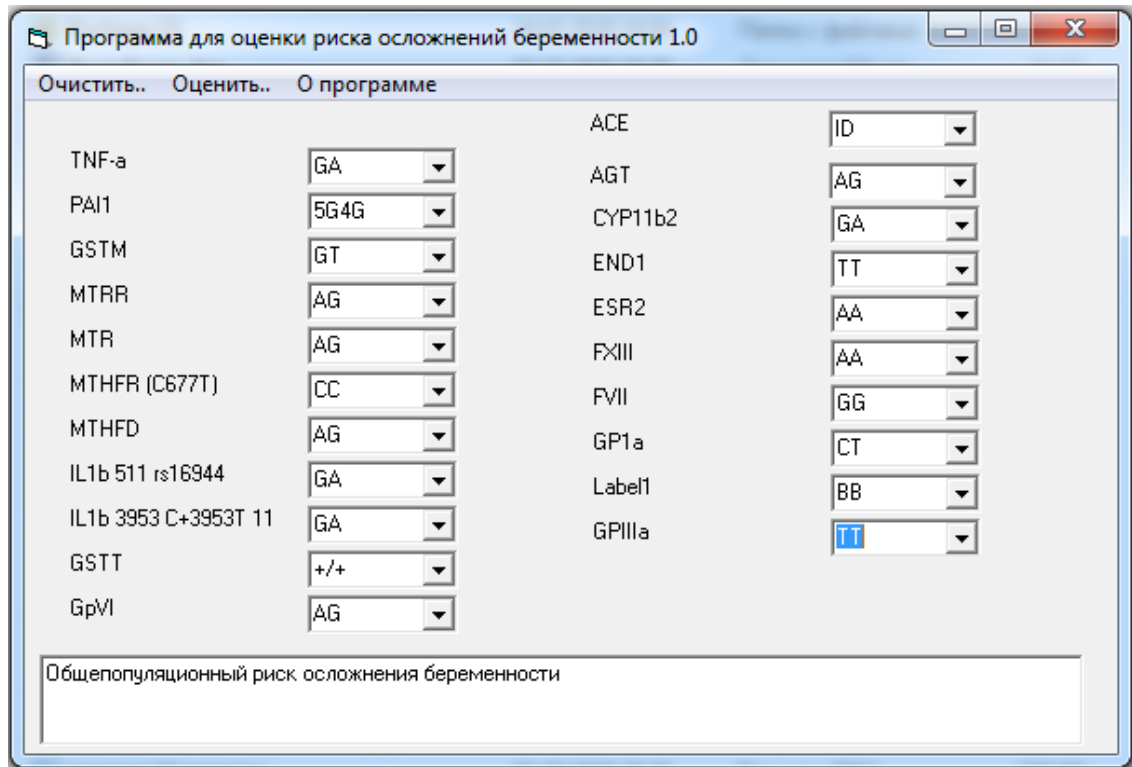


Рисунок 14. Интерфейс программы “GOS RISK”

Язык: Русский

Операционная система: Windows

Объем программы (в байтах)- 5,5 Мбайт

Для того, чтобы оценить риск осложненного течения гестации с помощью программы «GOS RISK» необходимо провести пациентке молекулярно-генетическое тестирование, для определения наличия полиморфизмов в генах TNF-a, PAI1, PLAT, MTR, MTRR, MTHFR (C677T), MTHFD, IL1b (2 полиморфизма), GSTT, GSTM, GPVI, ITGA2 (GPIa), ITGB3 (GPIIIa), ACE, AGT, CYP11b2, END1, ESR2, F7, F13. Далее полученные генотипы нужно ввести в программу и нажать клавишу “Оценить”. После этого в строке внизу диалогового окна появится определенный уровень риска осложнений беременности – “повышенный”, либо “общепопуляционный”.

Структура программы включает три модуля: модуль ввода информации о генотипе пациентки, предиктивный модуль и модуль объяснения, представляющий результаты прогноза в понятном для врача виде.

Система работает по принципу «черный ящик».

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic — операционная характеристика приемника). По результатам построения ROC-кривой показатель AUC (Area under ROC curve — площадь под ROC-кривой, с англ.) составил $0,836 \pm 0,024$, ДИ 95% 0,8-0,912 при $p=0,000$, что соответствовало высокому качеству модели для прогнозирования «Больших акушерских синдромов» (Рисунок 15).

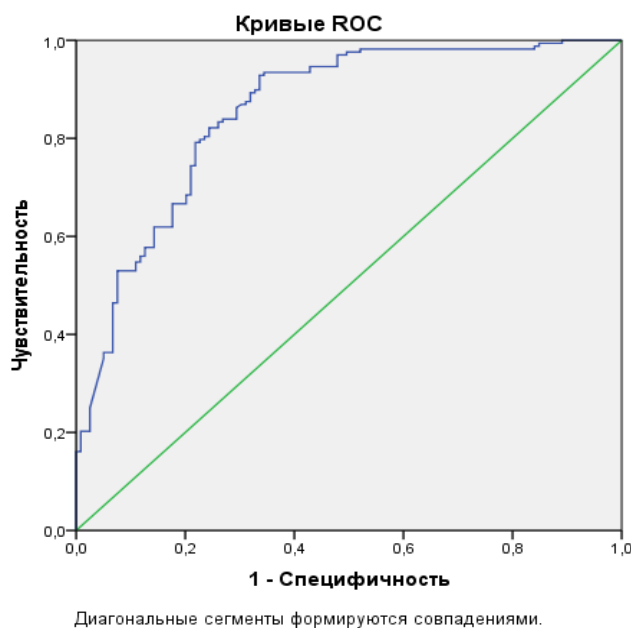


Рисунок 15. ROC-кривая модели прогнозирования «Больших акушерских синдромов» с помощью программы «GOS RISK»

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 70,8% и 78,8%, эффективность способа 74,8%.

ГЛАВА 4. ПОПУЛЯЦИОННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕНАТАЛЬНОГО ТЕСТА И ПРОГНОЗ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»

4.1 Оценка эффективности выделения групп риска беременных по хромосомной патологии плода на основе популяционных показателей НИПС

В течение нескольких последних десятилетий усилия специалистов, занимающихся проблемами репродукции и репродуктивных потерь (акушеров-гинекологов, перинатологов, генетиков, ультразвуковых диагностов и др.) были сконцентрированы на разработке методов выявления генетически детерминированной и обусловленной другими факторами патологии плода [3, 36, 42, 50, 232, 252, 266, 268, 278, 298, 323]. При этом результаты множества исследований демонстрируют очевидную ассоциацию полученных данных не только с установлением патологии плода, но и с осложненным течением беременности в виде «больших акушерских синдромов» вне зависимости от причинно-следственных связей [33, 168, 174, 303, 311, 312]. В последние годы в широкую клиническую практику, особенно, за рубежом стали внедряться методы детекции наиболее значимых анеуплоидий плода, основанные на сепарации и анализе свободной ДНК (free DNA) плода из сыворотки крови матери [87, 161, 268, 271, 347]. В связи с этим вполне логичными выглядят попытки использования новой информации не только по прямому назначению, но и с целью прогнозирования осложнений гестационного процесса [12, 62, 95, 135].

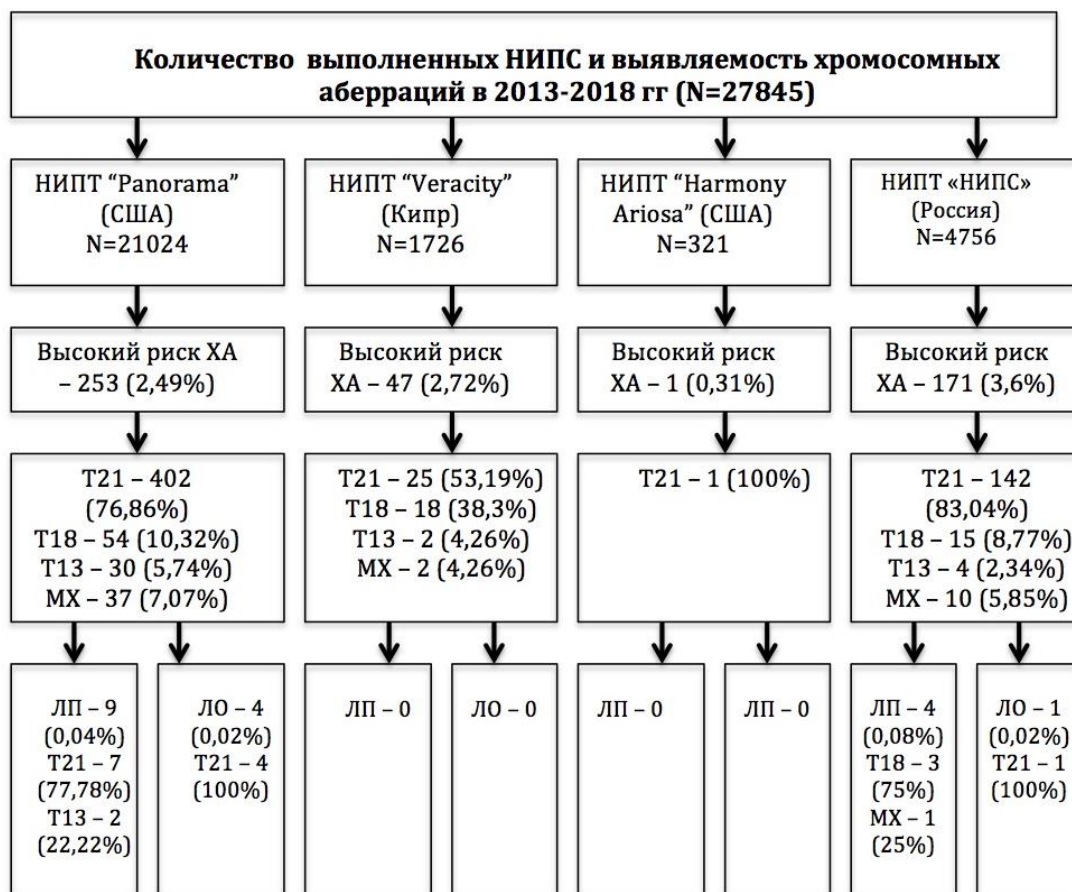
Многие исследования показали высокую чувствительность и специфичность НИПС и более высокую его эффективность, по сравнению со стандартным комплексом пренатальной диагностики (КПД) 1 триместра [87, 268, 270]. Однако количество исследований, посвященных оценке популяционной эффективности НИПС именно на жительницах России,

ограничено. Поэтому нам представлялось интересным провести популяционное исследование, подтверждающее сравнительную эффективность данного метода и целесообразность его широкого применения в клинической практике, не только с точки зрения выявления хромосомных аномалий, но предсказания формирования «больших акушерских синдромов».

В исследование были включены 27845 пациенток, которым был проведен НИПС в России в период с 1.01.2013г. по 31.12.2018г. Всем пациенткам, у которых был выявлен высокий риск хромосомных аномалий у плода по данным НИПС, была рекомендована инвазивная пренатальная диагностика.

У 21042 пациенток был сделан тест «Panorama» (лаборатория Natara, США), у 1726 – тест «Veracity» (NIPD Genetics, Кипр), у 321 – тест «Harmony Ariosa» (Roche, США), у 4756 – «НИПС» - патентованное название Российского теста (Геномед, Россия).

Необходимо отметить, что средний возраст пациенток, направленных на НИПС был несколько выше, чем средний возраст рожениц по России. На НИПС чаще всего направлялись женщины 34 (30-38) лет, тогда как по данным Росстата средний возраст рожениц в России в 2018 году составил 28,4 лет. Причем в других странах была отмечена аналогичная тенденция - НИПС проходят женщины более старшего возраста [230]. Это объясняется следующим образом: поскольку в настоящее время, несмотря на то, что ведущими экспертами признано, что НИПС показан всем беременным женщинам, в основном на него направляются женщины, у которых риск хромосомных аномалий у плода изначально повышен, а этот риск зависит, в том числе, от возраста матери [232, 298, 323]. При этом необходимо помнить, что более зрелый возраст рожаящих женщин напрямую ассоциирован и с более высоким риском развития «больших акушерских синдромов» [106, 292, 343, 354]. Рисунок 16 демонстрирует количество выполненных НИПС и структуру, выявленных при этом хромосомных аномалий у плода.



*ХА – хромосомные анеуплоидии, Т21 – трисомия 21, Т18 – трисомия 18, Т13 – трисомия 13, МХ – моносомия X, ЛП – ложно-положительный результат, ЛО – ложно-отрицательный результат

Рисунок 16. Количество проведенных НИПС и структура, выявленных хромосомных аномалий

При использовании различных вариантов НИПС в России в 2013-2018 году была выявлено 742 пациентки с высоким риском ХА у плода (2,66% среди всех пациенток). Большой удельный вес ХА в этой группе (по сравнению с общей популяцией) объясняется тем, что часто на НИПС направлялись пациентки, у которых уже был выявлен высокий риск по результатам стандартного комплекса пренатальной диагностики 1 триместра (о чем было сказано выше), либо пациентки у которых риск изначально оценивался как высокий, например, из-за возраста или рождения детей с хромосомными аномалиями в анамнезе. Только 8867 (31,8%) пациенток из общего количества включенных в группу по разным причинам выбрали НИПС в качестве теста первой линии.

Структура и частотные характеристики, выявленных при использовании НИПС хромосомных аномалий, представлена в таблице 44.

Таблица 44. Структура хромосомных аномалий, выявленных при использовании НИПС

Хромосомная аномалия	Количество выявленных случаев	Частота в исследуемой группе (n=27845)	Частота встречаемости среди живорожденных*	Частота встречаемости в общей популяции*
Трисомия 21 (синдром Дауна)	570	2,04% (1:50)	1/400-1/3000	1-5/10000
Трисомия 18 (синдром Эдвардса)	87	0,31% (1:330)	1/6000-1/8000	1-9/1000000
Трисомия 13 (синдром Патау)	36	0,11% (1:1000)	1/8000-1/15000	1-9/1000000
Моносомия X (синдром Тернера)	49	0,17% (1:800)	1:5000 (1:2500 новорожденных девочек)	1-5/10000
Итого	742	2,66% (1:38)	-	-

*по данным сайта orpha.net

Все пациентки, у которых по результатам НИПС был определен высокий риск трисомии 13, 18, 21 или моносомии X были направлены на инвазивную пренатальную диагностику (ИПД). В 4 (0,5%) случаях из 742 беременность самопроизвольно прервалась до получения пациенткой результата теста, о двух пациентках (0,25%) информации о результатах инвазивной пренатальной диагностики у нас не было. Две пациентки отказались от проведения инвазивной пренатальной диагностики, в итоге они родили детей, у которых клинически и цитогенетически был подтвержден синдром Дауна. В 3 случаях НИПС, который выявил высокий риск синдрома Дауна, был проведен уже в третьем триместре беременности, поэтому инвазивная диагностика не проводилась, у этих пациенток также родились дети с синдромом Дауна (клинически и цитогенетически подтвержденным). Инвазивная диагностика была проведена 731 пациентке (98,5% среди тех, у

кого по результатам НИПС был выявлен высокий риск). Наличие хромосомной аномалии у плода не подтвердилось в 12 случаях (1,64% среди тех, кому была проведена ИПД). Таким образом, среди пациенток, у которых была выявлен высокий риск ХА, в 724 (97,57%) случаях результат подтвердился (в 719 случаях методом ИПД, в 5 случаях – постнатально), в 12 (1,63%) случаях не подтвердился, в 6 (0,81%) случаях информации о пациентках нет.

В 9 случаях ложно-положительный результат был получен при использовании теста «Panorama» - 7 ложно-положительных случаев трисомии 21 и 2 ложно-положительных случая синдрома Патау. В 1 случае тест «Panorama» показал высокий риск по синдрому Патау (трисомия 13), а по результатам цитогенетического исследования биологического материала, полученного при амниоцентезе, был установлен синдром Эдвардса (трисомия 18). В 4 случаях ложно-положительный результат был получен при использовании теста «НИПС» – в 3 случаях была определена трисомия 18 хромосомы, которая при проведении инвазивной диагностики не подтвердилась, в 1 случае тест показал высокий риск по синдрому Тернера, а по УЗИ во 2 триместре был выявлен мужской пол у плода (от проведения инвазивной диагностики пациентка отказалась).

Среди тех пациенток, у которых по результатам НИПС был определен низкий риск ХА у плода, в 17560 случаях беременность завершилась рождением ребенка, не имеющим клинических признаков хромосомных аномалий, в 103 случаях произошла антенатальная гибель плода, в 9439 случаях информации об исходах беременности нет. Кроме этого, при использовании теста «Panorama» в 4 случаях был получен ложно-отрицательный результат, то есть тест продемонстрировал низкий риск по всем определяемым хромосомным аномалиям, а на самом деле у плодов был аномальный кариотип. Все эти 4 случая были связаны с наличием трисомии 21 у плодов. В 2 случаях во 2 триместре по УЗИ были выявлены маркеры хромосомных аномалий у плода, в связи с чем пациентки, несмотря на

результат НИПС, были направлены на инвазивную пренатальную диагностику, был выявлен синдром Дауна у плода, и беременность была прервана, в 2 случаях родился ребенок с синдромом Дауна.

Таким образом, частота ложно-отрицательных результатов при исследовании free-DNA плода в общей сложности составила 0,022% среди известных исходов беременности, 0,014% среди всех проведенных тестов. Частота ложно-положительных результатов оказалась 0,066%. При проведении стандартного скрининга, согласно данным Аудита-2018 [3] в г. Москва частота ложно-отрицательных результатов составила 0,025%, ложно-положительных результатов составила 3,5%, в Свердловской области эти показатели были соответственно 0,02% и 2,48% [3]. Таким образом, статистически достоверных различий по числу ложно-отрицательных результатов между НИПС и стандартным комплексом пренатальной диагностики не получено, однако количество ложно-положительных результатов при проведении НИПС существенно ниже и в г. Москва, и в Свердловской области ($p < 0,001$). Это позволяет рассчитывать на то, что при более широком внедрении НИПС количество инвазивных процедур, проводимых с целью исключения хромосомной патологии у плода, существенно снизится. Кроме того, обращает на себя внимание тот факт, что показатели эффективности пренатального скрининга разнятся в разных областях – в г. Москва и в Свердловской области частота пропущенных случаев одна из самых низких в стране, в ряде областей (например, в Московской области, она составила 0,47%, различия по сравнению с НИПС статистически значимы).

Исходя из известных нам исходов беременности, мы рассчитали общие показатели чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного результата (PPV) и прогностической ценности отрицательного результата (NPV) в целом для всех тестов (рассчитать данные показатели для отдельных тестов не представлялось возможным, поскольку при разделении исследуемой группы на 4 части, выборка по

каждому тесту оказывается слишком маломощной, для получения статистически значимых различий, что не позволяет обосновать выводы). Кроме этого, мы не рассчитывали чувствительность и специфичность метода для моносомии X, поскольку синдром Тернера в большинстве случаев клинически сразу после рождения не проявляется, таким образом нам неизвестно, сколько было ложно-отрицательных и ложно-положительных результатов по данной патологии.

Результаты расчетов указанных выше показателей представлены в таблице 45. Чувствительность и специфичность стандартного комплекса пренатальной диагностики 1 триместра составляют соответственно 85-90% и 95%. Положительная предсказательная величина при этом достаточно низкая – около 5% [172].

Таблица 45. Чувствительность, специфичность, PPV, NPV НИПС в России (с 95% доверительным интервалом)

ХА	Чувствительность, % (ДИ 95%)	Специфичность, % (ДИ 95%)	PPV, % (ДИ 95%)	NPV, % (ДИ 95%)
Трисомия 21	99,29 (98,19-99,81)	99,94 (99,89-99,97)	98,07 (96,57-99,03)	99,97 (99,94-99,99)
Трисомия 18	100 (95,7-100)	99,98 (99,95-100)	96,55 (90,25-99,28)	100 (99,98-100)
Трисомия 13	100 (89,7-100)	99,99 (99,96-100)	94,44 (81,34-99,32)	100 (99,98-100)
ДИ 95% - 95%-й доверительный интервал, PPV – положительная предсказательная ценность, NPV – отрицательная предсказательная ценность				

В научной литературе описан ряд причин, по которым возможны ложные результаты НИПС [14, 87, 160, 360]. Причинами ложных результатов могут быть: недиагностированная дизиготная двойня с гибелью одного из эмбрионов в раннем сроке беременности, плацентарный мозаицизм, наличие мозаицизма у матери, злокачественные новообразования у беременной женщины [87, 110, 217, 347, 360]. Одной из возможных причин ложно-отрицательных результатов НИПТ, на наш взгляд, может рассматриваться и

раннее формирование плаценты ассоциированных осложнений беременности сопряженных с нарушениями развития раннего хориона и плаценты.

Нам удалось расследовать два ложно-отрицательных случая диагностики анеуплоидий: один случай синдрома Тернера (моносомия X хромосомы) и один случай синдрома Патау (трисомия 13).

В первом случае пациентка Т., 24 лет, прошла комплекс комбинированной пренатальной диагностики 1 триместра в сроке беременности 13 недель 6 дней. По результатам УЗИ установлено следующее: срок беременности 13 недель 6 дней, толщина воротникового пространства 2,45 мм, яремные мешки расширены до 2,3 мм, носовая кость визуализируется, сердцебиение плода 169 уд/мин. Уровень ХГЧ и РАРР-А соответствовал 1,75 МоМ и 0,29 МоМ. По синдрому Дауна (Т1) индивидуальный риск был определен 1:101, по синдрому Эдвардса (Т18) 1:12224, по синдрому Патау (Т13) - 1:63. От проведения ИПД пациентка отказалась, и через несколько дней после проведения стандартного пренатального скрининга 1 триместра была подвергнута НИПС («НИПС», Россия). Был выявлен высокий риск по синдрому Тернера (МХ), пол плода – женский, уровень фетальной фракции 7,11%. Поскольку серьезных пороков развития по УЗИ выявлено не было, а прогноз для жизни и здоровья при синдроме Тернера относительно благоприятный, к вопросу о проведении ИПД пациентка решила вернуться после УЗИ-скрининга 2 триместра. При УЗИ-скрининге 2 триместра в 19 недель был обнаружен плод мужского пола, пороков развития не выявлено, размеры плода соответствуют сроку гестации. При проведении УЗИ-скрининга 3 триместра в 31-32 недели беременности также визуализировался плод мужского пола, без видимых аномалий развития, но была выявлена ЗВУР 1 степени. В 38-39 недель пациентка самостоятельно родоразрешилась живым доношенным мальчиком массой тела 2600 грамм, с оценкой по школе Апгар 7/8 баллов. При рождении был выявлен ВПР наружных половых органов у плода: гипоспадия полового члена, яички располагались в мошонке и были нормальных размеров. В

роддоме был взят анализ кариотипа ребенка, результат – 46,X,r(Y)/45,X (мозаичный кариотип с двумя клонами клеток: в части клеток обнаружена кольцевая Y-хромосома, в другом клоне клеток – моносомия X хромосомы). Далее было проведено УЗИ брюшной полости, почек, УЗИ сердца ребенка – иных пороков развития не выявлено.

Во втором случае у пациентки Н., 39 лет, в сроке беременности 10 недель 4 дня был выполнен НИПС («НИПС», Россия). По результатам исследования был констатирован высокий риск трисомии 13 (синдрома Патау) у плода мужского пола, фетальная фракция 5%. В 11 недель 5 дней был проведен УЗИ-скрининг 1 триместра, отклонений от нормы не выявлено (плод соответствует сроку беременности, ТВП - 1,9 мм, носовая кость визуализируется, данных за наличие грубых пороков развития не получено). В 18 недель беременности пациентка была направлена на амниоцентез, был определен кариотип плода 46,XY – нормальный мужской кариотип. В сроке беременности 39-40 недель пациентка самостоятельно родоразрешилась живым доношенным мальчиком без видимых внешних аномалий, с весом 3420 грамм, с оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов. Ребенку был проведен хромосомный микроматричный анализ - выявлена мозаичная дупликация длинного плеча 20 хромосомы, размером 197896 п.н. с неопределенным клиническим значением (молекулярный кариотип - 46,XY, arr[hg19]20q13.33(62032988_62230974)x1). Для уточнения происхождения данной перестройки и ее клинической значимости было рекомендовано обследование родителей, от которого они отказались. Плацента также была направлена на хромосомный микроматричный анализ. Обнаружена мозаичная трисомия 13 хромосомы, уровень мозаицизма около 80%, что и было причиной ложного результатам НИПС.

Одним из важных прогностических критериев, как вероятных хромосомных аномалий у плода, так и развития «больших акушерских синдромов» считается величина фетальной фракции (ФФ), которая является долей генетического материала, имеющего плодовое происхождение, в

общем объеме, анализируемого при молекулярно-генетическом исследовании биологического объекта. У 26523 (95,3%) беременных результат был получен с первого раза – их мы отнесли в группе 2.1. Добавим, что все ложно-положительные и ложно-отрицательные результаты были получены именно в этой группе. У 1322 пациенток (4,7%) не удалось получить результат НИПС при первичном исследовании, чаще всего по причине низкой фетальной фракции, либо низкого качества ДНК. Согласно данным ряда исследователей повторный анализ требуется в 3-6% случаев НИПС [87, 113, 271, 277, 295].

В нашей работе при использовании «НИПС» частота нерезультативных исследований составила 3,7% (157 пациенток). Это существенно меньше, чем при использовании тестов Panorama, Veracity и Harmony Ariosa, для которых данный показатель составил соответственно 4,9% (N=1044), 5,4% (N=94), 8,4% (N=27) - различия статистически достоверны для всех тестов ($p < 0,05$). Наиболее высокая частота повторного анализа оказалась у пациенток, которым был проведен тест Harmony Ariosa.

На повторную сдачу анализа согласились 1136 пациенток (85,9%) (группа 2.2) – рисунок 17. Из этого числа пациенток у 909 (80,1%) удалось со второго раза получить результат (подгруппа 2.2А): нормальный результат (отсутствие хромосомных аномалий) получен у 869 из них (95,6%), у 40 (4,4%) выявлен высокий риск ХА. Из них у 26 (65%) женщин предполагалась трисомия 21, у 13 (32,5%) - трисомия 18, у 1 (2,5%) - моносомия X. У 227 (20,0%) из 1136 участниц вновь определена низкая фетальная фракция free DNA и результат получен не был. На повторную пересдачу (третью попытку) анализа согласились еще 123 пациентки (подгруппа 2.2Б) из них: результат получен у 86 (69,9%), у 37 (30,1%) пациенток уровень фетальной фракции вновь оказался слишком низким.

Высокий риск ХА у плода при третьей попытке получения результата НИПС обнаружили еще у 9 (10,4%) пациенток: риск трисомии 21 - у 6 (66,7%), трисомии 18 - у 2 (22,2%), моносомии X - у 1 (11,1%).



*ХА – хромосомные аномалии, Т21 – трисомия 21, Т18 – трисомия 18, МХ – моносомия X

Рисунок 17. Распределение пациенток при повторном исследовании НИПС

Среди женщин, которые не получили результат с 1 раза, ХА плода в итоге выявлены у 49 (4,31%) пациенток, 40 (81,6%) из которых получили результат со второго раза, 9 (18,4%) только с третьего. В группе пациенток, которые не получили результат дважды, и только третий анализ оказался нерезультативным, частота встречаемости ХА плода еще выше - 9 (7,3%) (причем следует иметь ввиду, что у части пациенток, которые не получили результат и отказались от дальнейшего участия в исследовании тоже могли быть плоды с ХА). Среди участниц, получивших результат при первичном исследовании, распространенность ХА плода составила 2,6% - различия между исследуемыми группами статистически значимы (при сравнении со всеми пациентками, получившими результат не с 1 раза – $\chi^2=12,7$, $p<0,001$, ОШ=1,7, ДИ 95% 1,27-2,29; при сравнении с пациентками, получившими результат только с 3 раза – $\chi^2=10,85$, $p=0,001$, ОШ=2,98, ДИ 95% 1,51-5,9).

Исходя из полученных данных мы считаем, что в случае, если при первом исследовании НИПС у пациентки определяется низкий уровень фетальной фракции и тест нерезультативный, ей следует предложить провести НИПС повторно. Если же и второй анализ не результативен, необходимо решить вопрос о проведении ИПД.

В таблице 46 представлен анализ частоты встречаемости различных ХА у плода в исследуемых группах. Причем, учитывались только те случаи, при которых высокий риск ХА, выявленный при НИПС, был верифицирован цитогенетически.

Таблица 46. Частота встречаемости различных хромосомных аномалий в исследуемых группах

ХА	Группа 2.1 (n=26523)		Группа 2.2 (n=1136)		Подгруппа 2.2А (n=909)		Подгруппа 2.2Б (n=123)		p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₁₋₄
	1		2		3		4				
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
T21	535	1,95	32	2,81	26	2,86	6	4,88	0,06	5,04	0,024
T18	69	0,26	15	1,32	13	1,43	2	1,63	<0,01	8,59	<0,01
T13	34	0,13	-	-	-	-	-	-	0,23	-	-
МХ	46	0,17	2	0,17	1	0,11	1	0,81	0,98	2,84	0,091
Все-го	684	2,58	49	4,31	40	4,4	9	7,3	<0,01	10,85	<0,01
Примечание: n – число обследованных в группе; p ₁₋₂ – уровень значимости различий между группами 2.1 и 2.2; p ₁₋₃ – уровень значимости различий между группой 2.1 и подгруппой 2.2А; p ₁₋₄ – уровень значимости различий между группой 2.1 и подгруппой 2.2Б;											

Таким образом, пациентки, получившие результат только со 2 раза, имеют достоверно более высокий общий риск ХА у плода и в особенности риск трисомии 18. Те же пациентки, у которых было два нерезультативных анализа при проведении НИПС, имеют намного более высокий риск трисомии 21, трисомии 18, и общий риск наличия одной из частых хромосомных анеуплоидий у плода.

Далее мы сравнили средний уровень фетальной фракции в разные сроки беременности в норме и при наличии хромосомной аномалии у плода.

Результаты представлены в таблице 47.

Таблица 47. Средний уровень фетальной фракции в разные сроки беременности, % (Me(Q1-Q3))

Результат	9-14 недель беременности	p ₁	15-20 недель беременности	p ₂
Трисомия 21	8,27(5,79-10,2)	0,812	10,16(6,85-12,95)	0,32
Трисомия 18	6,81(4,85-8,4)	<0,001	8,21(5,87-9,64)	0,08
Трисомия 13	6,27(4,67-7)	<0,001	7,18(5,35-8,02)	0,96
Моносомия X	6,95(4,95-7,85)	<0,001	7,28(6-7,93)	0,09
Норма	9,43(6,3-12,1)	-	9,53(6,67-12)	-

p₁ – достоверность различий по уровню ФФ (по сравнению с нормальным кариотипом у плода) в 9-14 недель беременности, p₂ – достоверность различий по уровню ФФ (по сравнению с нормальным кариотипом у плода) в 15-20 недель беременности

В 1 триместре уровень фетальной фракции достоверно ниже, при наличии у плода трисомии 13 или 18, либо моносомии X (рисунок 18А). При обнаружении у плода трисомии 21 хромосомы достоверных различий по уровню фетальной фракции не получено. По 2 триместре беременности достоверных различий по сравнению с нормальным кариотипом у плода не выявлено (рисунок 18Б). Самый низкий уровень ФФ в 1 наблюдается при наличии у плода трисомии 18 хромосомы, а во 2 триместре – при наличии трисомии 13.

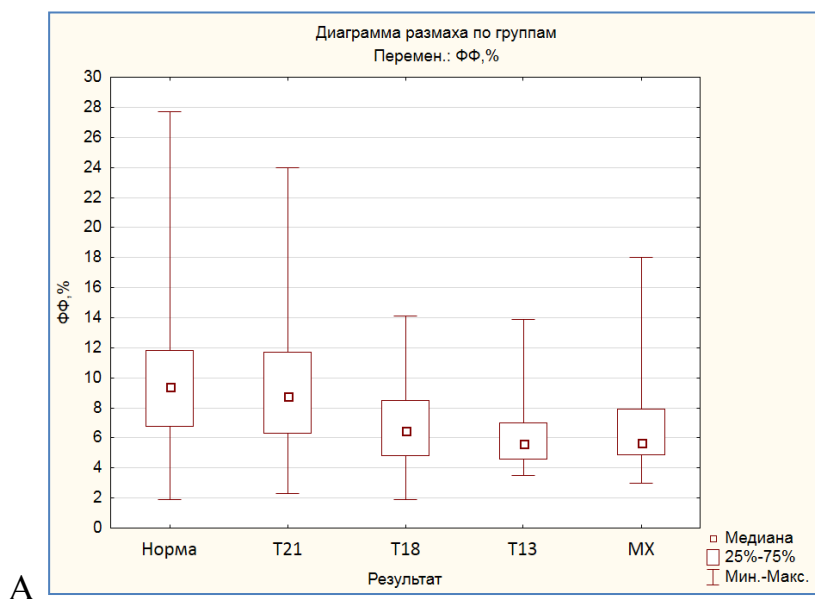


Рисунок 18А. Средний уровень фетальной фракции в 1 триместре, %

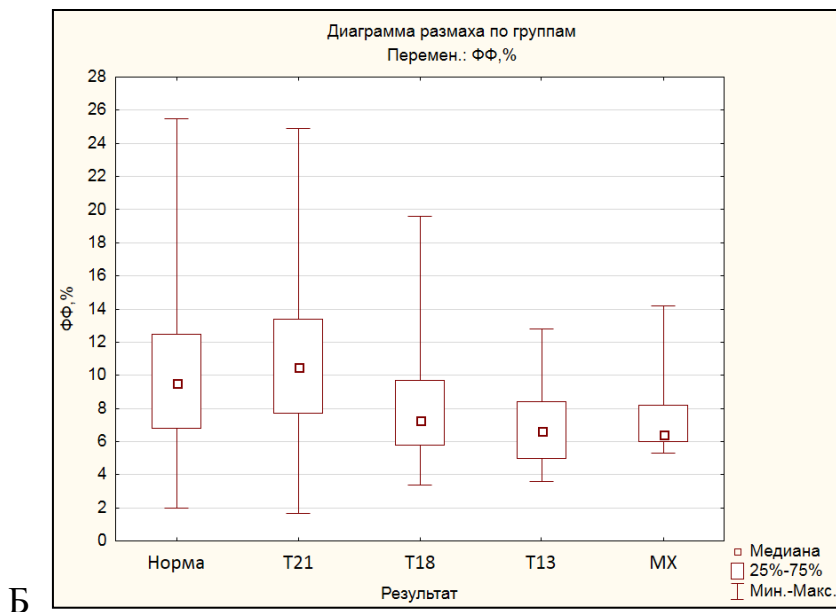


Рисунок 18Б. Средний уровень фетальной фракции во 2 триместре, %

Поскольку в научной литературе, как возможная причина низкого уровня фетальной фракции и неудачного анализа, указывается избыточная масса тела пациентки [295, 347], мы решили сравнить массу тела у пациенток исследуемых групп 2.1 и 2.2. Результаты представлены в таблице 48.

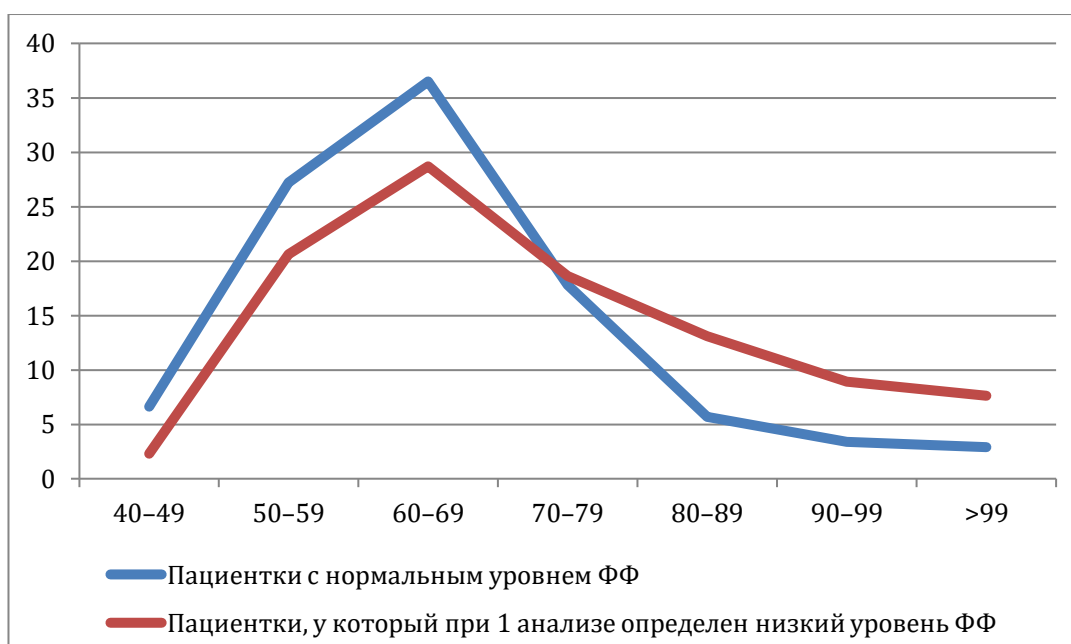
Таблица 48. Масса тела у пациенток с низкой и нормальной фетальной фракцией

Масса тела, кг	Группа 2.2 (n=1136)		Группа 2.1 (n=26523)		χ^2	Достоверность различий, p
	Абс.	%	Абс.	%		
40-49,9	26	2,3	1753	6,6	35,98	<0,001
50-59,9	227	20	7206	27,2	32,55	<0,001
60-69,9	331	29,1	9657	36,4	29	<0,001
70-79,9	216	19	4711	17,8	1,29	0,25
80-89,9	149	13,1	1512	5,7	118,42	<0,001
90-99,9	101	8,9	908	3,4	110,3	<0,001
Более 100	86	7,6	776	2,9	62,4	<0,001
Средняя масса тела, M(SD)	66,38(12,9)		65,81(13,6)		-	0,04

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; p-уровень значимости различий; статистически значимые различия при p<0,05

В группе 2.1 отмечалась большая доля пациенток с массой тела до 70 кг, а во 2.2 - с массой тела более 80 кг, количество пациенток с массой 70-79 кг было примерно одинаково в обеих группах. Средний уровень массы тела также достоверно различался в исследуемых группах – у пациенток, получивших результат с первого раза, он составил 65,81(13,6) кг, а у пациенток, которым потребовалось повторное взятие материала - 66,38(12,9) кг ($p=0,04$).

На рисунке 19 продемонстрировано распределение пациенток по массе тела с достаточным и с низким уровнем фетальной фракции по массе тела.



*ФФ – фетальная фракция

Рисунок 19. Доля пациенток с различной массой тела (кг) в исследуемых группах, %

Очевидно, что в группе пациенток с низким уровнем фетальной фракции распределение в зависимости от массы тела имеет смещение в сторону более высокой весовой категории.

4.2. Оценка возможностей выделения групп риска «больших акушерских синдромов» на основе результатов НИПС

Третий этап нашей работы состоял в изучении возможностей различных вариантов пренатального скрининга в off-label прогнозировании «больших акушерских синдромов». Для решения этой задачи 288 пациенток, которые прошли НИПС на территории Свердловской области, были подвергнуты углубленному анализу, и составили группу 3. Все пациентки, у которых был выявлен высокий риск ХА у плода по результатам НИПС были направлены на ИПД. У 2-х пациенток инвазивная диагностика не была проведена, так как до того, как они были на нее направлены, произошел самопроизвольный выкидыш (у одной из них по результатам НИПТ был выявлен высокий риск трисомии 21, у другой – высокий риск трисомии 18). Две пациентки от проведения инвазивной диагностики отказались. У одной из них родился мальчик с синдромом Дауна (что соответствовало результатам, полученным при проведении НИПС), у другой пациентки с помощью НИПС был выявлен высокий риск синдрома Тернера, а в результате родился мальчик с мозаичным кариотипом 46,ХгY/45,Х. 30 пациенток согласились на проведение ИПД (в 21 случае была проведена аспирация ворсин хориона, 9 – кордоцентез). У всех пациенток, которым была проведена ИПД, наличие ХА у плода подтвердилось, ложноположительных результатов в этой группе не было.

Для начала мы сопоставили результаты стандартного комплекса пренатальной диагностики (КПД) 1 триместра с результатами НИПС.

Среди пациенток подгруппы 3.1 (N=34), у которых НИПС выявил высокий риск ХА, по результатам комплекса пренатальной диагностики у 3 (8,82%) был выявлен низкий риск (в диапазоне 1:101-1:1000), у 30 (88,23%) был выявлен высокий риск хотя бы по одной из определяемых ХА. Одной пациентке выполнен НИПС в сроке беременности 9 недель 2 дня, то есть высокий риск трисомии 21 у нее был выявлен до срока скрининга 1

триместра (она была направлена на биопсию ворсин хориона, результат подтвердился, пациентка предпочла прерывание беременности).

Среди пациенток подгруппы 3.2. КПД 1 триместра выявил высокий риск у 138 (54,33%). 33 пациентки этой подгруппы прошли НИПС еще до 11 недель беременности, тем не менее 22 из них решили провести стандартный КПД 1 триместра в декретированные сроки, и у 4 (18,2%) был выявлен высокий риск. У 105 (41,34%) по результатам КПД был установлен низкий риск ХА.

Таким образом, на 3 этапе в исследование вошло 168 пациенток с высоким риском ХА по результатам КПД 1 триместра, однако в действительности ХА были верифицированы лишь у 30 (17,86%) из них. 138 пациенток, которые по приказу 572н МЗ РФ должны были быть направлены на ИПД, смогли избежать этой небезопасной процедуры. Ложно-отрицательных результатов НИПС в этой группе не было (мы включали в группу 3 только пациенток с известными исходами беременности).

Из описанного выше следует, что у большинства пациенток, у которых НИПС определил высокий риск ХА, КПД 1 триместра также выявил высокий риск анеуплоидий (у 88,23%). При этом среди 108 пациенток из нашего исследования, которым был определен низкий риск по КПД, у 3 (2,78%) в дальнейшем с помощью НИПС были выявлены ХА.

Далее мы провели анализ исходов беременности пациенток подгруппы 3.2, у которых у плода был нормальный хромосомный набор. Напомним, они были разделены на подгруппы 3.2А (N=203) – пациентки с физиологическим течением беременности и рождением живого доношенного ребенка с нормальной массой тела, и 3.2Б (N=51) – пациентки, у которых беременность осложнилась одним из состояний, относящихся к группе «больших акушерских синдромов». Мы провели сравнение между этими подгруппами по уровню фетальной фракции, определенному при проведении НИПС, а также по биохимическим и ультразвуковым показателям КПД 1 триместра.

Перед тем, как оценивать различия по уровню ФФ между исследуемыми

подгруппами, мы решили установить, факторы реально влияющие на этот показатель (помимо наличия или отсутствия ХА).

Мы оценили наличие корреляций (с помощью критерия Пирсона) между ФФ и сроком беременности, возрастом пациентки, ее весо-ростовыми показателями, количеством беременностей и родов в анамнезе, уровнем PAPP-A (MoM), уровнем бета-субъединицы ХГЧ (MoM), PI маточной артерии. Результаты этого анализа представлены в таблице 49.

Таблица 49. Зависимость уровня фетальной фракции от некоторых клинических и лабораторных показателей

Параметр	r	p	Сила и характер связи
Срок беременности	0,021	>0,1	отсутствует
Возраст беременной	-0,143	<0,05	слабая, обратная
Рост	-0,041	>0,1	отсутствует
Вес	-0,28	<0,01	слабая, обратная
ИМТ	-0,261	<0,01	слабая, обратная
Кол-во беременностей в анамнезе	-0,154	<0,05	слабая, обратная
Кол-во родов в анамнезе	-0,06	>0,1	отсутствует
PAPP-A, MoM	0,051	>0,1	отсутствует
β -ХГЧ, MoM	0,191	<0,01	слабая, прямая
PI в маточной артерии, MoM	-0,052	>0,1	отсутствует
Примечание: r - коэффициент корреляции Пирсона, p – уровень значимости корреляционной связи (связь статистически достоверна при $p < 0,05$)			

Таким образом, существует статистически значимая взаимосвязь между уровнем фетальной фракции и возрастом беременной (чем старше женщина, тем ФФ ниже), весом и ИМТ пациентки, количеством беременностей в анамнезе, а также уровнем β -ХГЧ (в MoM). Интересно, что между уровнем ФФ и сроком беременности статистически значимая взаимосвязь отсутствует. Также мы не выявили взаимосвязь между ФФ и количеством родов в анамнезе. С уровнем PAPP-A и PI в маточной артерии значимых корреляций не обнаружено.

Средний уровень фетальной фракции в подгруппах 3.2А и 3.2Б составил соответственно 9,2(6,8-12,6)% и 7,55(5,17-11)%. Различия статистически

достоверны ($p=0,02$). Графически уровень фетальной фракции в исследуемых подгруппах представлен на рисунке 20.

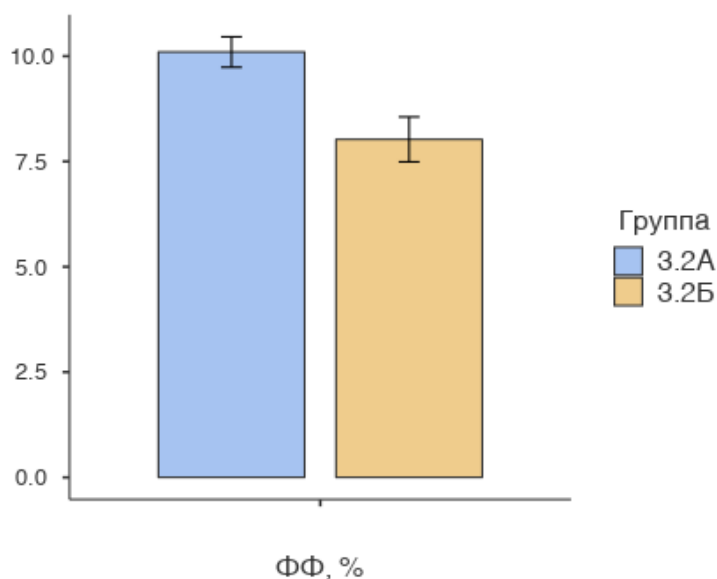


Рисунок 20. Уровень фетальной фракции в исследуемых группах, %

Мы также сравнили число пациенток в исследуемых группах, у которых не был получен результат НИПС с первого раза. В подгруппе 3.2А было 14 (6,9%) таких пациенток, в подгруппе 3.2Б их было 5 (9,8%) ($p>0,05$). Отмечается, что при беременности в последующем осложненной одним из вариантов «больших акушерских синдромов», чаще НИПС оказывался нерезультативным, хотя различия между группами не достигли статистически значимых величин.

Резюмируя вышесказанное следует отметить, что выявляемость хромосомных аномалий у плода с помощью НИПС существенно превосходит известный популяционный уровень, что в значительной степени связано с особенностями применения данного теста, как теста второго уровня при уже известном более высоком риске анеуплоидий. Причем, очевидно, что НИПС превосходит стандартный пренатальный скрининг первого триместра как по специфичности, так и по чувствительности.

Уровень фетальной фракции при выделении cf-DNA плода из сыворотки крови матери зависит от многих факторов, включая наличие хромосомных

аббераций у плода, массу тела беременных, а также характер плацентации, что напрямую связано с вероятностью возникновения плаценто-ассоциированных осложнений беременности. Это факт дает основание рассчитывать на возможность использования данного критерия в прогностических целях. Полученные нами результаты демонстрируют, что низкий уровень фетальной фракции и обусловленный этим фактом нерезультативный тест при первом исследовании НИПС предопределяет повторное обследование на НИПС, что в свою очередь не только увеличивает вероятность выявления ХА, но и повышает прогностическую ценность результата в отношении «больших акушерских синдромов». Особую ценность исследование уровня фетальной фракции приобретает в связи с тем, что статистически значимые различия по этому показателю получены в 1 триместре беременности. А это в свою очередь создает предпосылки применения данного показателя при решении вопроса о назначении тех или иных профилактических средств.

4.3 Пренатальная диагностика врожденной и наследственной патологии плода в прогнозировании «больших акушерских синдромов»

Комбинированный пренатальный скрининг состоит из специфического математического алгоритма определения риска наиболее известных анеуплоидий, который включает оценку ультразвуковых показателей (в том числе измерение ТВП и визуализацию носовой кости), характеристику акушерского анамнеза (количество беременностей, родов, абортов и выкидышей), а также биохимических переменных - ассоциированный с беременностью белок плазмы А (РАРР-А), бета-субъединица хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) [165, 180].

Корреляции данных показателей с возможными осложнениями беременности уже были описаны ранее в литературе [133, 215, 225, 245, 260, 284]. При анализе научной литературы мы отметили, что результаты

комбинированного пренатального скрининга первого триместра могут различаться в разных популяциях, а число качественных исследований, посвященных взаимосвязи показателей комплекса пренатальной диагностики 1 триместра с риском осложнений беременности, и проведенных на российской популяции, крайне ограничено. Мы посчитали необходимым провести оценку взаимосвязи биохимических и ультразвуковых показателей комплекса пренатальной диагностики (КПД) первого триместра и НИПС с риском осложнений беременности из группы «больших акушерских синдромов».

Показатели пренатального скрининга мы оценивали на 1 этапе исследования (проводилось сравнение групп 1.1 и ее подгрупп и группы 1.2) и на 3 этапе исследования (сравнение групп 3.1 и 3.2 и ее подгрупп).

В группе 1.1 средний срок проведения скрининга 1 триместра составил 12 недель 4 дня (± 5 дней), в группе 1.2 – 12 недель 2 дня (± 4 дня), различия в сроке проведения КПД 1 триместра статистически не значимы.

Биохимические показатели КПД 1 триместра представлены в таблице 50. Значимые различия между группами 1.1 и 1.2 получены по уровню PAPP-A. В группе 1.1 уровень PAPP-A в среднем составил 2,18 (1,39-3,44) МЕ/л, 0,848 (0,581-1,22) МоМ, в группе 1.2 - 2,56 (1,72-4,25) МЕ/л, 1,13 (0,795-1,6) МоМ ($p=0,01/p<0,001$) – рисунок 21.

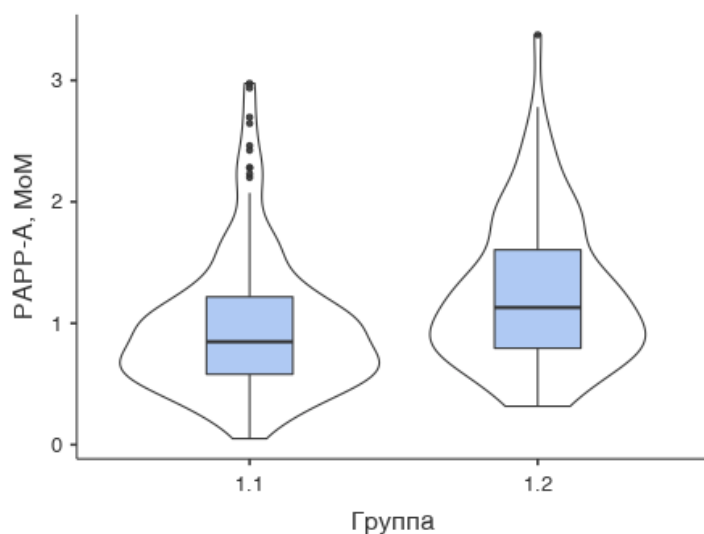


Рисунок 21. Уровень PAPP-A, МоМ в исследуемых группах

Таблица 50. Уровень биохимических показателей КВД 1 триместра (этап 1)

Характеристика	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
РАРР-А, МЕ/л	2,18 (1,39-3,44)	1,95 (1,44-3,48)	2,29 (1,25-3,4)	2,17 (1,35-3,39)	2,42 (1,38-2,93)	2,56 (1,72-4,25)	0,01	0,293	0,277	0,184	0,651
РАРР-А, МоМ	0,848 (0,581-1,22)	0,794 (0,577-1,07)	0,641 (0,51-1,35)	0,978 (0,708-1,26)	0,953 (0,709-1,1)	1,13 (0,795-1,6)	<0,001	0,003	0,026	0,252	0,483
β-ХГЧ, МЕ/л	43,31 (25,1-75,98)	42,53 (28,1-83,74)	49,1 (31,52-77,77)	42,6 (21,62-63,16)	49,84 (21,85-66,59)	47,8 (27,56-78,53)	0,526	0,841	0,901	0,681	0,485
β-ХГЧ, МоМ	1,19 (0,69-1,98)	1,11 (0,761-2,06)	1,22 (0,699-1,91)	1,24 (0,708-1,83)	1,18 (0,57-1,61)	1,07 (0,778-1,88)	0,652	0,518	0,341	0,781	0,41
Кол-во с РАРР-А <0,5 МоМ, абс. (%)	43 (15,4)	15 (14,6)	14 (20,9)	10 (14,5)	4 (10)	9 (8)	0,05	0,13	0,01	0,17	0,7
Кол-во с РАРР-А <0,3 МоМ, абс. (%)	20 (7,2)	2 (1,9)	11 (16,4)	3 (4,3)	4 (10)	1 (0,9)	0,01	0,51	<0,01	0,12	<0,01
Кол-во с РАРР-А >1,5 МоМ, абс. (%)	42 (15,1)	12 (11,7)	14 (20,9)	10 (14,5)	6 (15)	31 (27,7)	<0,01	<0,01	0,37	<0,01	0,11
Кол-во с β-ХГЧ <0,5 МоМ, абс. (%)	28 (10)	15 (14,6)	3 (4,5)	9 (13)	1 (2,5)	12 (10,7)	0,84	0,39	0,14	0,63	0,11
Кол-во с β-ХГЧ >1,5 МоМ абс. (%),	104 (37,3)	39 (37,9)	31 (46,3)	24 (34,8)	10 (25)	42 (37,5)	0,96	0,97	0,24	0,71	0,15
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

Наиболее низкий уровень PAPP-A был определен в подгруппах 1.1А и 1.1Б. В подгруппе 1.1А он был 1,95(1,44-3,48) МЕ/л, 0,794(0,577-1,07) МоМ, в подгруппе 1.1Б - 2,29(1,25-3,4) МЕ/л, 0,641(0,51-1,35). Получены статистически значимые различия по уровню PAPP-A, МоМ. На рисунке 22 графически изображен уровень PAPP-A в исследуемых подгруппах.

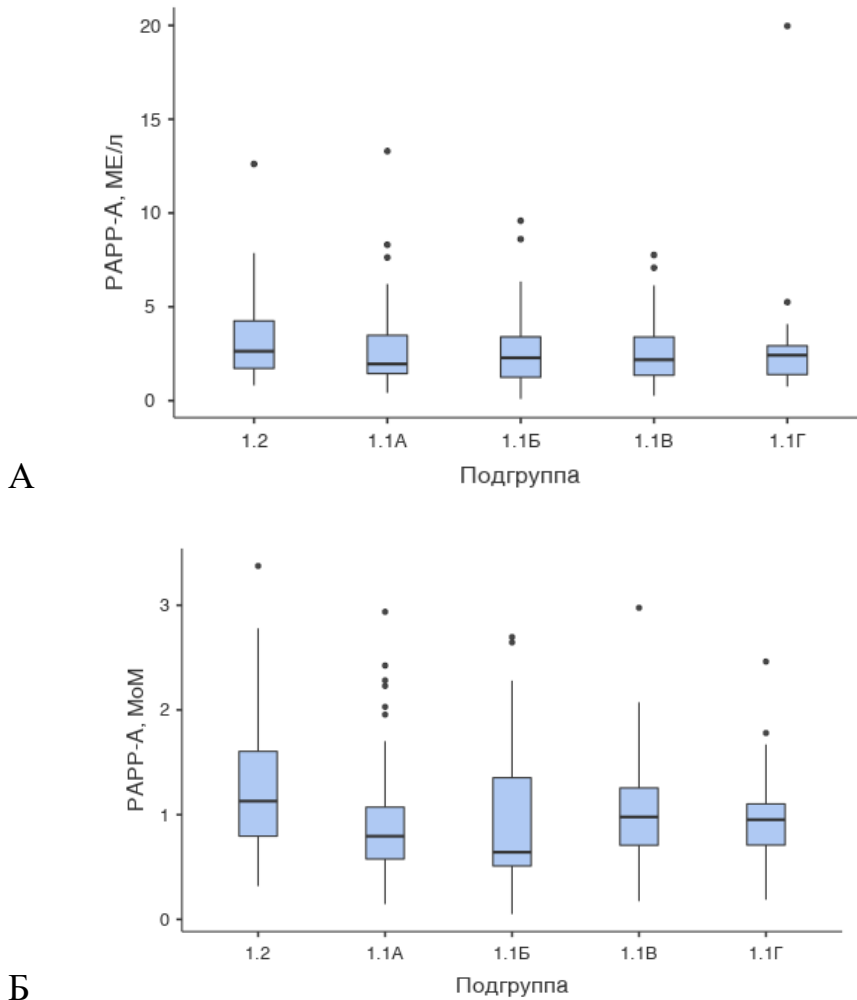


Рисунок 22. Уровень PAPP-A в исследуемых подгруппах в МЕ/л (А) и МоМ (Б)

Мы также проанализировали долю пациенток с уровнем PAPP-A ниже или выше определенных пороговых значений. По относительному количеству пациенток с уровнем PAPP-A менее 0,5 МоМ значимых различий между группами 1.1 и 1.2 не выявлено, но в подгруппе 1.1Б таких пациенток оказалось больше всего – 14 человек (20,9%), что существенно выше, чем в контрольной группе 1.2 – там их было только 9 (8%) ($p=0,01$, $\chi^2=6,19$,

ОШ=3,02, ДИ 1,23-7,44). Более значимые различия выявлены, если пороговым значением считать уровень РАРР-А менее 0,3 МоМ. В основной группе было 20 (7,2%) пациенток с уровнем РАРР-А меньше 0,3 МоМ, а в контрольной – только 1 (0,9%) ($p < 0,01$, $\chi^2 = 6,19$, ОШ=8,57, ДИ 1,14-64,7). Достоверными оказались различия по сравнению с контролем в подгруппах 1Б и 1Г. Количество пациенток с уровнем РАРР-А больше 1,5 МоМ, напротив, оказалось наиболее высоким в группе 1.2 – 31 (27,7%) по сравнению с 42 (15,1%) в группе 1.1 ($p < 0,01$, $\chi^2 = 8,39$, ОШ=0,46, ДИ 0,27-0,79). Статистически значимые различия по данному параметру выявлены также с подгруппами 1А и 1В.

По уровню β -ХГЧ статистически значимых различий между исследуемыми группами и подгруппами не выявлено (рисунок 23).

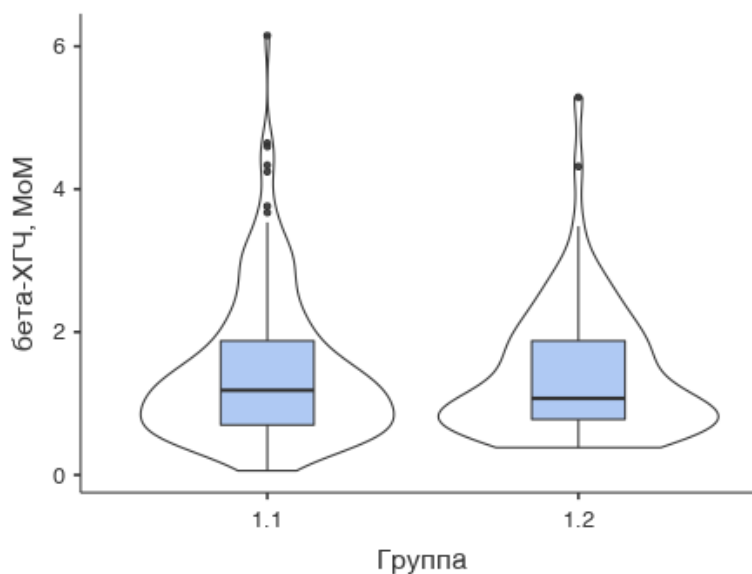


Рисунок 23. Уровень β -ХГЧ, МоМ в исследуемых группах

Далее мы проанализировали ультразвуковые показатели КПД 1 триместра. Результаты представлены в таблице 51.

По уровню КТР значимых расхождений между исследуемыми группами и подгруппами нет, что свидетельствует о том, что срок проведения КПД 1 триместра в исследуемых группах был сопоставим.

Таблица 51. Ультразвуковые показатели КПД 1 триместра в исследуемых группах и подгруппах (этап 1)

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
КТР	62,6(56,9-67,4)	63(56,6-69,3)	60,7(54,5-67,8)	62(57,6-66)	60,3(55,5-65,3)	61,7(56,1-66,4)	0,066	0,163	0,872	0,562	0,149
ТВП	1,71(1,4-2,1)	1,63(1,4-2,07)	1,78(1,4-2,1)	1,7(1,5-1,93)	1,72(1,6-2,1)	1,55(1,39-2,01)	0,183	0,884	0,659	0,596	0,353
Отсутствие визуализации НК, абс. (%)	8 (2,86)	1 (0,97)	4 (5,97)	2 (2,89)	1 (2,5)	2 (1,78)	0,54	0,611	0,13	0,621	0,78
Наличие реверсного кровотока в ВП, абс. (%)	4 (1,43)	1 (0,97)	1 (1,49)	1 (1,45)	1 (2,5)	1 (0,89)	0,658	0,953	0,712	0,728	0,444
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между группами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

По величине ТВП статистически достоверных различий не получено, но обращает на себя внимание то, что в основной группе этот показатель был несколько больше - 1,71(1,4-2,1) мм по сравнению с 1,55(1,39-2,01) мм в контрольной группе ($p=0,183$). Самая большая величина ТВП была в подгруппе 1.1Б - 1,78(1,4-2,1) мм.

При проведении скрининга 1 триместра обязательно оценивается визуализация носовой кости. По частоте отсутствия визуализации носовой кости при УЗИ-скрининге в 1 триместре статистически достоверных различий не получено. Но чаще всего не удавалось визуализировать носовую кость тоже в подгруппе 1.1Б – в 4 (5,97%) случаях. В группе 1.2 только в 2 (1,78%) случаях носовая кость не визуализировалась.

По частоте встречаемости реверсного кровотока в венозном протоке также не удалось выявить статистически достоверных различий. Этот признак был выявлен всего у 4 (1,43%) пациенток группы 1.1 (по 1 пациентке в каждой подгруппе) и у 1 (0,89%) пациенток группы 1.2.

На 3 этапе работы помимо исследования эффективности НИПС мы также анализировали показатели стандартного комплекса пренатальной диагностики 1 триместра.

Мы проанализировали уровни PAPP-A и β -ХГЧ в подгруппах 3.2а и 3.2б – таблица 52.

Таблица 52. Сравнительный анализ биохимических показателей КПД в исследуемых группах (этап 3)

Показатель	Подгруппа 3.2А (n=203)	Подгруппа 3.2Б (n=51)	U-критерий Манна-Уитни	p
PAPP-A, МЕ/л	2,49(1,32-4,01)	1,1(0,49-1,73)	1914	<0,001
PAPP-A, МоМ	0,84(0,57-1,4)	0,4(0,28-0,76)	2250	<0,001
β -ХГЧ, МЕ/л	58,11(34,86-91,1)	58,29(30,55-101,44)	3710	0,105
β -ХГЧ, МоМ	1,52(0,96-2,22)	1,36(0,74-1,89)	3704	0,446
Примечание: n – число женщин; – уровень значимости различий между подгруппами 3.2А и 3.2Б, статистически значимые различия при $p<0,05$				

Уровень РАРР-А в подгруппе 3.2Б был ниже, как в абсолютных единицах, так и в МоМ ($p < 0,01$). Достоверных различий по уровню β -ХГЧ не получено. Результаты представлены на рисунке 24.

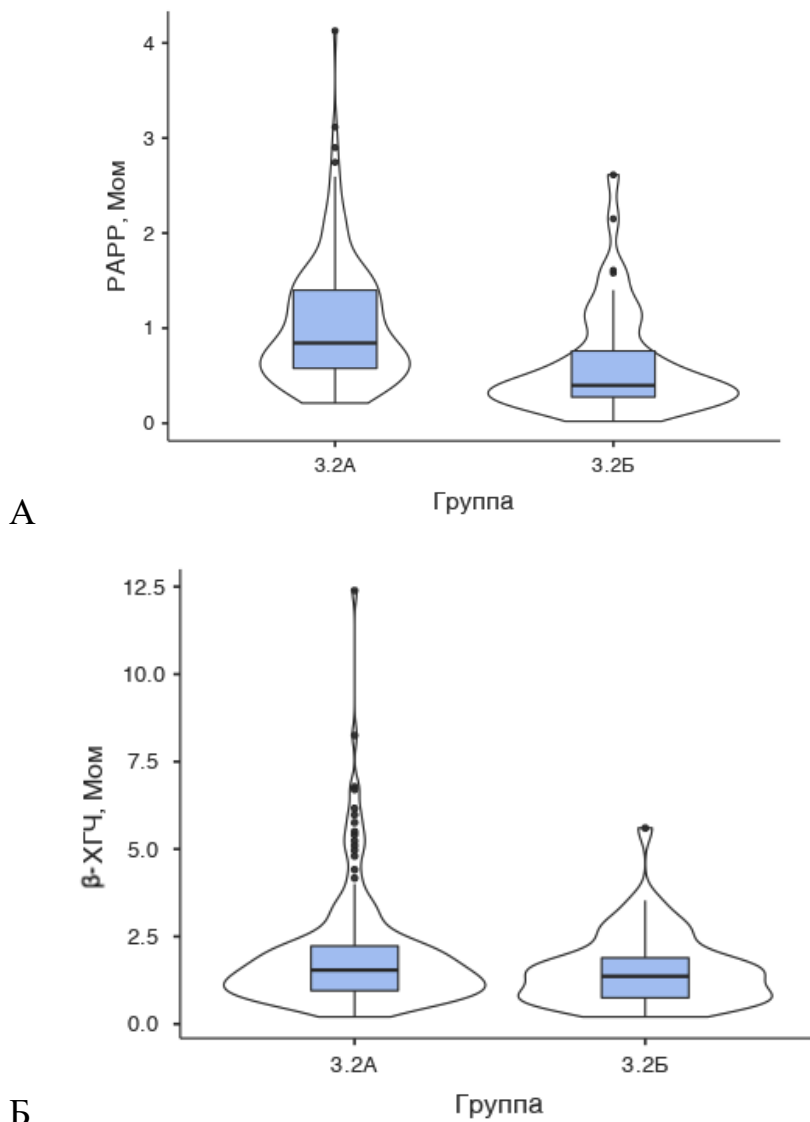


Рисунок 24. Уровни РАРР-А, МоМ (А) и β -ХГЧ, МоМ (Б) в исследуемых подгруппах (этап 3)

Одним из наиболее информативных ультразвуковых показателей считается толщина воротникового пространства у эмбриона (ТВП) [266]. Мы сравнили значения ТВП плода у пациенток исследуемых подгрупп. В подгруппе 3.2А данный показатель был несколько больше - 1,82 (1,53-2,43) мм, в подгруппе 3.2Б – 1,73 (1,38-2,06) мм, различия статистически не значимы ($p=0,057$).

Мы также проанализировали наличие корреляций между уровнем РАРР-А (МоМ), β -ХГЧ (МоМ), ФФ (%) с массой плода в доношенном сроке беременности (у пациенток, у которых роды произошли в доношенном сроке – N=232) (рисунок 25). Статистически значимая прямая связь была выявлена только с уровнем РАРР-А, МоМ ($r=0,192$, $p<0,05$). Для показателей β -ХГЧ, МоМ и ФФ,% коэффициент корреляции был соответственно 0,008 и 0,13 ($p>0,1$).

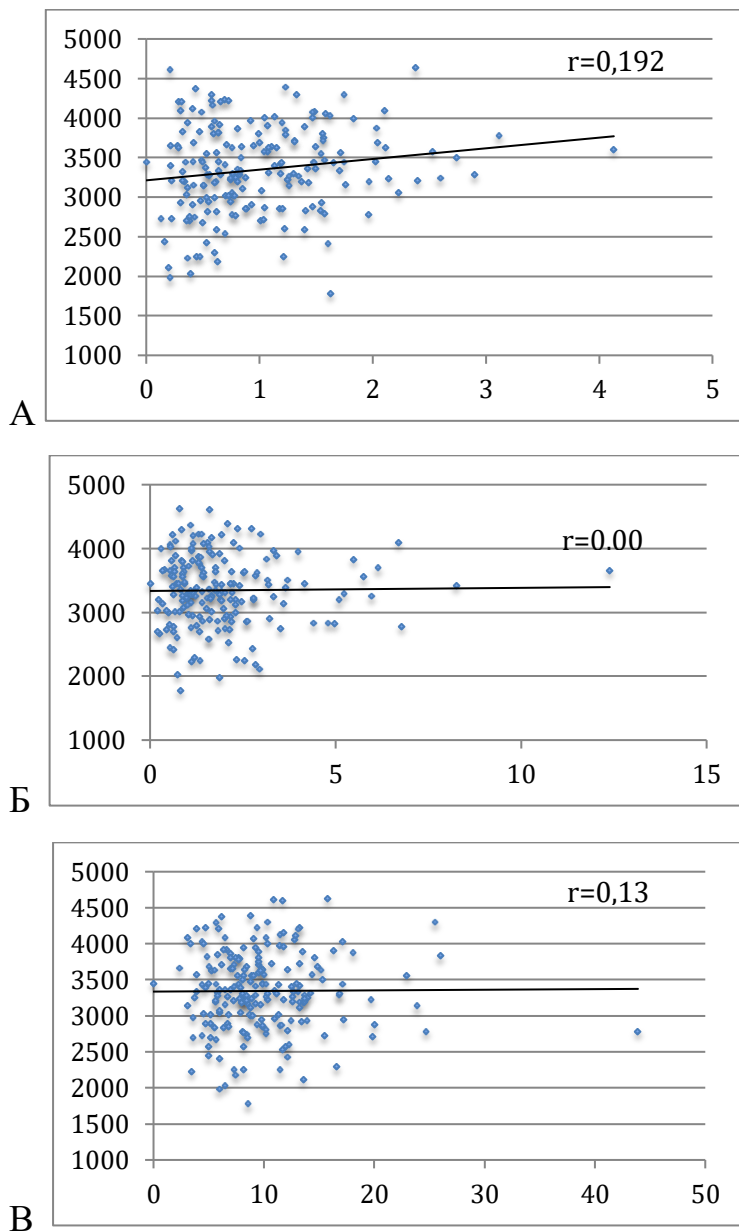


Рисунок 25. Корреляции между массой плода в доношенном сроке и показателями РАРР-А (МоМ) (А), β -ХГЧ (МоМ) (Б) и ФФ,% (В)

Таким образом, при проведении комплекса пренатальной диагностики 1 триместра показатель PAPP-A можно использовать не только для оценки риска ХА у плода, но и включать этот параметр в прогностические модели для оценки риска осложнений беременности. По уровню β -ХГЧ значимых различий между исследуемыми группами не выявлено. При оценке УЗИ-маркеров ХА мы также не выявили значимых расхождений у пациенток и нормальным и осложненным течением беременности (при нормальном кариотипе плода).

Результаты, полученные при анализе PAPP-A, представляются многообещающими в части использования данного параметра, как элемента прогностической модели «больших акушерских синдромов», поскольку установлена корреляционная зависимость этого показателя с благополучным завершением беременности и рождением ребенка с нормальной массой тела.

Таким образом, у пациенток, у которых впоследствии развились осложнения беременности, относящиеся к группе «больших акушерских синдромов», в 1 триместре ряд показателей пренатального скрининга отличается от пациенток с физиологическим течением беременности. При проведении стандартного комплекса пренатальной диагностики наиболее значимые различия выявлены по уровню PAPP-A (MoM). При проведении НИПС у пациенток с осложненным течением беременности отмечается более низкий уровень ФФ, а само исследование чаще оказывается не результативным.

ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ ДИАГНОСТИКИ И ОЦЕНКА РОЛИ ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В ГЕНЕЗЕ ЭЛЕМЕНТОВ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ» - НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

5.1 Современные возможности молекулярно-генетических исследований (хромосомный микроматричный анализ) в диагностике хромосомных аномалий эмбриона при невынашивании беременности: преимущества и ограничения метода

Основываясь на данных научной литературы, можно сделать заключение, что наличие невынашивания беременности в анамнезе, а в особенности привычной потери беременности, повышает в дальнейшем риск акушерских осложнений [20, 64, 200, 280]. На 1 этапе нашего исследования мы также выявили закономерности, указывающие на то, что повторяющиеся случаи невынашивания беременности – это фактор риска осложненной гестации в будущем. В клинических рекомендациях «Выкидыш в ранние сроки» говорится, что необходимо стремиться выявлять причины самопроизвольных выкидышей и неразвивающихся беременности для профилактики привычного невынашивания беременности [20].

В научной медицинской литературе многократно указывалось на тот факт, что около 50% случаев невынашивания беременности ассоциировано с наличием хромосомных аномалий у эмбриона/плода [20, 65, 132, 294]. При этом традиционно геномные мутации преимущественно связывают со спорадическим невынашиванием беременности. Считается, что большинство хромосомных перестроек у плода «случайны», и их не считают признаком какого-либо неблагополучия в организме матери [20, 65]. В то же время, предполагается, что если пациентка страдает привычным невынашиванием беременности, то есть имеет в анамнезе по крайней мере 2 подряд случая потери беременности, хромосомные аномалии у эмбриона встречаются реже,

и следует искать иные причины неудачного исхода беременности, включая возможные девиации генома у родителей [20, 65, 132, 149]. Однако любые внешне безупречные логические построения должны быть подтверждены результатами научных исследований. Вопреки сложившимся представлениям, в последние годы начали появляться сообщения о том, что при сравнительном анализе хромосомного набора у эмбриона или плода при спорадическом и привычном невынашивании беременности, достоверной разницы по частоте встречаемости хромосомной патологии не получено. Ряд авторов утверждает, что это самая частая причина невынашивания беременности в первом триместре, независимо от акушерского анамнеза пациентки [189, 266]. Следовательно, можно предположить, что и иные осложнения беременности, получившие название «большие акушерские синдромы» будут ассоциированы с невынашиванием беременности вне зависимости от того первый выкидыш произошел у конкретной пациентки или третий.

К сожалению, имеющихся данных на сегодняшний день недостаточно, чтобы сделать окончательный вывод о том, какова частота и структура хромосомных аномалий у эмбриона/плода при спорадическом и привычном невынашивании беременности. Имеющиеся исследования гетерогенны по дизайну, для проведения генетического исследования продуктов зачатия используются различные методы, что не позволяет провести мета-анализ их результатов на основе принципов доказательной медицины. Поэтому мы считаем необходимым продолжить научный поиск в этом направлении, поскольку полученные данные могут изменить подходы к обследованию пациенток, у которых случилась потеря беременности, а также усовершенствовать в дальнейшем преконцепционную подготовку.

На 4 этапе нашего исследования мы проанализировали результаты хромосомного микроматричного анализа (ХМА) абортивного материала, полученного методом вакуум-аспирации у пациенток с диагностированной в сроке беременности 6-12 недель (по результатам измерения КТР с помощью

УЗИ) неразвивающейся беременностью. В исследование на этом этапе было включено 1000 пациенток, отобранных методом сплошной выборки – они были включены в группу 4_{ХМА}. На рисунке 26 представлено графическое изображение нормального женского (А) и мужского (Б) молекулярного кариотипа при анализе ХМА.

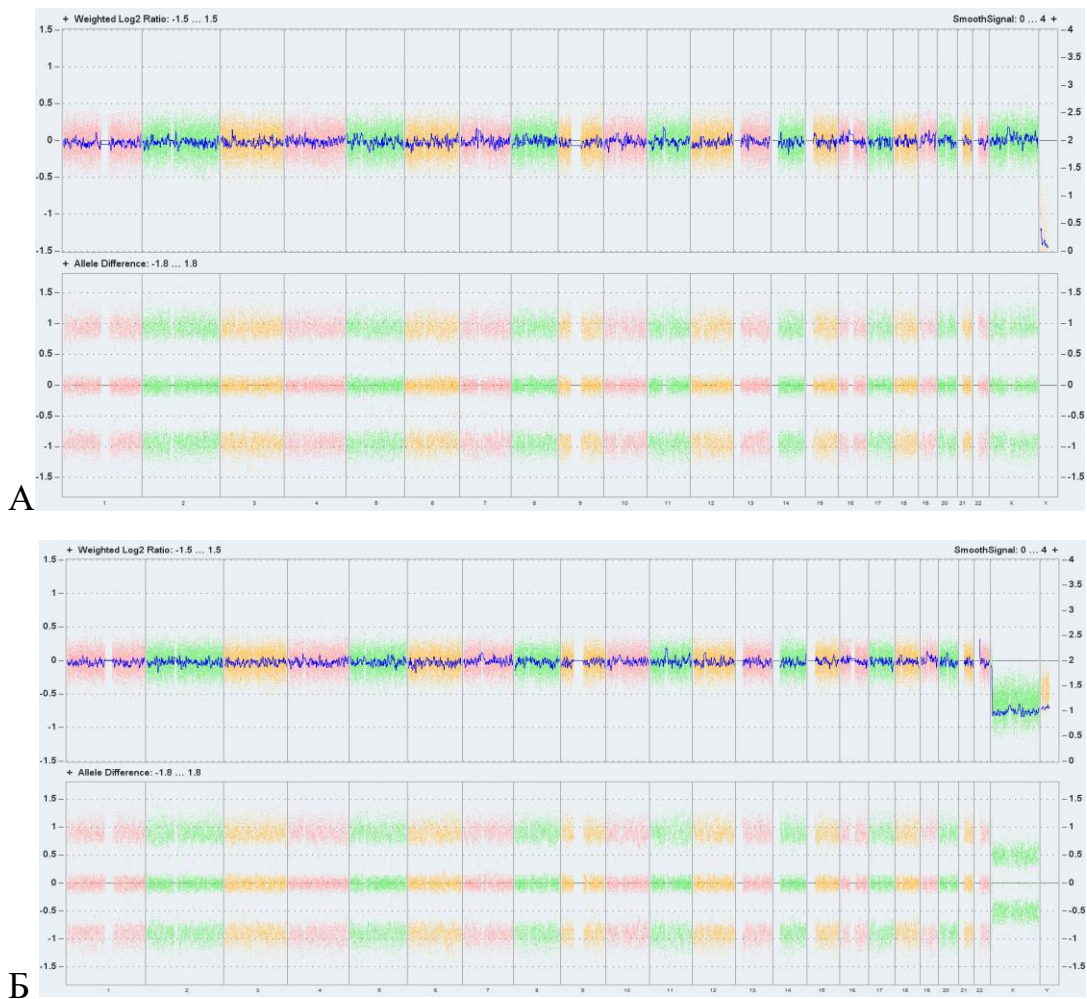


Рисунок 26. Нормальный молекулярный кариотип (ХМА)

Пациентки, у которых потеря беременности произошла впервые, были включены в подгруппу 4.1 (N=681), а те, кто уже имел в анамнезе самопроизвольные выкидыши или неразвивающиеся беременности в подгруппу 4.2 (N=319). В свою очередь подгруппа 4.2 была разделена еще на 2 подгруппы – в подгруппу 4.2А вошли 285 пациенток, у которых в анамнезе была 1 потеря беременности, а в подгруппу 4.2Б 34 пациентки, у которых

ранее уже произошло 2 и более потерь.

Среди пациенток группы 4_{ХМА} ХА были выявлены у 580 (58%). Структура ХА представлена в таблице 53.

Таблица 53. Структура выявленных хромосомных aberrаций на 4 этапе исследования

Вид ХА	Число случаев (Группа 4 _{ХМА})		
	абс.	доля среди всех образцов (N=1000),%	доля среди ХА (N=580),%
Анеуплоидии не половых хромосом	351	35,1	60,5
Трисомия 1	0	0	0
Трисомия 2	10	1	1,7
Трисомия 3	4	0,4	0,7
Трисомия 4	12	1,2	2,1
Трисомия 5	2	0,2	0,3
Трисомия 6	9	0,9	1,6
Трисомия 7	15	1,5	2,6
Трисомия 8	10	1	1,7
Трисомия 9	14	1,4	2,4
Трисомия 10	2	0,2	0,3
Трисомия 11	2	0,2	0,3
Трисомия 12	4	0,4	0,7
Трисомия 13	19	1,9	3,3
Трисомия 14	11	1,1	1,9
Трисомия 15	38	3,8	6,6
Трисомия 16	87	8,7	15
Трисомия 17	4	0,4	0,7
Трисомия 18	11	1,1	1,9
Трисомия 19	1	0,1	0,2
Трисомия 20	12	1,2	2,1
Трисомия 21	36	3,6	6,2
Трисомия 22	43	4,3	7,4
Моносомия 21	4	0,4	0,7
Моносомия 18	1	0,1	0,2
Анеуплоидии половых хромосом	74	7,4	12,8
Синдром Тернера (моносомия X-хромосомы)	66	6,6	11,4
Синдром Клайнфельтера (дисомия X-хромосомы)	6	0,6	1

Трисомия X-хромосомы	2	0,2	0,3
Дисомия Y-хромосомы	0	0	0
Множественные анеуплоидии	38	3,8	6,6
Триплоидия	62	6,2	10,7
69,XXX	28	2,8	4,8
69,XXY	34	3,4	5,8
69.XYY	0	0	0
Тетраплоидия (96,XXXXY)	3	0,3	0,52
Структурные перестройки	52	5,2	8,9
Итого	580	58	100

Среди всех ХА лидирует по частоте встречаемости трисомия 16 хромосомы – она была выявлена в 87 случаях, что составило 8,7% случаев среди всех пациенток, в структуре всех образцов с хромосомными аномалиями это соответствует доле в 15% случаев. На втором месте - моносомия X, которая была выявлена в 66 случаях - 6,6% от всех образцов, соответственно 11,4% среди всех хромосомных aberrаций. Следующей по частоте встречаемости обнаруживалась трисомия 22 хромосомы – 42 случая, что соответствовало 4,3% среди всех образцов, соответственно 7,4% в структуре всех ХА.

На рисунке 27 показана доля каждой группы хромосомных перестроек среди всех образцов с ХА.

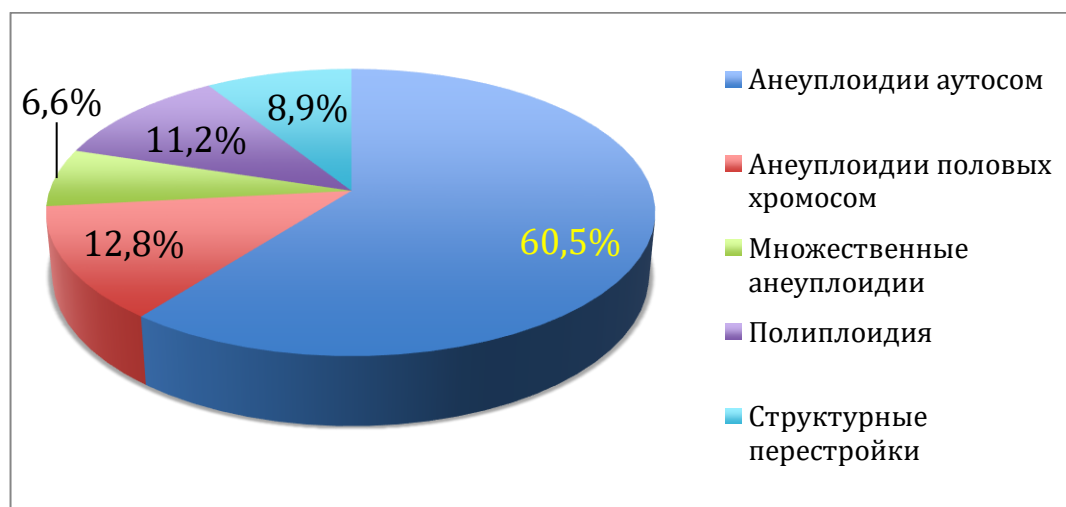


Рисунок 27. Структура групп хромосомных перестроек в абортивном материале среди всех образцов с ХА

Наиболее часто встречались трисомии аутосом (не половых хромосом) – они были обнаружены в 351 образце (60,5% среди всех ХА), причем в 346 (59,7%) случаях были выявлены трисомии, и лишь в 5 (0,9%) случаях моносомии. Второй по значимости геномной проблемой при невынашивании беременности по нашим данным был анеуплоидии половых хромосом. При этом при выкидышах в ранние сроки беременности в абортивном материале нередко диагностируются аутосомные трисомии, совместимые с живорождением (таблица 54).

Таблица 54. Частота трисомий, совместимых с живорождением, при анализе продуктов зачатия

Тип трисомии	Общее кол-во	Частота среди выявленных ХА, %, N=580	Частота среди всех образцов, %, N=1000	Частота встречаемости среди живорожденных*
Трисомия 8 (синдром Варкани)	10	1,7	1	1/25000-1/50000 (0,002-0,004%)
Трисомия 13 (синдром Патау)	19	3,3	1,9	1/8000-1/15000 (0,012-0,002%)
Трисомия 18 (синдром Эдвардса)	11	1,9	1,1	1/6000-1/8000 (0,012-0,016%)
Трисомия 21 (синдром Дауна)	36	6,2	3,6	1/400-1/3000 (0,03-0,25%)
Трисомия 22 (синдром кошачьего глаза)	43	7,4	4,3	1/50000-1/150000 (0,001-0,002%)

*по данным сайта orpha.net

Анеуплоидии половых хромосом были обнаружены в 74 образцах (12,8% от всех ХА). В эту группу вошло 66 случаев моносомии X (11,4%), 6 (1%) случаев дисомии X-хромосомы в мужском кариотипе, 2 (0,4%) трисомии X-хромосомы в женском кариотипе.

Количество анеуплоидий различных хромосом в абортивном материале графически изображено на рисунке 28.

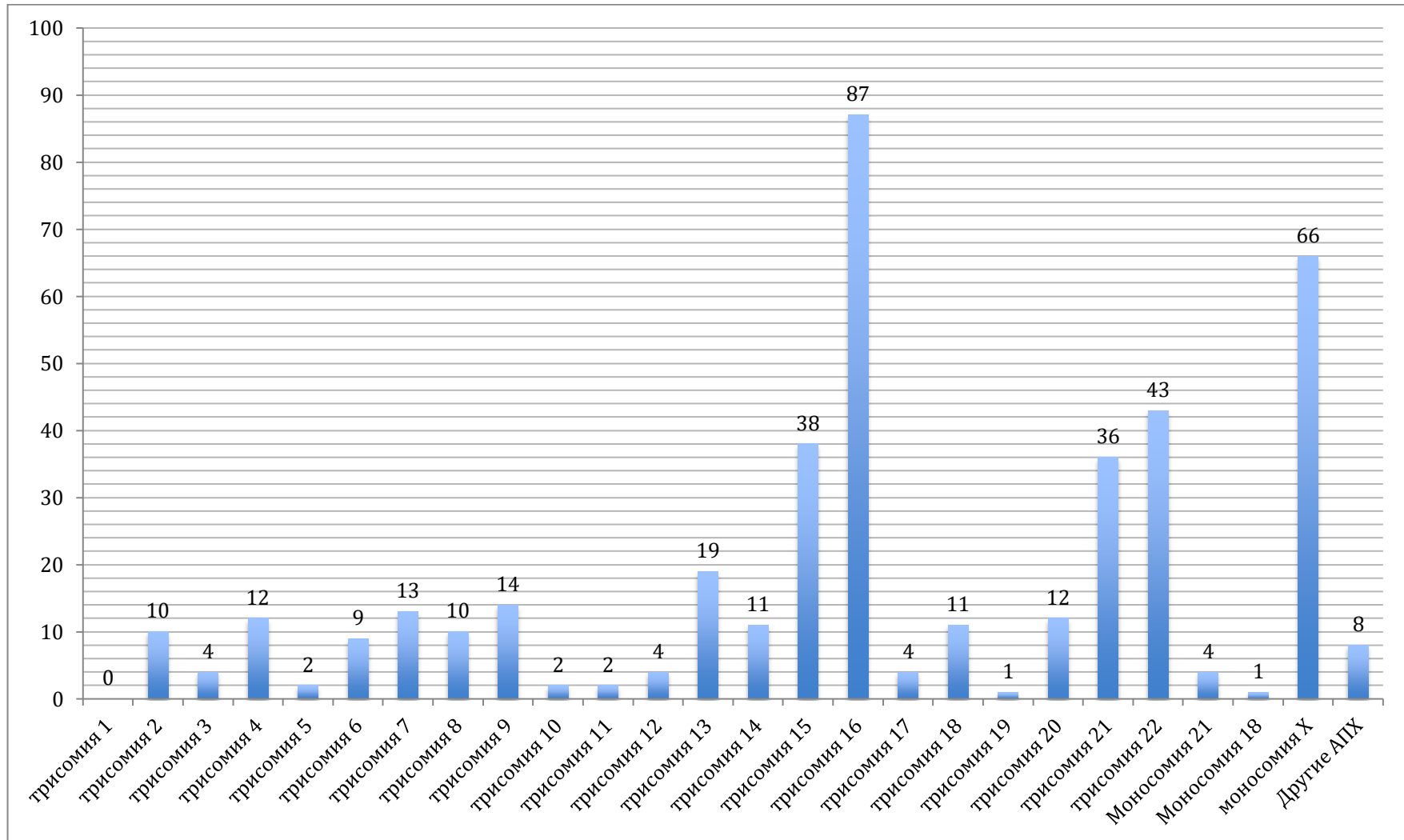


Рисунок 28. Количество анеуплоидий различных хромосом (%) в абортивном материале

Доля полиплоидий, которые были выявлены в 65 случаях, составила 11,2%. Их них в 62 (10,7%) случаях диагностирована триплоидия, в 3 случаях – тетраплоидия (0,5%). Необходимо отметить, что тетраплоидия может быть выявлена с помощью ХМА только при хромосомном наборе 96,XXXУ (рисунок 29), если хромосомный набор будет 96,XXXX или 96,XXУУ, с помощью ХМА будет получен нормальный молекулярный кариотип (клетка с тетраплоидным набором будет определена как 2 клетки с диплоидным набором).

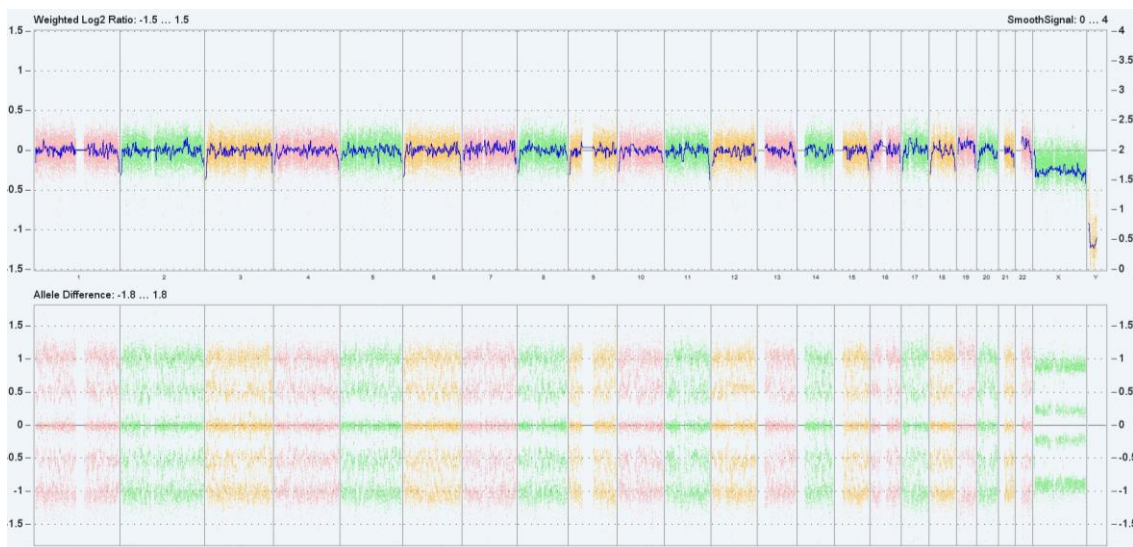


Рисунок 29. Графическое изображение тетраплоидии, ХМА (кариотип 69, XXXУ, молекулярный кариотип: $arr(1-22)x4,(X)x3,(Y)x1$)

В 52 образцах (9%) были выявлены различные несбалансированные структурные перестройки, в 10 (19,2%) из них встречались сочетанные структурные перестройки 2 или 3 хромосом, что может свидетельствовать о наличии несбалансированной транслокации, возникшей в результате наличия у одного из родителей сбалансированной транслокации или инверсии. Среди структурных перестроек в 30 случаях (57,7%) выявлялись субмикроскопические структурные перестройки, которые невозможно было бы выявить с помощью стандартного цитогенетического исследования – при кариотипировании был бы получен нормальный результат. Среди всех

образцов частота субмикроскопических структурных аномалий составила 4,4%. В 38 (6,6%) диагностировались множественные анеуплоидии.

Известно, что риск возникновения хромосомных aberrаций у плода находится в прямой зависимости от возраста беременной [224, 233, 300], в связи с этим мы решили проанализировать долю хромосомных аномалий в зависимости от возрастной категории матери. Результаты представлены в таблице 55. Из полученных данных следует, что чем больше возраст пациентки, у которой произошла потеря беременности, тем больше вероятность наличия у эмбриона хромосомных аномалий.

Таблица 55. Доля ХА у эмбриона при неразвивающейся беременности у пациенток различных возрастных категорий (группа 4_{ХМА})

Возраст, лет	Кол-во пациенток (n=1000)		Кол-во пациенток с ХА (n=680)	
	абс.	%	абс.	%
18-25	56	5,6	27	48,2
25-30	209	20,9	103	49,3
30-35	295	29,5	168	56,9
35-40	296	29,6	176	59,5
>40	144	14,4	102	70,8
Итого	1000	100	680	100

Известно, что чем старше пациентка, тем больше риск потери беременности [300]. Для того, чтобы проиллюстрировать взаимосвязь между возрастом пациентки и долей неразвивающихся беременностей с диагностированными ХА у эмбриона, мы рассчитали коэффициент корреляции Пирсона – он оказался равен 0,705, корреляционная связь статистически значима ($p < 0,01$). То есть, чем больше возраст пациентки, тем вероятнее, что потеря беременности произошла именно вследствие наличия хромосомных перестроек у эмбриона/плода. Графическое изображение взаимосвязи между данными параметрами представлена на рисунке 30.

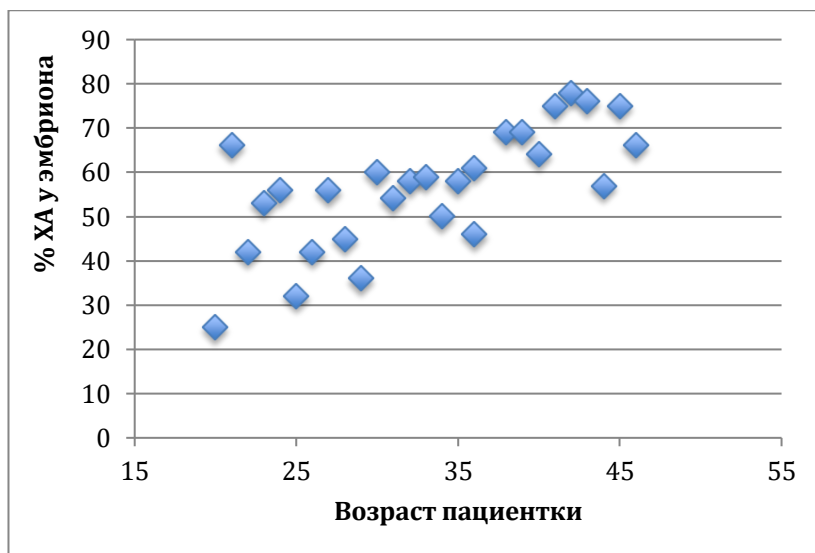


Рисунок 30. Доля эмбрионов с ХА при неразвивающейся беременности в зависимости от возраста пациенток ($r=0,705$)

Для проверки гипотезы о различиях в генетических причинах спорадического и привычного выкидыша нами проведен сравнительный анализ хромосомной патологии выявленной в абортивном материале. В группе 4.1 различные ХА были выявлены в 378 образцах (55,5%), во группе 4.2 – в 203 образцах (63,5%). Таким образом, частота встречаемости хромосомных аномалий у пациенток, уже имеющих невынашивание беременности в анамнезе, оказалась даже выше, чем при спорадическом невынашивании – различия статистически достоверны ($\chi^2=5,84$, $p=0,015$). Самая высокая частота ХА оказалась в подгруппе 4.2А – 64,1%, что существенно выше, чем в подгруппе 4.1 ($\chi^2=6,17$, $p=0,013$), в подгруппе 4.2Б частота ХА оказалась несколько ниже – 58,8%, различия с 4.1 и 4.2а подгруппами статистически не существенны ($p>0,05$).

Структура хромосомных аномалий в исследуемых подгруппах представлена в таблице 56. По структуре хромосомных аномалий существенных различий не выявлено. Чаще всего обнаруживались трисомии аутосом и числовые аномалии половых хромосом. Обращает на себя внимание наиболее высокая частота структурных аномалий в подгруппе пациенток, уже ранее имевших 2 и более случая невынашивания

беременности (подгруппа 4.2Б), хотя различия статистически не значимы ($\chi^2=1,19$, $p=0,27$). Как уже говорилось выше, подобные аномалии могут быть результатом наличия в кариотипе одного из родителей сбалансированных хромосомных перестроек (транслокаций и инверсий), то есть носить наследственный характер.

Таблица 56. Различные виды хромосомных перестроек в исследуемых группах

Результат исследования	Группа 4.1, N=681		Группа 4.2А, N=285		χ^2	p_a	Группа 4.2Б, N=34		χ^2	p_b
	абс.	%	абс.	%			абс.	%		
Трисомии аутосом	224	32,8	101	35,8	0,72	0,39	11	32,4	0,01	0,95
Моносомии аутосом	5	0,7	0	-	0,47	0,49	0	0	0,25	0,62
Анеуплоидии половых хромосом	51	7,4	22	7,8	0,02	0,88	1	2,9	0,99	0,32
Множественные анеуплоидии	22	3,2	15	5,3	2,3	0,13	1	2,9	0,01	0,93
Триплоидия	42	6,2	27	9,6	3,39	0,06	3	8,8	0,39	0,53
Тетраплоидия	2	0,3	0	0	0,83	0,36	1	2,9	3,44	0,06
Структурные аномалии	31	4,6	18	6,3	1,29	0,25	3	8,8	1,19	0,27
Норма	304	44,5	102	35,9	6,17	0,01	14	41,2	0,15	0,69

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; p_a -уровень значимости различий между группами 4.1 и 4.2А, p_b -между группами 4.1 и 4.2Б, статистически значимые различия при $p<0,05$

5.2 Сравнительная характеристика хромосомного микроматричного анализа и цитогенетического изучения abortивного материала при спорадической и привычной потере беременности

Поскольку ХМА не является на сегодняшний день общепризнанным методом исследования при анализе abortивного материала пациенток с неразвивающейся беременностью, для оценки его эффективности и клинической значимости нами предпринят сравнительный анализ между ХМА и цитогенетическим кариотипированием, для этого мы ввели

дополнительную группу – 4ц, которую составили 253 пациентки. Это также были пациентки с неразвивающейся беременностью, диагностированной в сроке беременности 6-12 недель, однако им было проведено стандартное цитогенетическое исследование продуктов зачатия. У 43 (19,9%) женщин исследование провести не удалось из-за низкого качества биологического материала и неудач культивирования, таким образом проанализировать количество и структуру ХА в этой группе удалось у 210 женщин. Результаты представлены в таблице 57. При проведении цитогенетического исследования нормальный и патологический хромосомный набор были определены соответственно в 85 и 125 случаях (40,5% и 59,5%). Достоверных различий между исследуемыми группами (4_{ХМА} и 4ц) по количеству образцов с нормальным и патологическим хромосомным набором не выявлено ($\chi^2=0,71$, $p=0,4$). Однако структура хромосомных аномалий в исследуемых группах демонстрировала существенные различия по некоторым составляющим.

Таблица 57. Результаты анализа хромосомного набора в абортивном материале при использовании ХМА и стандартного кариотипирования

Результат исследования	Группа 4 _{ХМА} , n=1000		Группа 4ц, n=210		χ^2	p
	Абс.	%	Абс.	%		
Трисомии аутосом	346	34,6	60	28,5	1,1	0,29
Моносомии аутосом	5	0,05	0	-	1,05	0,3
Анеуплоидии половых хромосом	74	7,4	16	7,6	0,01	0,91
Множественные анеуплоидии	38	3,8	15	7,1	4,63	0,03
Триплоидия	62	6,2	21	10,0	3,92	0,04
Тетраплоидия	5	0,52	11	5,2	29,86	<0,01
Структурные аномалии	52	5,2	2	0,9	7,34	<0,01
Норма	420	42	85	40,5	0,71	0,4

Количество анеуплоидий аутосом и гоносом существенно не различалось в исследуемых группах. Структурные аномалии чаще

встречались при использовании ХМА – 52 случаев (5,2% от всех результативных исследований, 8,9% среди выявленных хромосомных аномалий в этой группе) ($\chi^2=7,34$, $p<0,01$). Это объясняется более высокой разрешающей способностью данного исследования – большинство выявленных перестроек из-за субмикроскопического размера невозможно было бы обнаружить при традиционном цитогенетическом исследовании. В группе, где проводилось цитогенетическое исследование, выявлено всего 2 структурные перестройки (0,8%) ($\chi^2=7,34$, $p<0,01$). Причем одна из них (0,4%) – сбалансированная Робертсоновская транслокация, которая не была бы обнаружена при проведении ХМА.

Обращает на себя внимание более высокая частота полиплоидий при проведении цитогенетического исследования. При использовании ХМА триплоидия обнаружена в 62 (6,2%) случаев, а тетраплоидия – в 3 (0,3%). При этом во второй группе триплоидия выявлена в 10,0%, а тетраплоидия – в 5,2% случаев. Выявленные различия статистически значимы (для триплоидии $\chi^2=3,92$, $p=0,04$, для тетраплоидии - $\chi^2=29,86$, $p<0,01$). Для этого есть 2 объяснения. Во-первых, чувствительность ХМА ниже при определении полиплоидии, чем стандартное цитогенетическое исследование, особенно в случае тетраплоидии. Во всех случаях тетраплоидии, выявленной с помощью ХМА, был определен молекулярный кариотип 96,XXXXY (рисунок 29). Вероятно, при наличии кариотипа 96,XXXX или 96,XXYY, ХМА «принимает» одну тетраплоидную клетку за 2 диплоидных. Однако, есть и другое объяснение. Нам встретились в литературе сведения о возможной полиплоидизации клеток в процессе культивирования клеток при кариотипировании [41]. Например, в литературе описано сравнение традиционного кариотипирования и FISH-диагностики [41]. При FISH-диагностике уровень тетраплоидии также оказался существенно ниже, чем при цитогенетическом исследовании, где проводится культивирование клеток. Существует гипотеза о полиплоидизации фибробластов плацентарных тканей в ходе их пролиферации *in vitro*, в ряде исследований

показано, что в некультивируемых клетках трофобласта эмбриона частота тетраплоидии намного ниже, чем в культивируемых [41, 54, 244, 312]. Эти данные требуют проведения отдельных целенаправленных исследований для подтверждения этого предположения.

Также при проведении кариотипирования чаще, чем при проведении ХМА, выявлялись множественные анеуплоидии – они были соответственно в 15(7,1%) и в 38(3,8%) случаях ($\chi^2=4,63$, $p=0,03$). Возможно, это также можно объяснить появлением геномных мутаций *de novo* при проведении культивирования клеток.

Таким образом, ХМА имеет определенные организационные и технологические преимущества по сравнению с цитогенетическим исследованием, которые состоят в возможности отсроченного выполнения теста, транспортировки биологического материала, возможности выявления микроструктурных хромосомных аномалий, отсутствие необходимости культивирования клеток и, следовательно, исключение фактора неудач при данном процессе, возможность использования для анализа мертвых тканей, исключение вероятности полиплоидизации фибробластов плацентарной ткани и снижение вероятности ложноположительных результатов. С этих позиций ХМА может быть рекомендован для использования в клинической практике. Однако у стандартного цитогенетического исследования тоже есть ряд преимуществ – возможность выявления сбалансированных перестроек, более эффективное выявление полиплоидии, особенно тетраплоидии. Поэтому данный метод тоже может быть использован, особенно, если в учреждении имеется собственная цитогенетическая лаборатория, и не требуется транспортировка материала.

5.3. Алгоритм обследования пациентки при неразвивающейся беременности.

На основании полученных результатов и данных научной литературы мы предлагаем алгоритм обследования пациентки при неразвивающейся беременности в 1 триместре – рисунок 31.

При произошедшей неразвивающейся беременности в 1 триместре у пациентки, следует направить продукты зачатия (абортивный материал) на генетическое исследование. Для оценки хромосомного набора эмбриона (плода) предпочтительно использовать ХМА, так как данный метод исследования чаще выявляет структурные перестройки, которые могут носить наследственный характер [312, 319] (это особенно важно иметь ввиду при привычном невынашивании беременности), кроме того есть возможность транспортировки материала. Если в учреждении имеется собственная цитогенетическая лаборатория, и транспортировка не требуется, возможно проведение стандартного кариотипирования эмбриона (плода), особенно в случае, если невынашивание беременности носить спорадический характер, и велика вероятность числовых ХА и полиплоидии. В рутинной практике акушера-гинеколога возможно использование обоих методов, выбор зависит в том числе от оснащенности учреждения и ряда организационных моментов.

Алгоритм обследования пациентки при неразвивающейся беременности



*При выявлении трисомий акроцентрических хромосом методом ХМА необходимо провести анализ кариотипа родителей для исключения наличия робертсоновской транслокации

Рисунок 31. Алгоритм обследования пациентки при неразвивающейся беременности

При выявлении в абортном материале несбалансированной транслокации, велика вероятность наличия сбалансированной транслокации у одного из родителей, необходимо либо провести цитогенетическое обследование супругов (если размер перестройки, указанный в заключении, позволяет выявить ее путем стандартного анализа кариотипа), либо FISH-диагностику (если размер выявленной CNV субмикроскопический) для выявления носительства транслокаций между хромосомами, вовлеченными в перестройку. При выявлении у одного из супругов носительства сбалансированной транслокации, для реализации репродуктивной функции методом выбора является проведение ЭКО с ПГД [4, 67].

При выявлении в абортном материале числовых аномалий хромосом и отсутствии потерь беременности в анамнезе, далее проводится стандартная прегравидарная подготовка, дополнительное генетическое обследование супругам не требуется. Исключение составляет ситуация, когда методом ХМА выявлены трисомии акроцентрических хромосом, которые могут вступать в Робертсоновскую транслокацию (ХМА не определяет конкретную локализацию генетического дисбаланса и не может различить регулярную трисомию и транслокационный вариант). В этом случае требуется анализ кариотипа супругов для исключения Робертсоновской транслокации.

В случае, если выявлена числовая хромосомная аномалия, и у супругов уже имеются потери беременности в анамнезе, следует обсудить с ними вопрос о проведении ЭКО с ПГТ и переносе зуплоидного эмбриона [67].

Если произошло невынашивание беременности, и при этом определен нормальный молекулярный кариотип эмбриона (плода), необходимо провести углубленное клинико-лабораторное обследование, направленное на поиск гинекологических и экстрагенитальных причин невынашивания беременности, включая анализ на АФС, оценку тиреоидного статуса, УЗИ органов малого таза [300]. Предлагать пациентке ЭКО с ПГТ в данном случае не целесообразно, даже в случае наличия не однократных потерь

беременности ранее [67].

Во всех случаях привычного невынашивания беременности следует рекомендовать пациентке консультацию генетика.

5.4. Исследование генетических полиморфизмов при невынашивании беременности

Среди пациенток, имеющих в анамнезе невынашивание беременности (подгруппа 4.2), 102 пациенткам мы провели молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфизмов в генах, теоритически ассоциированных с осложнениями беременности. В качестве контрольной группы мы использовали группу 1.2 (контрольная группа на 1 этапе исследования). Мы использовали общую, мультипликативную, доминантную и рецессивную модели анализа.

Результаты, полученные при использовании общей модели, представлены в таблицах 58-63.

В таблице 58 представлена общая модель анализа генов, ассоциированных с функционированием системы гемостаза. Значимые различия установлены при анализе генов рецепторов тромбоцитов. Гомозиготный генотип ТТ в гене ITGB3 чаще выявлялся в группе 1.2 – у 80 (71,4%) пациенток, в подгруппе 4.2 он был выявлен лишь у 54 (52,9%) ($\chi^2=7,79$, $p=0,005$, ОШ=0,45, ДИ 0,26-0,79). Гетерозиготный генотип СТ, напротив, чаще выявлялся у пациенток подгруппы 4.2 – в этой группе он был установлен у 39 (38,2%) участниц, а в группе 1.2 – у 25 (22,3%) ($\chi^2=6,45$, $p=0,01$, ОШ=2,15, ДИ 1,19-3,92). По частоте встречаемости гомозиготного генотипа СС различия не существенны – он выявлен соответственно у 9 (8,8%) и 7 (6,3%) пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 ($\chi^2=0,51$, $p=0,47$, ОШ=1,45, ДИ 0,52-4,05).

Таблица 58. Распределение полиморфных генотипов генов системы гемостаза у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	GG	75	73,5	76	67,9	0,83	0,36	1,32(0,73-2,38)
	GA	17	16,7	31	27,7	3,72	0,05 3	0,52(0,27-1,02)
	AA	10	9,8	5	4,5	2,34	0,13	2,33(0,77-7,05)
F2 G-20210A	GG	102	100	111	99,1	0,91	0,34	0,92(0,07- 14,88)
	GA	0	-	1	0,9	0,91	0,34	1,08(0,07- 17,63)
	AA	0	-	0	-	0,00	1	-
F5 G1691A	GG	99	97,1	106	94,6	0,77	0,38	1,87(0,45-7,67)
	GA	2	2	6	5,2	1,71	0,19	0,35(0,07-1,79)
	AA	1	1	0	-	1,1	0,29	1,11(0,07- 17,96)
F7 G10976A	GG	81	79,4	89	79,5	0,00	0,99	1(0,51-1,94)
	GA	21	20,6	20	17,9	0,26	0,61	1,19(0,6-2,36)
	AA	0	-	3	2,7	2,77	0,1	0,35(0,04-3,5)
F13 G103A	GG	57	55,9	49	43,8	3,14	0,08	1,63(0,95-2,8)
	GA	44	43,1	57	50,9	1,28	0,26	0,73(0,43-1,26)
	AA	1	1	6	5,2	3,23	0,07	0,17(0,02-1,48)
PLAT C7351T	CC	45	44,1	48	42,9	0,03	0,85	1,05(0,61-1,81)
	CT	42	41,2	39	34,8	0,92	0,34	1,31(0,75-2,28)
	TT	15	14,7	25	22,3	2,04	0,15	0,6(0,3-1,22)
PAI1 -657 5G/4G	5G5G	24	23,5	27	24,1	0,01	0,92	0,97(0,51-1,82)
	5G4G	42	41,2	57	50,9	2,03	0,15	0,68(0,39-1,16)
	4G4G	36	35,3	28	25	2,7	0,1	1,64(0,91-2,95)
PROC A2583T	AA	45	44,1	39	34,8	1,93	0,16	1,48(0,85-2,56)
	AT	24	23,5	39	34,8	3,28	0,07	0,58(0,32-1,05)
	TT	33	32,3	34	30,4	0,1	0,75	1,1(0,62-1,96)
ITGA2 C807T	CC	42	41,2	33	29,5	3,22	0,07	1,68(0,95-2,95)
	CT	42	41,2	51	45,5	0,41	0,52	0,84(0,49-1,44)
	CC	18	17,6	28	25	1,71	0,19	0,64(0,33-1,25)
ITGB3 T176C	TT	54	52,9	80	71,4	7,79	0,01	0,45(0,26-0,79)
	TC	39	38,2	25	22,3	6,45	0,01	2,15(1,18-3,92)
	CC	9	8,8	7	6,3	0,51	0,47	1,45(0,52-4,05)
GPVI A683G	AA	60	58,8	85	75,9	19,56	0,00	0,31(0,18-0,54)
	AG	33	32,4	21	18,8	5,23	0,02	2,07(1,1-3,89)
	GG	9	8,8	6	5,4	0,94	0,32	1,71(0,58-4,98)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Для полиморфизма GPVI A683G получены аналогичные

закономерности. Генотип AA чаще выявлялся в группе 1.2 – у 85 (75,9%) пациенток, в подгруппе 4.2 он установлен у 60 (58,8%) ($\chi^2=19,56$, $p<0,001$, ОШ=0,31, ДИ 0,18-0,54). Генотип AG чаще выявлялся у пациенток подгруппы 4.2 – у 33 (32,4%), в группе 1.2 такой вариант был лишь у 21 (18,8%) женщин ($\chi^2=5,23$, $p=0,02$, ОШ=2,07, ДИ 1,1-3,89). Гомозиготный генотип GG в обеих группах выявлялся достаточно редко – у 9 (8,8%) пациенток подгруппы 4.2 и у 6 (5,4%) группы 1.2 ($\chi^2=0,94$, $p=0,32$, ОШ=1,71, ДИ 0,58-4,98). Полученные данные свидетельствуют о важной роли внешнего пути свертывания в нормальном развитии беременности в ранние сроки.

При анализе частот различных генотипов в генах фолатного цикла статистически значимых различий между исследуемыми группами практически не было (таблица 59). Это согласуется с результатами многих научных публикаций последних лет [154, 210, 272]. Было выявлено единственное расхождение между исследуемыми группами: гетерозиготный вариант TC SLC19A1 T80C в группе 1.2 встречался чаще – у 39 (34,8%) пациенток, тогда как в подгруппе 4.2 он выявлено у 18 (17,6%) ($\chi^2=8,05$, $p=0,005$, ОШ=1,62, ДИ 0,76-3,53). Частота гомозиготных генотипов TT и CC в этом гене оказались сопоставимы в обеих группах – в подгруппе 4.2 они были соответственно у 66 (64,7%) и 18 (17,6%), а в группе 1.2 – у 60 (53,6%) и 13 (11,6%) ($p>0,05$).

Таблица 59. Распределение полиморфных генотипов генов фолатного цикла у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	CC	51	50	52	46,4	0,27	0,6	1,15(0,67-1,97)
	CT	42	41,2	45	40,2	0,02	0,88	1,04(0,6-1,8)
	TT	9	8,8	15	13,4	1,07	0,3	0,63(0,26-1,52)
MTHFD G1958A	GG	30	29,4	39	34,8	0,72	0,4	0,78(0,44-1,39)
	GA	45	44,1	50	44,6	0,63	0,43	1,37(0,67-1,94)
	AA	27	26,5	23	20,5	1,05	0,31	1,39(0,74-2,63)
MTR A2756G	AA	69	67,6	79	70,5	0,38	0,54	0,87(0,55-1,38)
	AG	27	26,5	20	17,9	2,31	0,13	1,66(0,86-3,18)
	GG	6	5,9	13	11,6	2,16	0,14	0,48(0,17-1,3)
MTRR A66G	AA	27	26,5	22	19,6	1,41	0,24	1,47(0,77-2,8)
	AG	57	55,9	59	52,7	0,22	0,64	1,14(0,66-1,95)
	GG	18	17,6	31	27,7	3,04	0,08	0,56(0,29-1,08)
CBS 844 D/I	DD	96	94,1	106	94,6	0,22	0,64	1,14(0,66-1,95)
	DI	6	5,9	3	2,7	1,36	0,24	2,27(0,55-9,33)
	II	0	-	3	2,7	2,77	0,1	0,36(0,04-3,48)
SLC19A1 T80C	TT	66	64,7	60	53,6	2,73	0,1	1,59(0,92-2,75)
	TC	18	17,6	39	34,8	8,05	0,01	0,4(0,21-0,76)
	CC	18	17,6	13	11,6	1,57	0,21	1,62(0,76-3,53)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

При анализе частоты встречаемости полиморфных генотипов в генах «дисфункции эндотелия» и генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы между исследуемыми группами выявлены существенные различия (таблица 60). Гомозиготный генотип 5R5R в гене NOS3 VNTR чаще встречался в группе 1.2 – у 78 (69,6%) против 57 (55,9%) в подгруппе 4.2 ($\chi^2=4,34$, p=0,04, ОШ=0,55, ДИ 0,31-0,97). Гетерозиготный и полиморфный гомозиготный генотипы в группе 4.2 встречались несколько чаще – соответственно у 39 (38,2%) и 6 (5,9%), а в группе 1.2 – у 29 (25,9%) и 5 (4,5%) (p>0,05). Это еще раз подчеркивает значение эндотелиальной дисфункции и нарушений сосудисто-

тромбоцитарного гемостаза при неразвивающейся беременности.

Таблица 60. Распределение полиморфных генотипов генов «дисфункции эндотелия» и РААС у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	GG	72	70,6	74	66,1	0,5	0,48	1,23(0,69-2,19)
	GT	21	20,6	30	26,8	1,13	0,29	0,71(0,37-1,34)
	TT	9	8,8	8	7,1	0,21	0,65	1,26(0,47-3,39)
NOS3 G894T	GG	57	55,9	63	56,3	0,00	0,96	0,99(0,57-1,69)
	GT	39	38,2	45	40,2	0,08	0,77	0,92(0,53-1,6)
	TT	6	5,9	4	3,6	0,22	0,64	1,34(0,4-4,52)
NOS3 VNTR	5R5R	57	55,9	78	69,6	4,34	0,04	0,55(0,31-0,97)
	5R4R	39	38,2	29	25,9	3,75	0,05	1,77(0,99-3,17)
	4R4R	6	5,9	5	4,5	0,22	0,64	1,34(0,4-4,52)
CYP11B2 G-344A	GG	36	35,3	28	25	2,7	0,1	1,64(0,9-2,95)
	GA	45	44,1	65	58	4,14	0,04	0,57(0,33-0,98)
	AA	21	20,6	19	17	0,46	0,5	1,27(2,52-0,64)
ACE Alu I/D	II	21	20,6	28	25	0,72	0,4	0,76(0,4-1,44)
	ID	57	55,9	65	58	0,1	0,75	0,92(0,53-1,57)
	DD	24	23,5	19	17	1,43	0,23	1,51(0,77-2,95)
AGT A704G	AA	30	29,4	31	27,8	0,08	0,78	1,09(0,6-1,97)
	AG	39	38,2	55	49,1	2,56	0,11	0,64(0,37-1,11)
	GG	33	32,4	26	23,2	2,23	0,14	1,58(0,86-2,89)
ADD1 G1378T	GG	57	55,9	78	69,6	4,32	0,04	0,55(0,31-0,97)
	GT	39	38,2	29	25,9	3,75	0,05	1,77(0,99-3,17)
	TT	6	5,9	5	4,5	0,22	0,64	1,34(0,4-4,52)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

В группе 1.2 чаще встречался гетерозиготный вариант GA CYP11B2 G344A – у 65 (58%) против 45 (44,1%) в подгруппе 4.2. По частоте встречаемости гомозиготных генотипов GG и AA различия не существенны. Помимо этого, в группе 1.2 чаще встречался гомозиготный вариант GG в 1378 положении гена α -аддуктина ADD1. Частота

встречаемости генотипа GG ADD1 G1378A в подгруппе 4.2 и группе 1.2 составила соответственно 57 (55,9%) и 78 (69,6%) ($\chi^2=4,32$, $p=0,04$, ОШ=0,55, ДИ 0,31-0,97). Гетерозиготный вариант GA выявлялся в группах 4.2 и 1.2 соответственно у 39 (38,2%) и 29 (25,9%), а вариант AA – у 6 (5,9%) и 5 (4,5%) пациенток, различия статистически не значимы ($p>0,05$). Вероятно, РААС влияет на риск невынашивания беременности также опосредованно через состояние сосудов, поскольку в процессе ее функционирования вырабатываются мощные вазоконстрикторы, количество которых может быть повышено при наличии определенных генетических вариантов.

В таблице 61 представлен анализ полиморфных вариантов генов цитокинов.

Таблица 61. Распределение полиморфных генотипов генов цитокинов у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	GG	54	52,9	52	46,4	0,91	0,34	1,3(0,76-2,22)
	GA	39	38,2	52	46,4	1,47	0,23	0,71(0,41-1,23)
	AA	9	8,8	8	7,2	0,21	0,65	1,26(0,47-3,39)
IL1 β G+3953A	GG	54	52,9	78	69,6	5,9	0,02	0,5(0,29-0,88)
	GA	42	41,2	30	26,8	4,95	0,03	1,91(1,08-3,4)
	AA	6	5,9	4	3,6	0,64	0,42	1,69(0,46-6,16)
TNF-a G-308A	GG	75	73,5	89	79,5	1,05	0,31	0,72(0,38-1,36)
	GA	18	17,6	20	17,9	0,00	0,97	0,99(0,49-1,99)
	AA	9	8,8	3	2,7	3,8	0,05	3,52(0,91-13,37)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

При анализе этой генной сети выявлены различия по частоте встречаемости различных генотипов IL1 β G+3953A. Гомозиготный генотип GG в подгруппе 4.2 и группе 1.2 встречался соответственно у 54

(52,9%) и 78 (69,6%) женщин ($\chi^2=5,9$, $p=0,02$, ОШ=0,5, ДИ 0,29-0,88). Вариант GA в этих группах выявлен соответственно у 42 (41,2%) и 30 (26,8%) ($\chi^2=4,95$, $p=0,03$, ОШ=1,91, ДИ 1,08-3,4). Гомозиготный генотип AA в подгруппе 4.2 встречался также несколько чаще, чем в группе 1.2, соответственно у 6 (5,9%) и 4 (3,6%) участниц, но по этому варианту различия статистически не значимы ($\chi^2=0,64$, $p=0,42$, ОШ=1,69, ДИ 0,46-6,16). Это подчеркивает вклад иммунной системы и состояние воспалительного ответа в патогенез невынашивания беременности в ранние сроки.

Таблица 62 иллюстрирует распределение полиморфных генотипов генов системы детоксикации и антиоксидантной системы. При анализе генов системы детоксикации мы выявили, что у пациенток с невынашиванием беременности (подгруппа 4.2) чаще встречается гетерозиготный генотип гена +/-del гена GSTM – в подгруппе 4.2 он был выявлен у 21 (20,6%) пациенток, а в контрольной группе только у 7 (6,3%) ($\chi^2=9,65$, $p=0,002$, ОШ=3,89, ДИ 1,58-9,6). Гомозиготный генотип ++ гена GSTT в группе 4.2 был диагностирован у 75 (73,5%) участниц, а в группе 1.2 – у 102 (91,1%) ($\chi^2=11,49$, $p<0,001$, ОШ=0,27, ДИ 0,12-0,6), а «нулевой» вариант del/del соответственно у 18 (17,6%) и 5 (4,5%) ($\chi^2=9,67$, $p=0,002$, ОШ=4,59, ДИ 1,64-12,9). Гетерозиготный генотип +/-del в этих группах был установлен у 9 (8,8%) и 5 (4,5%), различия между группами не значимы ($\chi^2=1,66$, $p=0,2$, ОШ=2,07, ДИ 0,67-6,4). Кроме того, значимые различия получены по частоте встречаемости гомозиготных вариантов CC и TT GPX1 C593T. Генотип CC в группах 4.2 и 1.2 был установлен соответственно у 21 (20,6%) и 38 (33,9%) ($\chi^2=4,75$, $p=0,03$, ОШ=0,5, ДИ 0,27-0,94), а TT – у 9 (8,8%) и 2 (1,8%) ($\chi^2=5,42$, $p=0,02$, ОШ=5,32, ДИ 1,21-25,25). Чаще всего в обеих группах встречался гетерозиготный генотип CT – соответственно у 72 (70,6%) и 72 (64,3%), различия между группами минимальны ($\chi^2=0,96$, $p=0,33$, ОШ=1,33, ДИ 0,75-2,37).

Таблица 62. Распределение полиморфных генотипов генов системы детоксикации и антиоксидантной системы у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+/+	57	55,9	73	65,2	1,93	0,16	0,68(0,39-1,17)
	+del	21	20,6	7	6,3	9,65	<0,01	3,89(1,58-9,6)
	del/del	24	23,5	32	28,6	0,7	0,4	0,77(0,41-1,42)
GSTP A313G	AA	84	82,4	81	72,3	3,04	0,08	1,79(0,92-3,44)
	AG	15	14,7	25	22,3	2,04	0,15	0,6(0,3-1,22)
	GG	3	2,9	6	5,4	1,53	0,22	0,49(0,12-1,99)
GSTP C341T	CC	75	73,5	78	69,6	0,4	0,53	1,21(0,66-2,2)
	CT	21	20,6	30	26,8	1,13	0,29	0,71(0,37-1,34)
	TT	6	5,9	4	3,5	0,64	0,42	1,69(0,46-6,16)
GSTT N/del	+/+	75	73,5	102	91,1	11,49	<0,01	0,27(0,12-0,6)
	+del	9	8,8	5	4,5	1,66	0,2	2,07(0,67-6,4)
	del/del	18	17,6	5	4,5	9,67	<0,01	4,59(1,64-12,9)
GPX1 C593T	CC	21	20,6	38	33,9	4,75	0,03	0,5(0,27-0,94)
	CT	72	70,6	72	64,3	0,96	0,33	1,33(0,75-2,37)
	TT	9	8,8	2	1,8	5,42	0,02	5,32(1,21-25,25)
MnSOD A251G	AA	30	29,4	21	18,8	3,34	0,07	1,81(0,95-3,42)
	AG	48	47,1	62	55,4	1,47	0,23	0,72(0,41-1,23)
	GG	24	23,5	29	25,9	0,16	0,69	0,88(0,47-1,64)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Понимая, что при привычном невынашивании беременности, также, как и при спорадическом, высока частота хромосомных аномалий у плода, мы предполагаем, что возможно именно сниженная детоксикация и нарушение антиоксидантной защиты в организме матери приводит к повышению риска анеуплоидий у эмбриона. Возможно, что нарушенная функция детоксикации организма снижает устойчивость к экзо- и эндогенным мутагенам, что приводит к повышенной частоте геномных мутаций в яйцеклетках.

По частоте встречаемости полиморфных вариантов в генах рецепторов

эстрогенов и прогестерона принципиальных различий не обнаружено (таблица 63).

Таблица 63. Распределение полиморфных генотипов генов рецепторов половых гормонов у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	TT	25	24,5	32	27,6	0,45	0,5	0,81(0,44-1,49)
	TC	54	52,9	53	47,3	0,67	0,41	1,25(0,73-2,14)
	CC	23	22,3	27	24,1	0,07	0,79	0,91(0,48-1,73)
ESR2 A1730G	AA	67	65,7	80	71,4	0,82	0,37	0,77(0,43-1,37)
	AG	17	16,7	18	16,1	0,01	0,91	1,04(0,51-2,16)
	GG	18	17,6	14	12,5	1,11	0,29	1,5(0,7-3,2)
PRG G2721T	GG	87	85,3	96	85,7	0,00	0,93	0,97(0,45-2,07)
	GT	14	13,7	10	8,9	1,24	0,27	1,46(0,62-3,44)
	TT	1	1	6	5,4	3,23	0,07	0,17(0,02-1,48)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

В таблицах 64-69 представлено сравнение исследуемых групп по частоте встречаемости полиморфных аллелей анализируемых генов (мультипликативная модель).

При анализе генов системы гемостаза в рамках мультипликативной модели, также, как и при использовании общей модели, значимые различия между исследуемыми группами выявлены при анализе полиморфных вариантов генов, регулирующих сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (таблица 64).

Таблица 64. Распределение полиморфных аллелей генов тромбофилии у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=204)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	G	167	81,9	183	81,7	0,00	0,96	1,01(0,62-1,65)
	A	37	18,1	41	18,3			0,99(0,6-1,62)
F2 G-20210A	G	204	100	223	99,6	0,91	0,34	0,91(0,06-14,7)
	A	0	-	1	0,4			1,09(0,07-17,59)
F5 G1691A	G	200	98	218	97,3	0,24	0,62	1,38(0,38-4,95)
	A	4	2	6	2,7			0,73(0,2-2,61)
F7 G10976A	G	183	89,7	198	88,4	0,19	0,66	1,14(0,62-2,1)
	A	21	10,3	26	11,6			0,87(0,47-1,61)
F13 G103A	G	158	77,4	155	69,2	3,7	0,05	1,53(0,99-2,54)
	A	46	22,6	69	30,8			0,65(0,42-1,01)
PLAT C7351T	C	132	64,7	135	60,3	0,9	0,34	1,21(0,81-1,79)
	T	72	35,3	89	39,7			0,83(0,56-1,23)
PAI1 -657 5G/4G	5G	90	44,1	111	49,6	1,27	0,26	0,8(0,55-1,18)
	4G	114	55,9	113	50,4			1,24(0,85-1,82)
PROC A2583T	A	114	55,9	117	52,2	0,57	0,45	1,16(0,79-1,7)
	T	90	44,1	107	47,8			0,86(0,59-1,26)
ITGA2 C807T	C	126	61,8	117	52,2	3,95	0,04	1,48(1,01-2,17)
	T	78	38,2	107	47,8			0,68(0,46-0,99)
ITGB3 T176C	T	147	72,1	185	82,3	6,8	0,01	0,54(0,34-0,86)
	C	57	27,9	39	17,7			1,84(1,16-2,92)
GPVI A683G	A	153	75	191	85,3	7,14	0,01	0,52(0,32-0,84)
	G	51	25	33	14,7			1,93(1,18-3,14)

Примечание: n – число обследованных в группе x2; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

В гене ITGA2 C807T аллель С в подгруппе 4.2 встречался с частотой 61,8%, аллель Т – 38,2%, а в группе 1.2 аллель С с частотой 52,2%, аллель Т – 47,8 ($\chi^2=3,95$, p=0,046). В гене ITGB3 T176C в группе 4.2 аллель Т встречался с частотой 72,1%, аллель С – 27,9%, а в группе 1.2 аллель Т с частотой 82,3%, аллель С – 17,7% ($\chi^2=6,8$, p=0,01). По частоте встречаемости аллелей гена GPVI A683G также выявлены статистически значимые различия – аллель А в подгруппе 4.2 и группе 1.2 встречался

соответственно у 75% и 85,3%, а аллель G – у 25% и 14,7% ($\chi^2=7,14$, $p=0,01$).

Анализ полиморфных аллелей генов фолатного цикла представлен в таблице 65. При использовании мультипликативной модели в этой генной сети статистически значимых расхождений между исследуемыми группами не обнаружено.

Таблица 65. Распределение полиморфных аллелей генов фолатного цикла у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (N=204)		Группа 1.2 (N=124)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	C	144	70,6	149	66,5	0,82	0,37	1,21(0,8-1,82)
	T	60	29,4	75	33,5			0,83(0,55-1,25)
MTHFD G1958A	G	105	51,5	128	57,1	1,38	0,24	0,8(0,54-1,16)
	A	99	48,5	96	42,9			1,26(0,86-1,84)
MTR A2756G	A	165	80,9	178	79,5	0,13	0,71	1,09(0,58-1,76)
	G	39	19,1	46	20,5			0,91(0,57-1,47)
MTRR A66G	A	111	54,4	103	46	1,87	0,17	1,29(0,88-1,89)
	G	93	45,6	111	54			0,78(0,53-1,14)
CBS 844 D/I	D	198	97,1	215	96	0,37	0,55	1,38(0,48-3,95)
	I	6	2,9	9	4			0,72(0,25-2,07)
SLC19A1 T80C	T	150	73,5	159	71	0,34	0,56	1,14(0,74-1,74)
	C	54	26,5	65	29			0,88(0,57-1,35)

Примечание: n – число обследованных в группе χ^2 ; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

Распределение полиморфных аллелей генов «дисфункции эндотелия» и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы представлено в таблице 66. По наличию полиморфных аллелей в генах «дисфункции эндотелия» и генах ренин-ангиотензин-альдостероновой системы исследуемые группы оказались сопоставимы – статистически значимых различий нет.

Таблица 66. Распределение полиморфных аллелей генов «дисфункции эндотелия» и РААС у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=204)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	G	165	80,9	178	79,4	0,13	0,71	1,09(0,68-1,76)
	T	39	19,1	46	20,6			0,91(0,57-1,47)
NOS3 G894T	G	153	75	171	76,3	0,1	0,75	0,93(0,6-1,45)
	T	51	25	53	23,7			1,08(0,69-1,67)
NOS3 VNTR	5R	153	75	185	82,6	3,7	0,05	0,63(0,39-1,01)
	4R	51	25	39	17,4			1,58(0,99-2,52)
CYP11B2 G-344A	G	117	57,4	121	54	0,27	0,6	1,03(0,7-1,5)
	A	97	42,6	103	46			0,97(0,67-1,42)
ACE Alu I/D	I	99	48,5	121	54	1,29	0,26	0,8(0,55-1,17)
	D	105	51,5	103	46			1,25(0,85-1,82)
AGT A704G	A	99	48,5	117	52,2	0,59	0,44	0,86(0,59-1,26)
	G	105	51,5	107	47,8			1,16(0,79-1,69)
ADD1 G1378T	G	153	75	185	82,6	3,7	0,05	0,63(0,39-1,01)
	T	51	25	39	17,4			1,58(0,98-2,53)

Примечание: n – число обследованных в группе x2; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между группой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Анализ с помощью мультипликативной модели генов цитокинов содержится в таблице 67.

Таблица 67. Распределение полиморфных аллелей генов цитокинов у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=204)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	G	147	72,1	156	69,6	0,3	0,58	1,12(0,74-1,71)
	A	57	27,9	68	30,5			0,89(0,58-1,35)
IL1 β G+3953A	G	150	73,5	186	83	5,71	0,02	0,57(0,35-0,91)
	A	54	26,5	38	17			1,76(1,1-2,81)
TNF-a G-308A	G	168	82,4	198	88,4	3,14	0,08	0,61(0,36-1,06)
	A	36	17,6	26	12,6			1,63(0,94-2,81)

Примечание: n – число обследованных в группе x2; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Получены существенные различия для гена IL1 β G+3953A. Аллель G в подгруппе 4.2 встречается с частотой 73,5%, а в группе 1.2 – 83%, а полиморфный аллель A соответственно с частотой 26,5% и 17% - различия статистически достоверны ($\chi^2=5,71$, $p=0,02$). Таким образом, можно сделать заключение, что носительство аллеля A, которое предрасполагает к усилению воспалительных реакций организма, несколько повышает риск потери беременности.

Распределение полиморфных аллелей «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы представлено в таблице 68.

Таблица 68. Распределение полиморфных аллелей «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=204)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+	135	66,2	153	68,3	0,22	0,64	0,91(0,61-1,36)
	del	69	33,8	71	31,7			1,1(0,74-1,64)
GSTP A313G	A	183	89,7	187	83,5	3,53	0,06	1,72(0,97-3,06)
	G	21	10,3	37	16,5			0,58(0,32-1,03)
GSTP C341T	C	171	83,8	186	83	0,05	0,83	1,06(0,64-1,76)
	T	33	16,2	38	17			0,94(0,57-1,57)
GSTT N/del	+	159	77,9	209	93,3	20,9	<0,01	0,25(0,14-0,47)
	del	45	32,1	15	6,7			3,94(2,12-7,38)
GPX1 C593T	C	108	55,9	148	66,1	5,94	0,01	0,62(0,42-0,91)
	T	90	44,1	76	33,9			1,62(1,1-2,41)
MnSOD A251G	A	108	52,9	104	46,4	1,81	0,18	1,3(0,89-1,9)
	G	96	47,1	120	53,6			0,77(0,52-1,13)

Примечание: n – число обследованных в группе χ^2 ; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

В подгруппе 4.2 существенно чаще, чем в группе 1.2 встречался «нулевой» аллель гена GSTT – он был обнаружен соответственно в 32,1% случаях и в 6,7% случаях ($\chi^2=20,9$, $p<0,001$, ОШ 3,94, ДИ 2,12-7,38). Значимые различия также выявлены по частоте встречаемости аллелей C и T

гена глутатион пероксидазы GPX1 C593T. В подгруппе 4.2 аллель С встречался с частотой 55,9%, аллель Т – 44,1%, в группе 1.2 аллель С выявлен с частотой 66,1%, аллель Т соответственно с частотой 33,9% ($\chi^2=5,94$, $p=0,01$).

Таблица 69 посвящена генам рецепторов половых гормонов (эстрогенов и прогестерона). Существенных различий между исследуемыми группами не получено.

Таблица 69. Распределение полиморфных аллелей генов рецепторов половых гормонов у пациенток подгрупп 4.2 и группы 1.2 (мультипликативная модель)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=204)		Группа 1.2 (n=224)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	T	104	51	117	52,2	0,07	0,8	0,95(0,65-1,39)
	C	100	49	107	47,8			1,05(0,72-1,54)
ESR2 A1730G	A	161	78,9	178	79,5	0,02	0,89	0,97(0,61-1,54)
	G	43	21,1	46	20,5			1,03(0,65-1,65)
PRG G2721T	G	188	92,2	202	90,2	0,52	0,47	1,28(0,65-2,51)
	T	16	7,8	22	9,8			0,78(0,4-1,53)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

В таблицах 70-75 представлен анализ исследуемых полиморфизмов с помощью доминантной и рецессивной моделей.

В таблице 70 представлен анализ с помощью доминантной и рецессивной моделей генов системы гемостаза. Для гена ITGA2 C80T выраженные различия выявлены при использовании рецессивной модели. Генотипы, содержащие аллель С – CC+CT, - суммарно чаще встречались в подгруппе 4.2, в этой группе они были выявлены у 82,4%, тогда как в группе 1.2 у 84 (75%) ($\chi^2=22,55$, $p<0,001$, ОШ 0,25, ДИ 0,14-0,45). Для генов ITGB3 T176C и GPVI A683G значимые расхождения установлены при использовании доминантной модели анализа. В гене ITGB3 варианты

ТС+СС в подгруппе 4.2 выявлены у 48 (47%), а в группе 1.2 – у 32 (28,6%) ($\chi^2=7,79$, $p=0,005$, ОШ 2,22, ДИ 1,22-3,95). В гене GPVI генотипы, содержащие полиморфный аллель G (AG+GG) в подгруппе 4.2 были выявлены у 42 (41,2%), а в группе 1.2 – у 27 (24,1%) ($\chi^2=7,12$, $p=0,007$, ОШ 2,2, ДИ 1,22-3,95).

Таблица 70. Распределение полиморфных генотипов генов системы гемостаза у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
FGB G-455A	GG+GA	92	90,2	107	95,5	2,34	0,13	0,43(0,14-1,3)
	GA+AA	27	26,5	36	32,1	0,83	0,36	0,76(0,42-1,37)
F2 G-20210A	GG+GA	102	100	112	100	0,00	1	-
	GA+AA	0	-	1	0,9	0,91	0,34	1,1(0,07-17,63)
F5 G1691A	GG+GA	101	99,1	112	100	1,1	0,29	0,9(0,06-14,6)
	GA+AA	3	3	6	5,4	0,77	0,38	0,54(0,13-2,2)
F7 G10976A	GG+GA	102	100	109	97,3	2,77	0,1	2,81(0,29-27,4)
	GA+AA	21	20,6	23	20,5	0,00	0,99	1(0,52-1,95)
F13 G103A	GG+GA	101	99	106	94,6	3,23	0,07	5,72(0,68-48,32)
	GA+AA	45	44,1	63	56,3	3,14	0,08	0,61(0,36-1,05)
PLAT C7351T	CC+CT	87	85,3	87	77,7	2,04	0,15	1,67(0,82-3,37)
	CT+TT	57	55,9	64	57,1	0,03	0,85	0,95(0,55-1,63)
PAI1 -657 5G/4G	5G5G+ 5G4G	66	64,7	84	75	2,7	0,1	0,61(0,34-1,1)
	5G4G+ 4G4G	78	76,5	85	75,9	0,01	0,92	1,03(0,55-1,94)
PROC A2583T	AA+AT	69	67,6	78	69,6	0,1	0,75	0,91(0,51-1,62)
	AT+TT	57	55,8	73	65,2	1,93	0,16	0,68(0,39-1,17)
ITGA2 C807T	CC+CT	44	82,4	84	75	22,55	<0,01	0,25(0,14-0,45)
	CT+TT	60	58,8	79	70,5	3,21	0,07	0,6(0,34-1,05)
ITGB3 T176C	TT+TC	93	91,2	105	93,8	0,51	0,47	0,69(0,25-1,92)
	TC+CC	48	47	32	28,6	7,79	0,01	2,22(1,26-3,91)
GPVI A683G	AA+AG	93	91,2	106	94,6	0,98	0,32	0,58(0,2-1,71)
	AG+GG	42	41,2	27	24,1	7,12	0,01	2,2(1,22-3,95)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

Доминантная и рецессивная модели анализа для генов фолатного цикла

содержатся в таблице 71. Статистически значимых различий между группами 4.2 и 1.2 не выявлено, также, как и при использовании мультипликативной модели. Это еще раз подтверждает тот факт, что использование анализа полиморфизмов генов фолатного цикла при невынашивании беременности в клинической практике мало полезно и не целесообразно.

Таблица 71. Распределение полиморфных генотипов генов фолатного цикла у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотип	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
MTHFR C677T	CC+CT	93	91,2	97	86,6	1,12	0,29	1,6(0,67-3,83)
	CT+TT	51	50	60	53,6	0,27	0,6	0,87(0,51-1,48)
MTHFD G1958A	GG+GA	75	73,5	89	79,5	1,05	0,31	0,72(0,38-1,36)
	GA+AA	72	70,6	73	68,8	0,72	0,4	1,28(0,72-2,28)
MTR A2756G	AA+AG	96	94,1	99	88,4	2,16	0,14	2,1(0,77-5,75)
	AG+GG	33	32,4	33	29,5	0,21	0,65	1,14(0,64-2,05)
MTRR A66G	AA+AG	84	82,4	81	72,3	3,05	0,08	1,79(0,93-3,44)
	AG+GG	75	73,5	90	80,4	1,41	0,24	0,68(0,36-1,29)
CBS 844 D/I	DD+DI	102	100	109	97,3	2,77	0,1	2,81(0,29-27,42)
	DI+II	6	5,9	6	5,4	0,03	0,87	1,1(0,34-3,54)
SLC19A1 T80C	TT+TC	84	82,4	99	88,4	1,57	0,21	0,61(0,28-1,32)
	TC+CC	36	35,3	52	46,4	2,73	0,1	0,63(0,36-1,09)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p < 0,05$

Далее проведен анализ генов, ответственных за состояние эндотелия и работу ренин-ангиотензин-альдостероновой системы – результаты представлены в таблице 72. Получены существенные расхождения между исследуемыми группами при использовании доминантной модели анализа генов NOS3 VNTR и ADD1 G1378T. Генотипы 5R4R+4R4R гена NOS3 в подгруппе 4.2 встречались у 45 (44,1%) женщин, а в группе 1.2 у 34 (30,4%) ($\chi^2=4,34$, $p=0,037$, ОШ 1,81, ДИ 1,03-3,17). Варианты GT+TT в 1378

положении гена α -аддуктина в группе 4.2 также выявлены у 45 (44,1%) пациенток, а в группе 1.2 у 34 (30,4%) ($\chi^2=4,34$, $p=0,037$, ОШ 1,81, ДИ 1,03-3,17).

Таблица 72. Распределение полиморфных генотипов генов «дисфункции эндотелия» и генов РААС у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
END1 G5393T	GG+GT	93	91,2	104	92,9	0,21	0,65	0,79(0,29-2,14)
	GT+TT	30	29,4	38	33,9	0,5	0,48	0,81(0,46-1,45)
NOS3 G894T	GG+GT	96	94,1	108	96,4	0,22	0,64	0,75(0,22-2,53)
	GT+TT	45	44,1	49	43,8	0,00	0,96	1,02(0,59-1,74)
NOS3 VNTR	5R5R+ 5R4R	96	94,1	107	95,5	0,22	0,64	0,75(0,22-2,53)
	5R4R+ 4R4R	45	44,1	34	30,4	4,34	0,04	1,81(1,03-3,17)
CYP11B2 G-344A	GG+GA	81	79,4	93	83	0,46	0,5	0,79(0,4-1,57)
	GA+AA	66	64,7	84	75	2,7	0,1	0,61(0,34-1,1)
ACE Alu I/D	II+ID	78	76,5	93	83	1,43	0,23	0,6(0,33-1,3)
	ID+DD	81	80,4	84	75	0,46	0,5	0,79(0,4-1,57)
AGT A704G	AA+AG	69	67,4	86	76,8	2,23	0,14	0,63(0,34-1,16)
	AG+GG	72	70,6	81	72,3	0,08	0,78	0,92(0,51-1,66)
ADD1 G1378T	GG+GT	96	94,1	107	95,5	0,22	0,64	0,75(0,22-2,53)
	GT+TT	45	44,1	34	30,4	4,34	0,04	1,81(1,03-3,17)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при $p<0,05$

При анализе генов цитокинов (таблица 73) значимые различия получены для гена IL1 β G+3953A при использовании доминантной модели – варианты GA+AA в подгруппе 4.2 встречались значительно чаще – у 50 (47,1%) пациенток, тогда как в контрольной группе 1.2 лишь у 34 (30,4%) ($\chi^2=7,8$, $p=0,005$, ОШ 2,2, ДИ 1,26-3,86). Это еще раз подтверждает те закономерности, которые мы получили при использовании общей и мультипликативной моделей.

Таблица 73. Распределение полиморфных генотипов генов цитокинов у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
IL1 β G-511A	GG+GA	93	91,2	104	92,8	0,21	0,65	0,79(0,29-2,14)
	GA+AA	48	47	60	53,6	0,51	0,48	0,92(0,54-1,55)
IL1 β G+3953A	GG+GA	96	94,1	108	92,8	0,64	0,42	0,59(0,16-2,16)
	GA+AA	50	47,1	34	30,4	7,8	<0,01	2,2(1,26-3,86)
TNF-a G-308A	GG+GA	93	91,2	109	97,4	3,81	0,051	0,28(0,07-1,08)
	GA+AA	27	26,5	23	20,6	1,05	0,31	1,39(0,73-2,63)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

«Генам детоксикации» и генам антиоксидантной системы посвящена таблица 74. Получены значимые расхождения по частоте встречаемости полиморфных генотипов GSTT N/del и GPX1 C593T. Что интересно, статистически значимые различия получены и при использовании доминантной, и при использовании рецессивной моделей. Но при анализе этих генов с помощью общей модели видно, что мажорные гомозиготные генотипы этих генов чаще встречались в группе 1.2, а полиморфные гомозиготные варианты в подгруппе 4.2, при этом гетерозиготное носительство выявлялось с одинаковой частотой. Следовательно, можно сделать вывод, что мажорный гомозиготный генотип имеет некий протективный эффект в отношении невынашивания беременности, полиморфные гомозиготные варианты увеличивают риск потери беременности, а гетерозиготное носительство и отношении данной патологии значения не имеет и на уровень риска не влияет.

Таблица 74. Распределение полиморфных генотипов «генов детоксикации» и генов антиоксидантной системы у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Генотипы	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
GSTM N/del	+/+ + +/del	78	76,5	80	71,5	0,7	0,4	1,3(0,7-2,4)
	+/del + del/del	45	44,1	39	34,9	1,93	0,16	1,48(0,85-2,56)
GSTP A313G	AA+AG	99	97,1	106	94,6	0,77	0,38	1,87(0,45-7,67)
	AG+GG	18	17,6	31	27,7	3,04	0,08	0,56(0,29-1,08)
GSTP C341T	CC+CT	96	94,1	108	96,4	0,64	0,42	0,59(0,16-2,16)
	CT+TT	27	26,5	34	30,3	0,4	0,53	0,83(0,45-1,5)
GSTT N/del	+/+ + +/del	84	82,4	107	95,6	9,67	0,002	0,22(0,08-0,61)
	+/del + del/del	27	26,5	10	9	11,49	<0,001	3,67(1,67-8,05)
GPX1 C593T	CC+CT	93	91,2	110	98,2	5,42	0,02	0,19(0,04-0,89)
	CT+TT	81	79,4	74	66,1	4,76	0,03	1,98(1,07-3,68)
MnSOD A251G	AA+AG	78	76,4	83	74,2	0,16	0,69	1,14(0,61-2,12)
	AG+GG	72	70,6	91	81,3	3,34	0,07	0,55(0,29-1,05)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

В таблице 75 представлено распределение полиморфных генотипов генов рецепторов половых гормонов. Существенных различий между исследуемыми группами не получено.

Таблица 75. Распределение полиморфных генотипов генов рецепторов половых гормонов у пациенток подгруппы 4.2 и группы 1.2 (доминантная и рецессивная модели)

Ген, полиморфизм	Аллель	Подгруппа 4.2 (n=319 (102))		Группа 1.2 (n=112)		χ^2	p	ОШ (95%ДИ)
		абс.	%	абс.	%			
ESR1 T397C	TT+TC	79	77,7	85	74,9	0,07	0,79	1,09(0,58-2,06)
	TC+CC	77	75,5	80	71,4	0,45	0,5	1,23(0,67-2,27)
ESR2 A1730G	AA+AG	84	82,4	98	87,5	1,11	0,29	0,67(0,31-1,42)
	AG+GG	35	34,3	32	28,6	0,82	0,37	1,31(0,73-2,33)
PRG G2721T	GG+GT	101	99	106	94,6	3,23	0,07	5,72(0,68-48,33)
	GT+TT	15	14,7	16	14,4	0,01	0,93	1,03(0,48-2,22)

Примечание: n – число обследованных в группе; χ^2 – критерий Пирсона; ОШ – отношение шансов, ДИ - доверительный интервал 95%; p-уровень значимости между подгруппой 4.2 и группой 1.2; статистически значимые различия при p<0,05

Резюмируя данный раздел, мы хотим подчеркнуть, что именно геномные мутации у эмбриона являются наиболее значимой причиной потери беременности независимо от того, носит ли эта патология спорадический или привычный характер. ХА обнаруживаются более чем в половине образцов при анализе продуктов зачатия после неразвивающейся беременности. Структура выявленных ХА может иметь некоторые различия в зависимости от метода исследования. Вопрос целесообразности исследования полиморфных вариантов генов различных генных сетей при этом требует дальнейшего изучения.

ГЛАВА 6. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ «БОЛЬШИХ АКУШЕРСКИХ СИНДРОМОВ»

6.1. Лабораторные показатели в исследуемых группах

В период беременности согласно приказу №572н МЗ РФ, пациентка проходит множество лабораторных и инструментальных исследований. Уже в первом триместре беременности ряд показателей может указать на то, что пациентка имеет высокий риск акушерских осложнений в течение беременности.

Показатели общего анализа крови в исследуемых группах в 1 триместре представлены в таблице 76.

Несмотря на то, что общий анализ крови (ОАК) является одним из самых простых и доступных тестов, в нем выявлены значимые различия между исследуемыми группами и подгруппами. В основной группе (1.1) по сравнению с контрольной (1.2) уровень гемоглобина был значимо ниже – соответственно 121(116-128) г/л и 126(120-134) мм/ч ($p < 0,001$). Если сравнивать с контрольной группой каждую подгруппу по отдельности, значимые различия выявлены по уровню гемоглобина, по сравнению с контролем, выявлены в подгруппах 1.1А, 1.1Б и 1.1В. По уровню эритроцитов также выявлены статистически значимые различия между основной и контрольной группой. В основной группе этот показатель был $4,16(3,9-4,41) \times 10^9/\text{л}$, а в контрольной - $4,25(4,03-4,50) \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,015$). При этом самый низкий уровень эритроцитов был в подгруппе 1.1Б - $3,91(3,61-4,16) \times 10^9/\text{л}$, различия по сравнению с группой 1.2 статистически достоверны ($p < 0,001$). В остальных подгруппах уровень эритроцитов также был ниже, чем в контрольной группе, но различия статистически не значимы.

Таблица 76. Гематологические показатели в исследуемых группах и подгруппах в 1 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Гемоглобин, г/л	121(116- 128)	122(116- 127)	120(111- 122)	121(118- 129)	132(118- 133)	126(120- 134)	<0,001	<0,001	<0,001	0,006	0,804
Эритроциты, x10 ⁹ /л	4,16(3,9- 4,41)	4,2(3,98- 4,46)	3,91(3,61- 4,16)	4,16(3,94- 4,41)	4,22(4,18- 4,53)	4,25(4,03- 4,50)	0,015	0,188	<0,001	0,08	0,966
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	7,38(7,3- 8,68)	7,4(6,45- 8,44)	6,81(5,4- 8,3)*	8,19(6,8- 9,16)*	7,6(7,08- 8,38)	7,35(6,36- 8,47)	0,908	0,95	0,08	0,042	0,437
СОЭ, мм/ч	11,5(6-19)	12(6-19)	12(6-26)	10(6-15,5)	10(6,5- 14,5)	23(17-30)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05 *p=0,04 – достоверность различий между подгруппами 1.1Б и 1.1В											

Графически уровень гемоглобина и эритроцитов в исследуемых подгруппах представлены на рисунке 32.

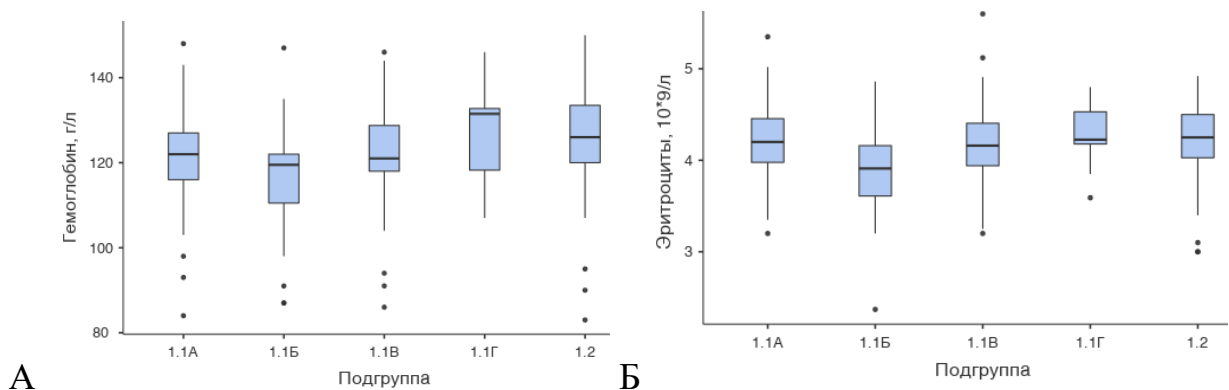


Рисунок 32. Уровень гемоглобина, г/л (А) и эритроцитов, $\cdot 10^9/L$ (Б) в исследуемых подгруппах в 1 триместре

Различия по уровню гемоглобина и эритроцитов подтверждают тот факт, что анемия является фактором риска осложнений беременности, и, несмотря на высокую ее распространенность, требует адекватной и своевременной коррекции.

Уровень лейкоцитов в исследуемых группах не имел существенных различий и составил $7,38(7,3-8,68) \times 10^9/L$ и $7,35(6,36-8,47) \times 10^9/L$ в основной и контрольной группах. Уровень лейкоцитов в отдельных подгруппах также существенно не отличался от контрольной группы, кроме группы 1.1В, где этот показатель составил $8,19(6,8-9,16) \times 10^9/L$ ($p=0,042$). Также получены статистически значимые различия между подгруппами 1.1Б и 1.1В – у пациенток, у которых произошли преждевременные роды уровень лейкоцитов был значимо выше, чем у тех, у которых беременность осложнилась ЗВУР ($p=0,04$). Мы предполагаем, что это может говорить о том, что при наличии множественных факторов риска и определенных нарушениях гестационного процесса, в случае усиленного воспалительного ответа организм отвечает преждевременным началом родов, а в случае сниженного воспалительного ответа, патологическая беременность пролонгируется, но при этом сопровождается тяжелой фето-плацентарной

недостаточностью.

Уровень СОЭ в исследуемых группах значительно различался. Что интересно, выше уровень СОЭ был в группе 1.2 – 23(17-30) мм/ч, тогда как в группе 1.1 он был 11,5(6-19) мм/ч ($p < 0,001$). Во всех подгруппах этот показатель также был ниже, чем в группе 1.2 (рисунок 33). Таким образом, повышение СОЭ в течение беременности является нормой, о чем неоднократно упоминалось в научной литературе [386], а отсутствие адекватного увеличения СОЭ, напротив, может свидетельствовать о нарушении гестационного процесса.

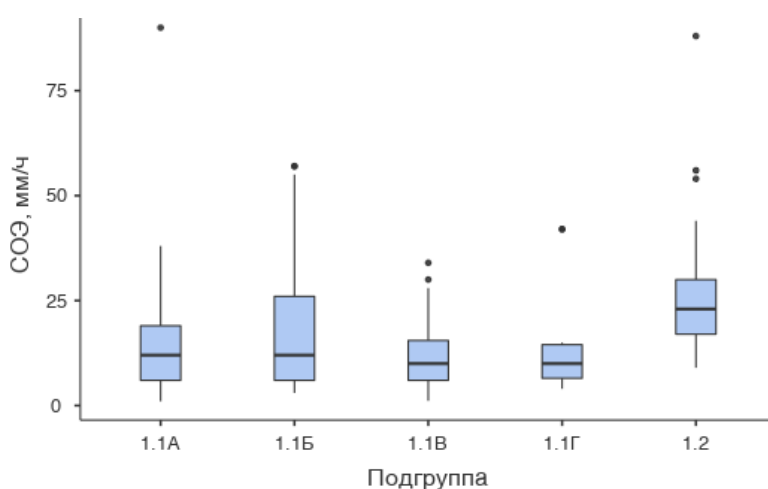


Рисунок 33. Уровень СОЭ в исследуемых группах в 1 триместре, мм/ч

Далее мы проанализировали биохимические показатели. Выявлено, что уровень общего белка в подгруппе 1.1Б был существенно ниже, чем в группе 1.2 – соответственно 65,4(62-67,4) и 71,3(68-73,5) г/л ($p = 0,023$). Лежащее на поверхности объяснение взаимосвязи снижения уровня общего белка у матери и развитием ЗВУР у плода состоит в дефиците пластических материалов, поступающих от матери к плоду, и необходимого для нормального его роста. Однако, по-видимому это только часть проблемы, так как ЗВУР является проявлением плацентарной недостаточности, причины которой многообразны и не сводятся лишь к алиментарному дефициту у матери. В группе 1.1В уровень общего белка также был ниже, чем в группе 1.2 - 66,8 (62,3-69,4) г/л. Напомним, что в этой группе было больше всего

многочисленных пациенток, вероятно, это привело к снижению уровня белка в организме. При этом средние значения этого показателя были в пределах нормы во всех подгруппах.

Кроме того, в группе 1.1 был достоверно выше, чем в группе 1.2 уровень креатинина – соответственно 66,4(56-71,3) и 63,4(60,3-66,9) мкмоль/л ($p=0,021$). Также статистически значимые различия по уровню креатинина получены между группой 1.2 и подгруппами 1.1А и 1.1Б (рисунок 34), где уровень креатинина был соответственно 66,6(58-72) и 69,5(57,9-73,8) мкмоль/л. Возможно, более высокий уровень креатинина в основной группе свидетельствует о более напряженной работе почек. Также выявлены значимые расхождения по уровню АСТ между подгруппой 1.1А и группой 1.2. В подгруппе 1.1А в 1 триместре этот показатель оказался самым низким и составил в среднем 14,4(12,2-18,3) Ед/л, тогда как в группе 1.2 - 16,4 (14-20) Ед/л ($p=0,041$). Вероятно, у пациенток, у которых впоследствии развилась преэклампсия, в 1 триместре беременности физиологический апоптоз гепатоцитов был несколько снижен. В группе 1.1Г показатель АСТ, напротив, оказался самым высоким - 18,6(13-21,2) Ед/л, различия по сравнению с группой 1.2 статистически значимы ($p=0,039$).

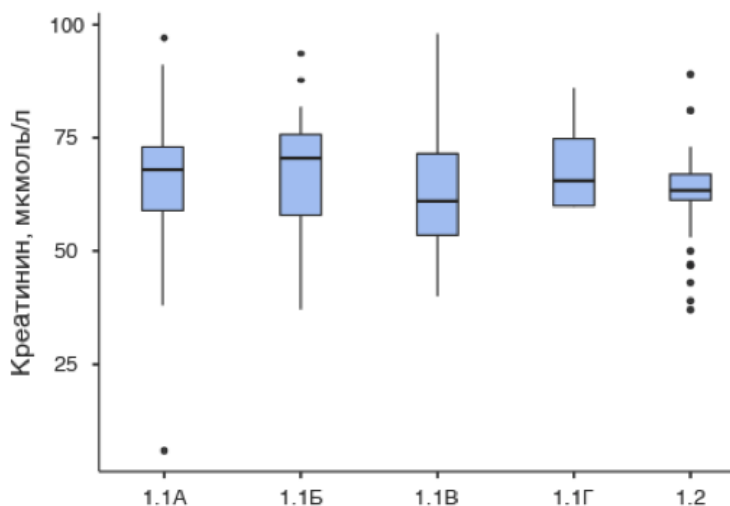


Рисунок 34. Уровень креатинина в 1 триместре в исследуемых группах

Анализ биохимических показателей в 1 триместре представлен в таблице 77.

Таблица 77. Биохимические показатели в исследуемых группах и подгруппах в 1 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Билирубин (общий) мкмоль/л	10,2(7,1- 12,8)	10,5(8- 12,8)	10(6-12,4)	10(7,55- 12,8)	13(8,3- 15,6)	10,6(8,43- 14,5)	0,113	0,952	0,256	0,503	0,996
АСТ, Ед/л	15(12-19)	14,4(12,2- 18,3)	15,8(12- 19)	15(12,8- 18,7)	18,6(13- 21,2)	16,4(14- 20)	0,151	0,041	0,73	0,039	0,815
АЛТ, Ед/л	14(10- 18,4)	13(10-19)	16(12-19)	14(10-18)	13(12,9- 15,1)	14(11- 18,5)	0,492	0,872	0,989	0,99	0,99
Креатинин, мкмоль/л	66,4(56- 71,3)	66,6(58- 72)	69,5(57,9- 73,8)	62(55,5- 71,5)	65,5(60- 74,8)	63,4(60,3- 66,9)	0,021	0,033	0,022	0,181	0,077
Мочевина, ммоль/л	3,2(2,49- 3,8)	3,54(2,64- 3,98)	3,4(2,7- 4,47)	3(2,3-3,7)	2,4(1,9- 2,63)	3,09(2,77- 3,5)	0,79	0,573	0,895	0,884	0,055
Глюкоза, ммоль/л	4,41(4,1- 4,9)	4,5(4,2-5)	4,4(4,1- 4,79)	4,4(3,9- 4,89)	4,5(4,05- 4,6)	4,56(4,25- 4,93)	0,142	0,993	0,631	0,398	0,833
Общий белок	69,1(62,5- 72,5)	71,4(65- 75,9)	65,4(62- 67,4)	66,8(62,3- 69,4)	72,1(67,3- 76)	71,3(68- 73,5)	0,243	0,399	0,023	0,034	0,813
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

При анализе параметров гемостаза (таблица 78) различия выявлены по уровню АЧТВ. Уровень АЧТВ в основной группе в 1 триместре был 28,3(25,9-30,6) с, а в контрольной - 31,4(30,3-32,7) ($p < 0,001$). При сравнении отдельных подгрупп значимые различия выявлены между группой 1.2 и всеми подгруппами основной группы (рисунок 35А). Показатель АЧТВ при беременности уменьшается и в норме (имеет место физиологическая гиперкоагуляция) [62, 63], однако, судя по полученным результатам, при осложненном ее течении эти изменения выражены сильнее. Также получены значимые различия по показателю МНО – в группе 1.1 он был в среднем 1(0,97-1,08), а в группе 1.2 - 0,96 (0,92-1,01) ($p = 0,008$). Существенные различия по показателю МНО получены для всех подгрупп, кроме 1.1Г (рисунок 35Б). Таким образом, на первый взгляд в группе 1.1 снижение АЧТВ свидетельствует о склонности к тромбофилии, а увеличение МНО, напротив, о менее выраженной гиперкоагуляции, по сравнению с группой 1.2. Анализируя показатели системы гемостаза нужно понимать, что понятия «гиперкоагуляция» и «тромбофилия» не являются синонимами, многие тромбофилии протекают с нормальными, а иногда даже измененными в сторону гипокоагуляции показателями коагулограммы, что подчеркивается в трудах З.С. Баркагана и А.П. Момота [13].

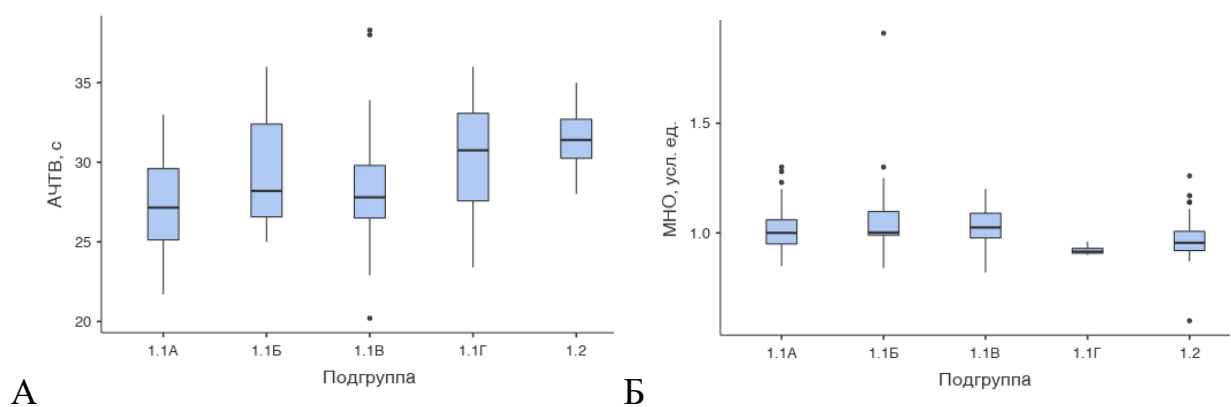


Рисунок 35. Уровень АЧТВ, с (А) и МНО, усл. ед. (Б) в исследуемых подгруппах в 1 триместре

Таблица 78. Показатели коагулограммы в исследуемых группах и подгруппах в 1 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	230(199-265)	233(201-268)	228(199-288)	230(199-263)	231(184-247)	229(199-261)	0,678	0,994	0,993	0,997	0,994
МНО, усл. ед.	1(0,97-1,08)	1(0,95-1,06)	1(0,99-1,1)	1,02(0,97-1,09)	0,92(0,91-0,94)	0,96(0,92-1,01)	0,008	0,043	0,025	0,011	0,387
АЧТВ, с	28,3(25,9-30,6)	27,1(25,1-29,6)	28,2(26,6-32,4)	27,8(26,5-29,8)	19,8(27,6-31,1)	31,4(30,3-32,7)	<0,001	<0,001	0,027	<0,001	0,043
Фибриноген, г/л	3,71(3,14-4,2)	3,72(3,3-4,2)	3,26(2,92-3,88)	3,8(3,11-4,3)	4,2(3,32-4,5)	3,6(3,2-3,8)	0,351	0,763	0,689	0,831	0,747
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при $p < 0,05$											

Далее мы провели анализ тех же самых показателей во 2 триместре.

Во 2 триместре в общем анализе крови значимых различий между исследуемыми группами уже не определяется (таблица 79). Это можно объяснить тем, что большинству пациенток при выявлении анемии в 1 триместре была начата коррекция этого состояния препаратами железа. Выявлены лишь значимые различия по уровню гемоглобина между подгруппой 1.1Б и группой 1.2. В подгруппе 1.1Б уровень гемоглобина был самым низким и составил 108(102-118) г/л, в контрольной группе уровень гемоглобина в среднем был 115(110-120) (p=0,037).

В биохимическом анализе крови (таблица 80) достоверных различий между группами 1.1 и 1.2 не выявлено. Однако в подгруппе 1.1В уровень билирубина существенно превышал таковой в группе 1.2 – соответственно 12,8(6,35-15,1) и 10,5(8-12,8) мкмоль/л (p=0,021). Уровень креатинина и мочевины в этой группе во 2 триместре был ниже. В подгруппе 1.1В эти показатели были 59(51-70) мкмоль/л и 2,4(2,01-3,38) ммоль/л, а в группе 1.2 – 63,5(51-72,4) мкмоль/л и 3,21(2,47-3,9) ммоль/л (p<0,05). Показатели «креатинин» и «мочевина» взаимосвязаны с белковым обменом. Более низкий уровень креатинина и мочевины может быть следствием сниженного уровня белка: в первом триместре уровень общего белка в подгруппе пациенток с преждевременными родами был статистически меньше, чем в контрольной группе, во 2 триместре этот показатель в подгруппе 1.1В также был ниже, хотя различия статистически не значимы. Более низкий уровень мочевины, чем в контрольной группе, был и в подгруппе 1.1Б - 2,25(2,07-3,35) ммоль/л (p=0,032), и в этой группе в 1 триместре уровень белка также был существенно ниже, чем в группе 1.2.

Таблица 79. Гематологические показатели в исследуемых группах и подгруппах во 2 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Гемоглобин, г/л	114(106-121)	115(122-106)	108(102-118)	114(108-120)	110(108-121)	(110-120)	0,139	0,997	0,037	0,874	0,944
Эритроциты, x10 ⁹ /л	3,9(3,64-4,2)	4(3,75-4,3)	3,85(3,5-4,13)	3,87(3,65-4,1)	3,86(3,72-3,93)	3,84(3,65-4,1)	0,369	0,231	0,934	0,997	0,994
Лейкоциты, x10 ⁹ /л	8,8(7,4-10,3)	8,7(7,25-10,3)	8,98(7,85-10,4)	8,95(7,41-10,2)	8,73(7,76-9,38)	9,08(7,87-10,6)	0,167	0,615	0,989	0,935	0,867
СОЭ, мм/ч	20(15-32,8)	20(15-34,8)	30(14-40)	17,5(13,8-26,3)	20(14-28)	23(17-30)	0,175	0,668	0,801	0,26	0,784
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

Таблица 80. Биохимические показатели в исследуемых группах и подгруппах во 2 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Билирубин (общий) мкмоль/л	10,8(6,6-12)	10(6,93-11,9)	8,85(7-11,7)	12,8(6,35-15,1)	8,15(4,67-9,42)	10,5(8-12,8)	0,187	0,444	0,717	0,021	0,15
АСТ, Ед/л	17(14-21,3)	19(15-22)	17,4(14-20)	15(12-19)	15,6(13-16)	16,9(14,5-22,3)	0,496	0,274	0,957	0,88	0,815
АЛТ, Ед/Л	14,8(10-18,6)	16(11-19)	12(8-23)	12(9,75-18)	12,8(8,6-17,5)	16(12-20)	0,107	0,997	0,735	0,257	0,797

Креатинин, ммоль/л	62,6(52,2- 69,3)	62,8(52,7- 72,5)	65(51,3- 68,5))	59(51-70)	61,5(53- 67,8	63,4(51- 72,4)	0,579	0,809	0,824	0,048	0,756
Мочевина, ммоль/л	2,6(2,1- 3,51)	2,8(2,12- 3,6)	2,25(2,07- 3,35)	2,4(2,01- 3,38)	2,76(2,04- 3,9)	3,21(2,47- 3,9)	0,054	0,421	0,032	0,043	0,369
Глюкоза, ммоль/л	4,3(4- 4,82)	4,3(3,91- 4,78)	4,14(4- 4,58)	4,5(4-4,9)	4,64(4,2- 4,9)	4,3(3,96- 4,9)	0,928	0,978	0,785	0,903	0,866
Общий белок	66,5(61,9- 71,5)	66,4(62,4- 73,1)	65,1(62,2- 70,4)	65,1(61,6- 75,1)	70(64,9- 73,6)	68,3(65,5- 73,7)	0,913	0,782	0,755	0,521	0,818
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05											

Среди показателей коагулограммы (таблица 81) значимые различия выявлены только по уровню АЧТВ – также, как и в 1 триместре, в основной группе уровень этого показателя был ниже, чем в контрольной – соответственно 28,3(26,7-29,5) с и 29,5(28,3-30,3) с ($p=0,002$). Также значимые различия выявлены между группой 1.2 и подгруппами 1.1А и 1.1Б, в которых уровень АЧТВ составил соответственно 28,3(25,1-29,4) с и 26(21,8-28,3). с (рисунок 36). Можно предположить, что склонность в гиперкоагуляции способствует более развитию преэклампсии и фето-плацентарной недостаточности, чем развитию преждевременных родов или внезапной антенатальной гибели плода.

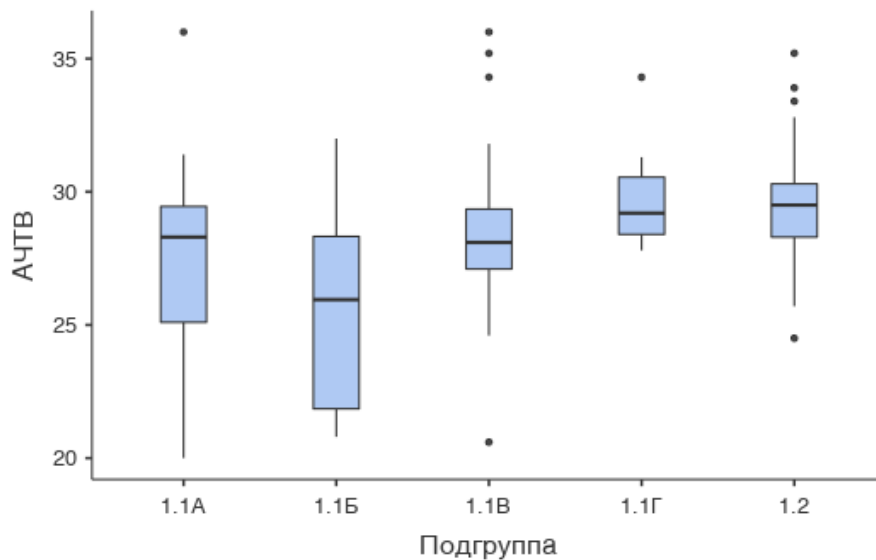


Рисунок 36. Показатель АЧТВ в исследуемых подгруппах во 2 триместре, с

Таблица 81. Показатели коагулограммы в исследуемых группах и подгруппах во 2 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279)	Подгруппа 1.1А (n=103)	Подгруппа 1.1Б (n=67)	Подгруппа 1.1В (n=69)	Подгруппа 1.1Г (n=40)	Группа 1.2 (n=112)	p1-6	p2-6	p3-6	p4-6	p5-6
	1	2	3	4	5	6					
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	222(196-268)	212(189-270)	239(207-281)	232(206-267)	222(204-248)	227(199-260)	0,889	0,938	0,653	0,962	0,986
МНО, усл. ед.	1,01(0,87-1,06)	1,01(0,865-1,03)	1,01(0,892-1,03)	1,02(0,978-1,09)	0,96(0,827-0,978)	0,99(0,87-1,06)	0,123	0,325	0,218	0,603	0,87
АЧТВ, с	28,3(26,7-29,5)	28,3(25,1-29,4)	26(21,8-28,3)	28,1(27,1-29,4)	29,2(28,4-30,6)	29,5(28,3-30,3)	0,002	0,024	0,021	0,072	0,997
Фибриноген, г/л	4,2(3,61-4,8)	4,2(3,7-4,6)	3,92(3,46-4,55)	4,41(3,68-4,9)	4,35(3,33-4,43)	4,25(3,9-4,6)	0,687	0,867	0,497	0,855	0,883
Примечание: n – число женщин; p1-6 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-6 – между 1.1А и 1.2, p3-6 – между 1.1Б и 1.2, p4-6 – между 1.1В и 1.2, p5-6 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при $p < 0,05$											

В 3 триместре мы анализировали показатели только пациенток подгрупп 1.1А, 1.1Б и 1.1Г. Большая часть пациенток подгруппы 1.1В (преждевременные роды) родоразрешилась до того, как успела сдать анализы в 3 триместре. В подгруппе 1.1А обследование 3 триместра было проведено 54 пациенткам, в подгруппе 1.1Б – 50 пациенткам, в подгруппе 1.1В – 22 пациенткам (остальные пациентки были родоразрешены ранее, в связи с чем обследование 3 триместра в сроке беременности 30-34 недели пройти не успели). Поэтому в 3 триместре мы изучили показатели только 126 пациенток группы 1.1.

В общем анализе крови в 3 триместре значимые различия выявлены только по уровню гемоглобина между подгруппой 1.1Б и группой 1.2 и по уровню лейкоцитов между подгруппами 1.1А и 1.1Б (таблица 82). По биохимическим показателям значимых расхождений между исследуемыми группами и подгруппами не выявлено (таблица 83).

Таблица 82. Гематологические показатели в исследуемых группах и подгруппах в 3 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279 (126))	Подгруппа 1.1А (n=103 (54))	Подгруппа 1.1Б (n=67 (50))	Подгруппа 1.1Г (n=40 (22))	Группа 1.2 (n=112)	p1-5	p2-5	p3-5	p4-5
	1	2	3	4	5				
Гемоглобин, г/л	113(103-121)	113(102-123)	114(105-119)	108(103-121)	115(110-121)	0,054	0,614	0,21	0,606
Эритроциты, $\times 10^9/\text{л}$	3,92(3,59-4,21)	4(3,6-4,27)	4(3,6-4,27)	3,83(3,55)	4(3,66-4,23)	0,301	0,973	0,579	0,814
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	9,3(8,21-11,1)	9,82(8,4-11,6)*	8,76(7,2-9,55)*	9,32(8,12-10,4)	9,91(8,34-12)	0,132	0,987	0,004	0,769
СОЭ, мм/ч	34(20,5-43,5)	34,5(21,8-43,3)	34(19,5-44)	34,5(27,3-40,3)	29(21,5-37,5)	0,081	0,392	0,768	0,812
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-5 – между 1.1А и 1.2, p3-5 – между 1.1Б и 1.2, p4-5 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при $p < 0,05$									
* - $p = 0,005$, статистически значимые различия между подгруппой 1.1А и 1.1Б									

Таблица 83. Биохимические показатели в исследуемых группах и подгруппах в 3 триместре (Me(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279 (126))	Подгруппа 1.1А (n=103 (54))	Подгруппа 1.1Б (n=67 (50))	Подгруппа 1.1Г (n=40 (22))	Группа 1.2 (n=112)	p1-5	p2-5	p3-5	p4-5
	1	2	3	4	5				
Билирубин (общий) мкмоль/л	10,35(7,82-12)	11,3(7,3-14)	9,25(8,53-12,6)	10(7,9-12,8)	11,4(9,06-14,2)	0,366	0,4	0,22	0,325
АСТ, Ед/л	19(14-25,1)	19,8(15-25,9)	17(13,6-20,5)	24(15-25,5)	19,1(16,5-23,4)	0,648	0,998	0,429	0,896
АЛТ, Ед/л	15(10-21)	15,5(10,4-21)	13(9,75-19,9)	15,8(8,95-20)	17(12,3-20,6)	0,266	0,955	0,499	0,766
Креатинин, ммоль/л	70(61-77)	71(68-78,8)	62,5(52-67,8)	62(53-68)	79)56-82,4)	0,086	0,935	0,168	0,156
Мочевина, ммоль/л	3,3(2,5-4,5)	3,6(2,65-4,61)	3,4(2,5-3,86)	2,79(1,9-3,7)	3,23(2,6-3,73)	0,611	0,608	0,876	0,745
Глюкоза, ммоль/л	4,4(4,07-4,86)	4,4(4,1-4,95)	4,2(3,83-4,62)	4,5(4,2-4,8)	4,4(4,1-4,8)	0,702	0,991	0,271	0,955
Общий белок	63,8(60,5-66,3)	64(60,9-67,1)	64,4(61,1-65,8)	65,1(61,7-66,7)	64,3(61,9-67,2)	0,749	0,823	0,887	0,954
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-5 – между 1.1А и 1.2, p3-5 – между 1.1Б и 1.2, p4-5 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при $p < 0,05$									

При анализе коагулограммы в 3 триместре (таблица 84) мы выявили следующие закономерности: в группе 1.1 был ниже, чем в группе 1.2, уровень АЧТВ - соответственно 27,7(26,1-30) и 30,9(29,2-32,2) с ($p < 0,05$), что может свидетельствовать о более выраженной гиперкоагуляции у пациенток с осложненным течением гестации (рисунок 37А). Уровень АЧТВ был значительно ниже, чем в группе 1.2, также в подгруппах 1.1А и 1.1Б. Уровень фибриногена в группе 1.1 был ниже, чем в группе 1.2 - 4,4(3,8-5) и 4,9(4,4-5,2) г/л ($p = 0,001$) (рисунок 37Б). В подгруппах 1.1А и 1.1Б выявлены значимые различия по уровню фибриногена по сравнению с группой 1.2 – у этих пациенток выявлен более низкий уровень. По уровню тромбоцитов и МНО между основной и контрольной группой существенных расхождений не выявлено, но выявлены статистически значимые различия между подгруппой 1.1Б и группой 1.2. В подгруппе 1.1Б уровень тромбоцитов был самым высоким - $240(205-292) \times 10^9/\text{л}$, в контрольной группе этот показатель составил $209(183-244) \times 10^9/\text{л}$ ($p = 0,028$). Уровень МНО в этой подгруппе также отличался от группы 1.2 - $1,01(0,992-1,03)$ по сравнению с $0,95(0,912-0,98)$ ($p = 0,01$). Различия между группами и подгруппами носят разнонаправленный характер – судя по одним показателям склонность к гиперкоагуляции больше в основной группе, судя по другим – в контрольной. При этом средние значения всех показателей во всех группах и подгруппах оставались в пределах нормативных значений.

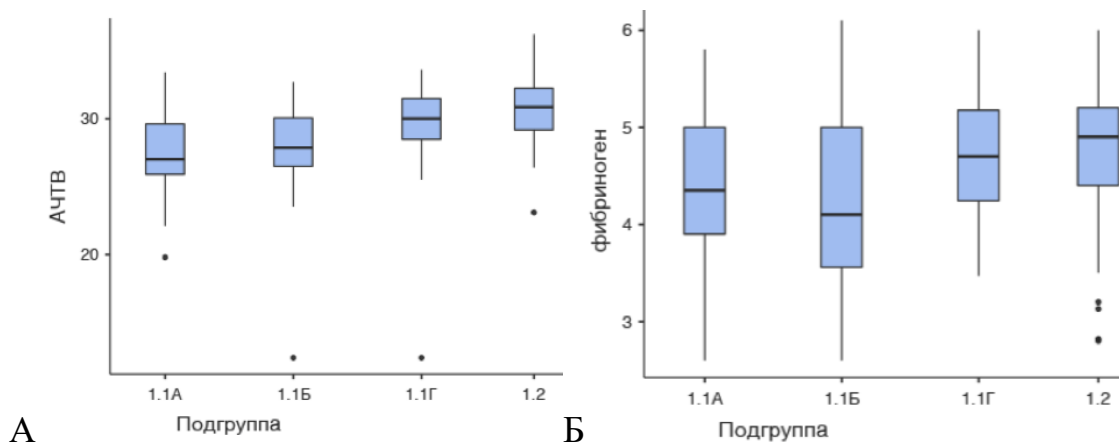


Рисунок 37. Уровень АЧТВ, с (А) и фибриногена, г/л (Б) в 3 триместре

Таблица 84. Показатели коагулограммы в исследуемых группах и подгруппах в 3 триместре (Ме(Q1-Q3))

Показатель	Группа 1.1 (n=279 (126))	Подгруппа 1.1А (n=103 (54))	Подгруппа 1.1Б (n=67 (50))	Подгруппа 1.1Г (n=40 (22))	Группа 1.2 (n=112)	p1-5	p2-5	p3-5	p4-5
	1	2	3	4	5				
Тромбоциты, x10 ⁹ /л	226(186-274)	202(180-246)	240(205-292)	237(194-304)	209(183-244)	0,082	0,895	0,028	0,188
МНО, усл. ед.	0,985(0,92-1,03)	0,96(0,91-1,02)	1,01(0,992-1,03)	0,98(0,92-0,99)	0,95(0,912-0,98)	0,111	0,448	0,01	0,949
АЧТВ, с	27,7(26,1-30)	27(25,9-29,6)	27,9(26,5-30,1)	30(28,5-31,5)	30,9(29,2-32,2)	<0,001	<0,001	0,001	0,81
Фибриноген, г/л	4,4(3,8-5)	4,35(3,9-5)	4,1(3,56-5)	4,7(4,24-5,17)	4,9(4,4-5,2)	0,001	0,016	0,043	0,993
Примечание: n – число женщин; p1-5 – уровень значимости различий между подгруппами 1.1 и 1.2, p2-5 – между 1.1А и 1.2, p3-5 – между 1.1Б и 1.2, p4-5 – между 1.1Г и 1.2, статистически значимые различия при p<0,05									

6.2. Прогностические математические модели «больших акушерских синдромов» и оценка их эффективности

Научные исследования, посвященные изучению патогенезу той или иной патологии, интересны не только сами по себе, но и теми последствиями для клинической практики, которые они влекут за собой, теми важными с клинической точки зрения данными, которые потенциально могут привести к созданию новых прогностических моделей, тактических алгоритмов и методов лечения. Результаты наших исследований, приведенные выше, продемонстрировали значение в генезе «больших акушерских синдромов» ряда анамнестических, лабораторных, инструментальных и молекулярно-генетических показателей, которые теоретически можно использовать в целях совершенствования клинических подходов к оказанию помощи беременным. В связи с этим нами было принято решение о разработке прогностических моделей формирования «больших акушерских синдромов». При этом, учитывая гетерогенность клинических проявлений данной патологии, мы посчитали целесообразным создание прогностических моделей в отношении отдельных нозологий, входящих в группу «больших акушерских синдромов», что в дальнейшем может стать основой дифференцированного подхода к профилактике, акушерской тактике и лечению пациенток. Помимо этого прогностические модели относящиеся к различным вариантам «больших акушерских синдромов» позволят обосновать прогноз формирования не только этих осложнений, но и дадут возможность установить некоторые ключевые механизмы их возникновения.

Разработанные нами прогностические модели и правила прогноза «больших акушерских синдромов» и их составляющих основаны на анамнестических данных, лабораторных общеклинических и биохимических исследованиях крови беременных женщин, анализе коагулограммы в 1-2 триместре беременности, результатов молекулярно-генетического анализа полиморфизмов генов, ассоциированных с осложнениями беременности, с

последующим подсчетом прогностического индекса. Важным преимуществом этих прогностических моделей является малая инвазивность необходимых исследований для осуществления прогноза и использование ряда показателей, которые в рутинном порядке анализируются у всех беременных женщин и, следовательно, делает их привлекательными с экономической точки зрения.

В полученных матрицах клинико-лабораторных показателей, включающих 137 параметров, проведен пошаговый дискриминантный анализ переменных в группах женщин, беременность у которых протекала без осложнений и закончилась рождением здорового ребенка в доношенном сроке, и женщин, у которых в процессе беременности развились различные осложнения – тяжелая преэклампсия, ЗВУР 2-3 степени, преждевременные роды, либо антенатальная гибель плода. Помимо клинико-лабораторных показателей было проведено молекулярно-генетическое исследование и проведен расчет риска «больших акушерских синдромов» с помощью разработанной нами компьютерной программы «GOS RISK», и данный параметр также был включен в число переменных, анализируемых с целью разработки правила прогноза.

В результате пошагового дискриминантного анализа выделены информативные признаки, обладающие разделяющей силой между нормально протекающей беременностью, либо беременностью, сопровождающейся каким-либо осложнением из группы «больших акушерских синдромов». Первоначально мы разработали общее правило для расчета риска осложнений беременности, далее для каждой подгруппы основной группы анализ проводился отдельно. Кроме того, анализ проводился как с учетом расчета риска с помощью компьютерной программы GOS RISK, так и без него (для того, чтобы определить, насколько данный параметр может увеличить точность прогнозирования).

Для расчета общего риска осложнений беременности, входящих в группу «больших акушерских синдромов», мы разработали прогностический

индекс PI.

$$PI = -1,12X_1 + 0,08X_2 - 1,99X_3 - 1,14X_4 + 0,04X_5 + 0,58X_6 - 0,05X_7 - 4,91X_8 + 1,18X_9 - 28,6$$

где PI – прогностический индекс развития «больших акушерских синдромов» в течение беременности»;

X_1 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_2 – рост пациентки, см

X_3 – наследственность, отягощенная по сердечно-сосудистой патологии (1 – отягощенная наследственность, 0 – не отягощенная наследственность);

X_4 – никотинозависимость у пациентки (1 – пациентка никотинозависимая, 0 – не курящая пациентка);

X_5 – уровень гемоглобина в 1 триместре, г/л;

X_6 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_7 – уровень креатинина в 1 триместре, мкмоль/л;

X_8 – МНО в 1 триместре;

X_9 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

Константа = – 28,6.

При $PI > 0$ делают заключение о низком риске развития «больших акушерских синдромов», прогноз благоприятный; при $PI \leq 0$ делают заключение о высоком риске, прогноз неблагоприятный.

Для оценки эффективности разработанной нами модели прогноза «больших акушерских синдромов» была построена ROC-кривая позволяющая установить вероятность ложно-положительных и ложно-отрицательных результатов тестирования. На рисунке 38 представлена ROC-кривая, касающаяся прогноза «больших акушерских синдромов» в целом.

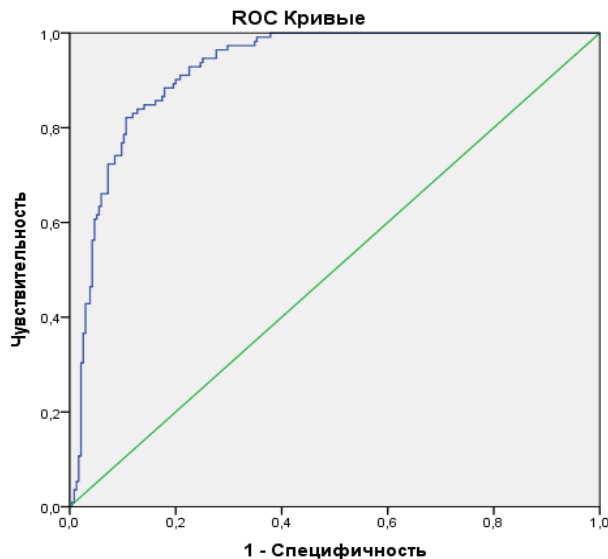


Рисунок 38. ROC-кривая модели прогнозирования «больших акушерских синдромов» (индекс PI)

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа (Receiver Operator Characteristic — операционная характеристика приемника). По результатам построения ROC-кривой показатель AUC (Area under ROC curve — площадь под ROC-кривой, с англ.) составил $0,922 \pm 0,014$, ДИ 95% 0,893-0,952 при $p=0,000$, что соответствовало высокому качеству модели для прогнозирования «Больших акушерских синдромов».

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 82% и 84,8%, эффективность способа 83,5%.

При включении в формулу результат расчета риска с помощью программы “GOS RISK”, можно дополнительно увеличить чувствительность и специфичность, рассчитав общий прогностический индекс PI₁

$$PI_1 = -1,09X_1 + 0,08X_2 - 1,93X_3 - 1,31X_4 + 0,04X_5 + 0,58X_6 - 0,04X_7 - 4,91X_8 + 1,33X_9 - 1,18X_{10} - 27,4$$

где PI₁ – прогностический индекс развития «больших акушерских синдромов в течение беременности»;

X₁ – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин

<110 г/л), 0 – нет анемии);

X_2 – рост пациентки, см

X_3 – наследственность, отягощенная по сердечно-сосудистой патологии (1 – отягощенная наследственность, 0 – не отягощенная наследственность);

X_4 – никотинозависимость у пациентки (1 – пациентка никотинозависимая, 0 – не курящая пациентка);

X_5 – уровень гемоглобина в 1 триместре, г/л;

X_6 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_7 – уровень креатинина в 1 триместре, мкмоль/л;

X_8 – МНО в 1 триместре;

X_9 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

X_{10} – расчет риска с помощью программы “GOS RISK” (1 – высокий риск, 0 – общепопуляционный риск).

Константа = – 27,4.

При $PI_1 > 0$ делают заключение о низком риске развития «больших акушерских синдромов», прогноз благоприятный; при $PI_1 \leq 0$ делают заключение о высоком риске, прогноз неблагоприятный.

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,937 \pm 0,013$, ДИ 95% 0,912-0,962 при $p=0,000$, что соответствовало отличному качеству модели для прогнозирования «Больших акушерских синдромов» (Рисунок 39).

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 83,5% и 89,3%, эффективность способа 86,4%. Таким образом, использование рассчитанного с помощью программы “GOS RISK” показателя повышает эффективность прогностического правила.

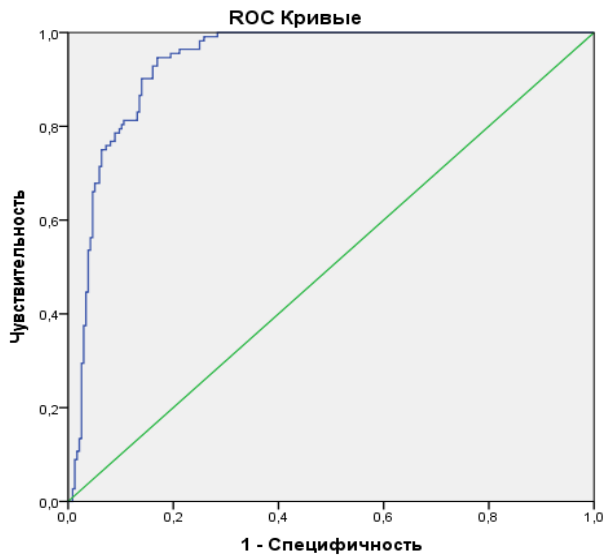


Рисунок 39. ROC-кривая модели прогнозирования «Больших акушерских синдромов» (индекс PI_1)

Мы также попытались рассчитать риск больших акушерских синдромов с помощью параметра «Фетальная фракция». Данный показатель был вычислен у пациенток на 3 этапе исследования. Для этого мы разработали индекс PI_2 .

$$PI_2 = 0,13X_1 + 1,07X_2 + 0,1X_3 - 4,4$$

где PI_2 – прогностический индекс развития осложнений беременности;

X_1 – уровень фетальной фракции в 1 триместре, %;

X_2 – уровень PAPP в 11-13,6 недель, MoM;

X_3 – Индекс массы тела пациентки, кг/см²;

Константа = - 4,4.

При $PI_2 > 0$ делают заключение о низком риске развития «больших акушерских синдромов», прогноз благоприятный; при $PI_2 \leq 0$ делают заключение о высоком риске, прогноз неблагоприятный.

Достоинством данного индекса является минимальное количество показателей, включенных в формулу.

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,745 \pm 0,043$, ДИ 95% 0,66-0,83 при

$p=0,000$, что соответствовало хорошему качеству модели для прогнозирования больших акушерских синдромов (рисунок 40).

У индекса PI_2 , разработанного с учетом параметра «Фетальная фракция» показатели эффективности оказались ниже, чем у индексов PI и PI_1 , но мы полагаем, что делать вывод о нецелесообразности использования данного параметра при расчете риска акушерских осложнений преждевременно. Напомним, что на 3 этапе исследования количество пациенток с осложненным течением беременности было существенно меньше, чем на 1 этапе. Дальнейшее изучение ассоциации уровня фетальной фракции с осложненным течением беременности в сочетании с другими параметрами может привести к разработке более эффективных диагностических моделей. Однако в настоящее время в нашу прогностическую модель помимо параметра «Фетальная фракция» вошел также и показатель «уровень PAPP в 11-13,6 недель, MoM». Это свидетельствует о том, что отказываться от существующего комплекса пренатальной диагностики преждевременно, так как он помогает не только в определении риска хромосомных аномалий у плода, но и при оценке риска осложнений беременности.

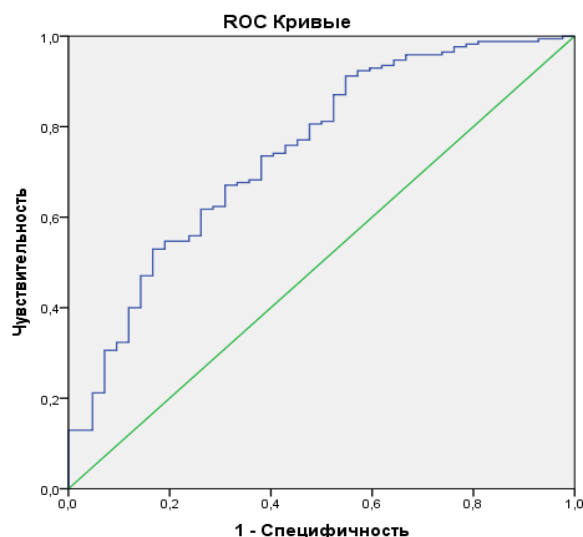


Рисунок 40. ROC-кривая модели прогнозирования «больших акушерских синдромов» (индекс PI_2)

Чувствительность и специфичность прогностического правила

«больших акушерских синдромов» с использованием параметра «Фетальная фракция», рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 62,7% и 64%, эффективность способа 63,4%.

Далее мы разработали прогностические правила (индексы) для расчета риска отдельных нозологических форм осложнений беременности, относящихся к «большим акушерским синдромам».

Для расчета риска тяжелой преэклампсии рассчитан прогностический индекс ($PI_{пэ}$), который определяется по следующей формуле:

$$PI_{пэ} = -2,42X_1 - 3,17X_2 + 1,48X_3 + 0,1X_4 - 0,1X_5 - 7,35X_6 + 1,93X_7 - 32,3$$

где $PI_{пэ}$ – прогностический индекс развития тяжелой преэклампсии;

X_1 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_2 – наследственность, отягощенная по сердечно-сосудистой патологии (1 – отягощенная наследственность, 0 – не отягощенная наследственность);

X_3 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_4 – уровень АСТ в 1 триместре, Ед/л;

X_5 – уровень креатинина в 1 триместре, мкмоль/л;

X_6 – МНО в 1 триместре;

X_7 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

Константа = – 32,3.

При $PI_{пэ} > 0$ делают заключение о низком риске развития тяжелой преэклампсии, прогноз благоприятный; при $PI_{пэ} \leq 0$ делают заключение о высоком риске развития тяжелой преэклампсии, прогноз неблагоприятный.

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,922 \pm 0,015$, ДИ 95% 0,893-0,951 при $p=0,000$, что соответствовало высокому качеству модели для прогнозирования тяжелой преэклампсии (рисунок 41).

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной

выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 91,3% и 93,8%, эффективность способа 92,5%.

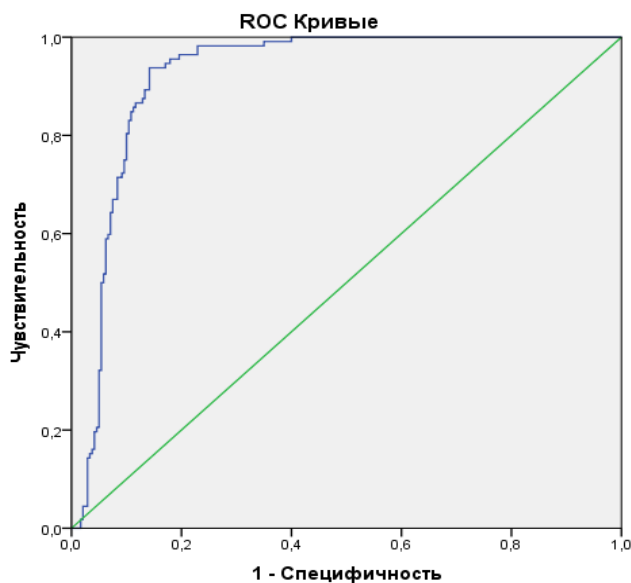


Рисунок 41. ROC-кривая модели прогнозирования тяжелой преэклампсии ($PI_{ПЭ}$)

В случае, если у пациентки есть результаты молекулярно-генетического тестирования полиморфизмов генов, ассоциированных с риском осложнений беременности, формула прогностического индекса выглядит несколько иначе:

$$PI_{ПЭ1} = -1,94X_1 + 1,43X_2 - 0,1X_3 - 6,61X_4 + 2,03X_5 - 1,64X_6 - 29,8$$

где $PI_{ПЭ1}$ – прогностический индекс развития тяжелой преэклампсии;

X_1 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_2 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_3 – уровень креатинина в 1 триместре, мкмоль/л;

X_4 – МНО в 1 триместре;

X_5 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

X_6 – расчет риска с помощью программы “GOS RISK” (1 – высокий риск, 0 – общепопуляционный риск).

Константа = - 29,8.

При $PI_{пэ1} > 0$ делают заключение о низком риске развития тяжелой преэклампсии, прогноз благоприятный; при $PI_{пэ1} \leq 0$ делают заключение о высоком риске развития тяжелой преэклампсии, прогноз неблагоприятный.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,974 \pm 0,009$, ДИ 95% 0,956-0,993 при $p=0,000$, что соответствовало отличному качеству модели для прогнозирования тяжелой преэклампсии (Рисунок 42).

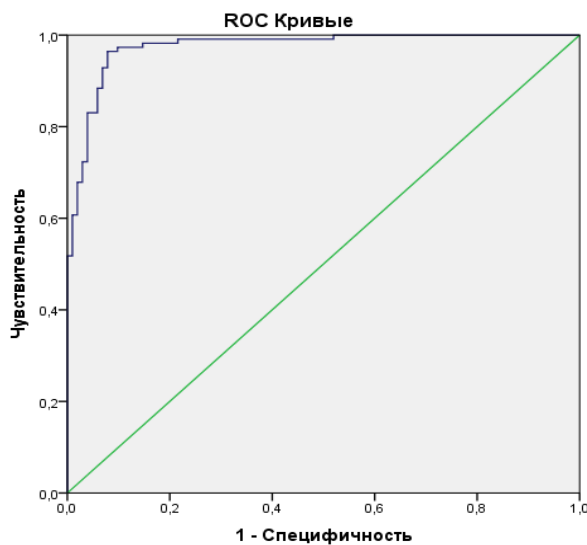


Рисунок 42. ROC-кривая модели прогнозирования тяжелой преэклампсии ($PI_{пэ1}$)

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 92,2% и 93,8%, эффективность способа 93%.

Таким образом, эффективность прогностической модели при использовании программы “GOS RISK” несколько повышается, при этом не требуются сведения о наследственности пациентки и используется меньшее количество лабораторных параметров по сравнению с предыдущей прогностической моделью.

Для расчета риска плацентарной недостаточности с задержкой

внутриутробного роста плода 2-3 степени (без преэклампсии) рассчитан прогностический индекс ($PI_{звур}$), который определяется по следующей формуле:

$$PI_{звур} = -4,43X_1 - 1,45X_2 + 0,08X_3 - 1,85X_4 + 0,05X_5 - 0,08X_6 - 5,66X_7 + X_8 + 0,5X_9 - 24,35$$

где $PI_{звур}$ – прогностический индекс развития ЗВУР 2-3 степени;

X_1 – наличие хронической артериальной гипертензии (1 – у пациентки есть хроническая артериальная гипертензии, 0 – пациентка не страдает хронической артериальной гипертензией)

X_2 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_3 – рост пациентки, см;

X_4 – никотинозависимость у пациентки (1 – пациентка никотинозависимая, 0 – не курящая пациентка);

X_5 – уровень гемоглобина в 1 триместре, г/л;

X_6 – уровень креатинина в 1 триместре, мкмоль/л;

X_7 – МНО в 1 триместре;

X_8 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

X_9 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

Константа = – 24,35.

При $PI_{звур} > 0$ делают заключение о низком риске развития ЗВУР 2-3 степени, прогноз благоприятный; при $PI_{звур} \leq 0$ делают заключение о высоком риске развития ЗВУР 2-3 степени, прогноз неблагоприятный.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,92 \pm 0,024$, ДИ 95% 0,873-0,967 при $p=0,000$, что соответствовало высокому качеству модели для прогнозирования ЗВУР 2-3 степени (рисунок 43).

Чувствительность и специфичность правила прогноза плацентарной недостаточности с ЗВУР, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 80,6% и 85,7%, эффективность способа 83,1%.

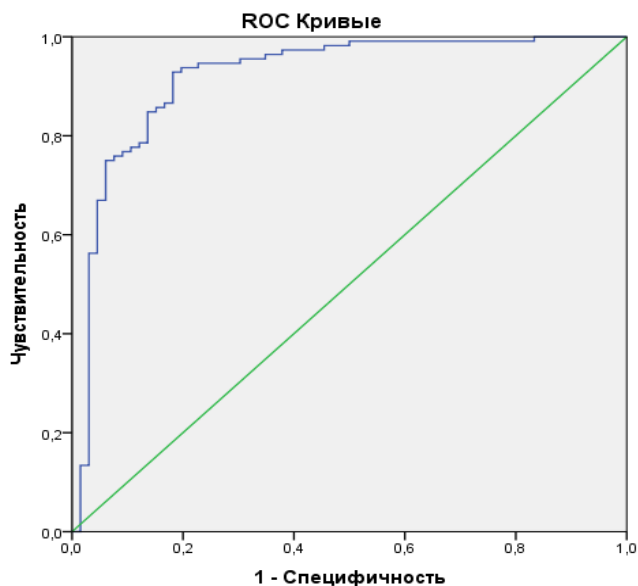


Рисунок 43. ROC-кривая модели прогнозирования ЗВУР 2-3 степени ($PI_{звур}$)

Сама по себе программа “GOS RISK” не увеличивает эффективность прогнозирования ЗВУР 2-3 степени в первом триместре беременности. Однако в сочетании с лабораторными показателями и первого, и второго триместра, результаты анализа по данной программе существенно увеличивают эффективность прогнозирования ЗВУР – это отражает индекс $PI_{звур2}$ по формуле:

$$PI_{звур2} = -8,4X_1 + 0,91X_2 - 3,59X_3 + 0,78X_4 + 0,08X_5 + 0,53X_6 + 0,6X_7 - 18,7X_8 - 2,25X_9 - 1,43X_{10} - 31$$

где $PI_{звур2}$ – прогностический индекс развития ЗВУР 2-3 степени;

X_1 – наличие хронической артериальной гипертензии (1 – у пациентки есть хроническая артериальная гипертензии, 0 – пациентка не страдает хронической артериальной гипертензией)

X_2 – паритет;

X_3 – наследственность, отягощенная по сердечно-сосудистой патологии (1 – отягощенная наследственность, 0 – не отягощенная наследственность);

X_4 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_5 – уровень гемоглобина во 2 триместре, г/л;

X_6 – уровень АЧТВ в 2 триместре, с;

X_7 – уровень мочевины во 2 триместре, ммоль/л;

X_8 – МНО в 1 триместре;

X_9 – наличие ВПР у плода (1 – выявлены ВПР у плода, 0 – ВПР не выявлено)

X_{10} – расчет риска с помощью программы “GOS RISK” (1 – высокий риск, 2 – общепопуляционный риск);

Константа = – 31.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,935 \pm 0,013$, ДИ 95% 0,909-0,961 при $p=0,000$, что соответствовало отличному качеству модели для прогнозирования ЗВУР 2-3 степени (рисунок 44). Чувствительность и специфичность правила прогноза ЗВУР, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 83,6% и 92,9%, эффективность способа 88,3%.

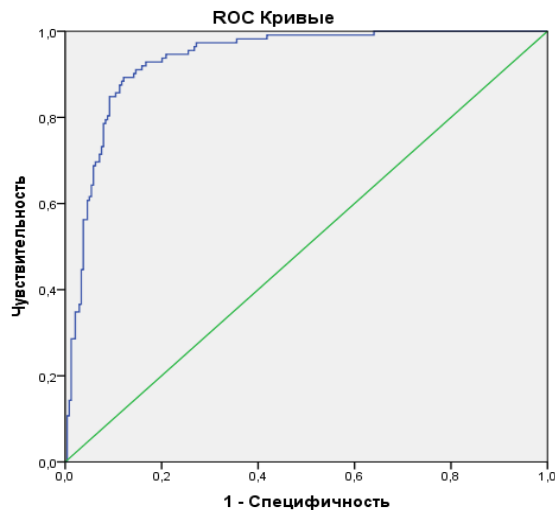


Рисунок 44. ROC-кривая модели прогнозирования ЗВУР 2-3 степени ($PI_{звур2}$)

Для расчета риска преждевременных родов рассчитан прогностический индекс ($PI_{ПР}$), который определяется по следующей формуле:

$$PI_{ПР} = -0,32X_1 - 1,79X_2 - 1,53X_3 + 0,73X_4 - 0,44X_5 - 14,32X_6 + 1,26X_7 - 3,33$$

где $PI_{\text{ПР}}$ – прогностический индекс вероятности преждевременных родов;

X_1 – порядковый номер данной беременности у пациентки

X_2 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_3 – никотинозависимость у пациентки (1 – пациентка никотинозависимая, 0 – не курящая пациентка);

X_4 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_5 – уровень лейкоцитов в общем анализе крови в 1 триместре, $\times 10^9/\text{л}$;

X_6 – уровень МНО в 1 триместре;

X_7 – уровень РАРР в 11-13,6 недель, МоМ;

Константа = – 3,33.

При $PI_{\text{ПР}} > 0$ делают заключение о низком риске развития преждевременных родов при данной беременности, прогноз благоприятный; при $PI_{\text{ПР}} \leq 0$ делают заключение о высоком риске развития преждевременных родов, прогноз неблагоприятный.

Мы намеренно разработали правило прогноза, не включающее показатель «длина шейки матки», так как мы считаем, что в случае, когда длина шейки матки начала значительно укорачиваться, фактически уже можно констатировать наличие осложненной беременности. Кроме того, при разработке правил прогноза мы стремились разработать алгоритм, который поможет оценить прогноз в 1 триместре беременности, а цервикометрия рекомендуется только во втором триместре.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,947 \pm 0,02$, ДИ 95% 0,909-0,986 при $p=0,000$, что соответствовало отличному качеству модели для прогнозирования преждевременных родов (рисунок 45).

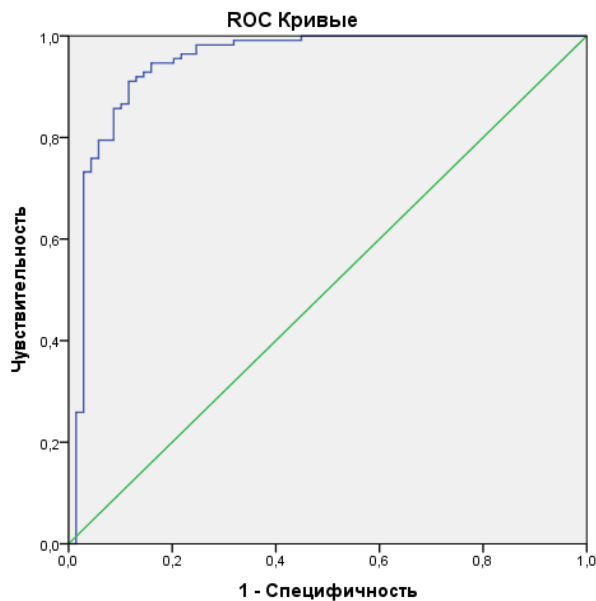


Рисунок 45. ROC-кривая модели прогнозирования преждевременных родов ($PI_{ПР}$)

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 84,1% и 90,2%, эффективность способа 87,1%.

Мы также разработали правило прогнозирования для расчета риска преждевременных родов во 2 триместре после оценки длины шейки матки.

$$PI_{ПР2} = 0,11X_1 - 1,56X_2 - 1,25X_3 - 1,35X_4 + 0,87X_5 - 4,1X_6 - 0,16X_7 + 0,1X_8 + 0,57X_9 - 48,78$$

где $PI_{ПР2}$ – прогностический индекс преждевременных родов;

X_1 – рост пациентки, см;

X_2 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин <110 г/л), 0 – нет анемии);

X_3 – наличие аборт в анамнезе (1 – у пациентки анамнез отягощен искусственным аборт/абортами, 0 – у пациентки нет абортов в анамнезе);

X_4 – количество случаев невынашивания беременности в анамнезе;

X_5 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_6 – наличие укорочения шейки матки у пациентки (1 – длина шейки

матки менее 25мм, 0 – длина шейки матки более 25 мм, при трансвагинальной эхографии в 16-20 недель беременности);

X_7 – уровень билирубина во 2 триместре, мкмоль/л;

X_8 – уровень креатинина во 2 триместре, мкмоль/л;

X_9 – уровень мочевины во 2 триместре, ммоль/л;

Константа = – 48,78.

При $PI_{ПР2} > 0$ делают заключение о низком риске развития преждевременных родов при данной беременности, прогноз благоприятный; при $PI_{ПР2} \leq 0$ делают заключение о высоком риске развития преждевременных родов, прогноз неблагоприятный.

По результатам построения ROC-кривой показатель AUC составил $0,977 \pm 0,01$, ДИ 95% 0,957-0,998 при $p=0,000$, что соответствовало отличному качеству модели для прогнозирования преждевременных родов (рисунок 46).

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 89,9% и 94,6%, эффективность способа 92,3%.

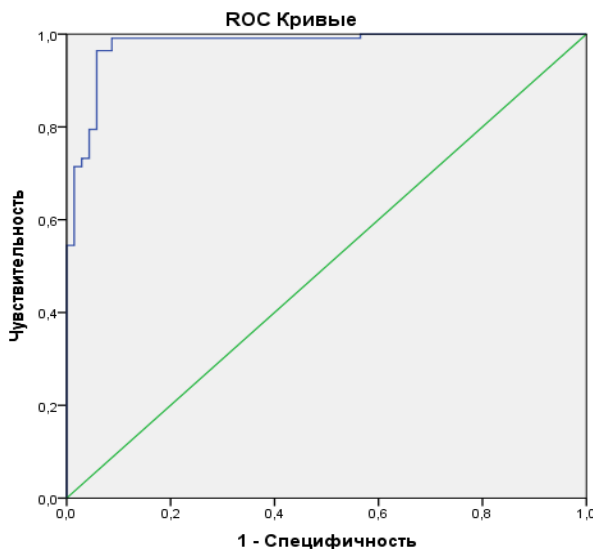


Рисунок 46. ROC-кривая модели прогнозирования преждевременных родов ($PI_{ПР2}$)

Безусловно, расчет риска преждевременных родов во 2 триместре с учетом параметра «ИЦН» является более точным, у индекса $PI_{ПР2}$ показатели чувствительности и специфичности выше, чем у $PI_{ПР}$. Тем не менее, на наш

взгляд не стоит отказываться от использования индекса $PI_{ПР}$ в 1 триместре, так как это позволит начать профилактику ПР раньше, и, следовательно, она будет более эффективной. На наш взгляд у одной и той же пациентки оптимально использовать оба разработанных нами правила прогноза.

Обращает на себя внимание тот факт, что ни параметр «отягощенная наследственность», ни параметр «результат расчета риска по программе “GOS RISK”» не вошли в правило прогноза преждевременных родов. Можно сделать вывод, что наследственная предрасположенность при данной патологии играет меньшую роль, чем при преэклампсии или ЗВУР, при этом намного большую роль играет акушерский анамнез – количество беременностей у пациентки в анамнезе и их исход.

Для расчета риска антенатальной гибели плода (у пациенток, не имеющих преэклампсии или ЗВУР) мы разработали следующее правило прогноза:

$$PI_{АГП} = -16,34X_1 - 8,71X_2 + 1,9X_3 + 3,47X_4 - 0,37X_5 - 78$$

где $PI_{АГП}$ – прогностический индекс антенатальной гибели плода;

X_1 – наличие у пациентки ожирения (X_1 – ИМТ > 30 кг/см², X_2 – ИМТ < 30 кг/см²;

X_2 – наличие анемии (1 – у пациентки имеется анемия (гемоглобин < 110 г/л), 0 – нет анемии);

X_3 – паритет (порядковый номер родов, которые предстоят пациентке);

X_4 – уровень АЧТВ в 1 триместре, с;

X_5 – уровень АЛТ в 1 триместре, Ед/л;

Константа = – 78.

При $PI_{АГП} > 0$ делают заключение о низком риске развития внезапной антенатальной гибели плода при данной беременности, прогноз благоприятный; при $PI_{АГП} \leq 0$ делают заключение о высоком риске антенатальной гибели плода, прогноз неблагоприятный.

Для данного правила прогноза показатели чувствительности и специфичности оказались самыми низкими. По результатам построения

ROC-кривой показатель AUC составил $0,656 \pm 0,245$, ДИ 95% 0,177-1 при $p=0,45$, что соответствовало низкому качеству модели для прогнозирования АГП (рисунок 47).

Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 59,9% и 65,7%, эффективность способа 62,8%. Характер представленной ROC-кривой демонстрирует низкую чувствительность и специфичность разработанного нами правила прогноза в отношении антенатальной гибели плода. При этом тестирование генетических полиморфизмов и включение полученной информации в прогностическую модель не привело к повышению точности прогноза. Данный факт, на наш взгляд, отражает крайнюю сложность прогнозирования «случайной» антенатальной гибели плода при беременности, протекающей без осложнений.

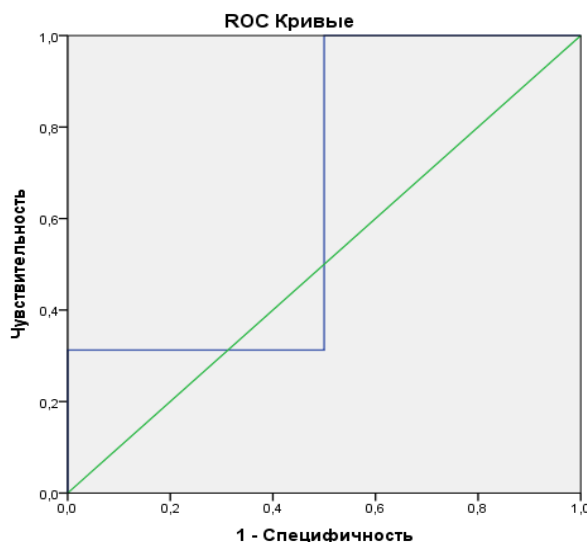


Рисунок 47. ROC-кривая модели прогнозирования внезапной антенатальной гибели плода ($PI_{AGП}$)

Клинические примеры.

Пример 1

Повторнобеременная пациентка Н. 29 лет, домохозяйка, жительница г. Екатеринбурга. Наследственность не отягощена. Хронических заболеваний у

пациентки нет. Вредные привычки, профессиональные вредности – отрицает.

Менструации с 13 лет, установились сразу, менструальный цикл регулярный, через 30 по 5 дней.

В анамнезе – 1 роды, 2 искусственных аборта по желанию пациентки, настоящая беременность – четвертая, не запланированная, желанная.

На учет в женскую консультацию встала в сроке беременности 10 недель.

При постановке на учет жалоб не предъявляла. Рост пациентки 157 см, вес 48 кг, ИМТ 17,2 кг/см². Телосложение правильное, пропорциональное, оволосение по женскому типу. АД 100/60 мм.рт.ст.

Диагноз при первой явке: Беременность 10 недель. ОАА (аборты в анамнезе). Дефицит массы тела.

Выполнены лабораторные исследования регламентированные приказом МЗ РФ №572-н.

Результаты исследований:

Группа крови: O(I), Rh(+)пол.

ОАК: гемоглобин 121 г/л, эритроциты $4,25 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты $8,9 \times 10^9$ /л, СОЭ 5 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 94,4%, МНО 1,03, АЧТВ 29,3 с, тромбоциты 230×10^9 /л, фибриноген 2,8 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 19 мкмоль/л, АСТ 17 Ед/л, АЛТ 14 Ед/л, сахар 5,0 ммоль/л, креатинин 63 мкмоль/л, мочевины 3,9 ммоль/л, общий белок 64 г/л.

Общий анализ мочи – в норме.

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме.

Анализ на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С – отрицательны.

В сроке беременности 12 недель 1 день пациентке проведен комплекс пренатальной диагностики 1 триместра. По результатам УЗИ выявлено: КТР 52 мм, ТВП 2 мм, носовая кость плода визуализируется, реверсного кровотока в венозном протоке нет, пороков развития у плода не выявлено.

Биохимические показатели: PAPP-A 1,598 МЕ/л (0,629 МоМ), β -ХГЧ 107,92 МЕ/л (2,841 МоМ). Индивидуальный риск хромосомной патологии у плода: риск трисомии 21 - 1:61, трисомии 13 – 1:17098, трисомии 18 – 1: 5424. От проведения инвазивной пренатальной диагностики пациентка отказалась, и в тот же день обратилась в частный медицинский центр и провела тест «НИПС».

По результатам неинвазивного пренатального скрининга определен низкий риск синдромов Дауна, Эдвардса, Патау, Тернера, Клайнфельтера у плода, пол плода – женский, уровень фетальной фракции 5%.

В 13 недель пациентке проведен расчет риска осложнений беременности с помощью индекса PI_2 . $PI_2 = -1.36$. При индексе $PI_2 < 0$ было сделано заключение о высоком риске «больших акушерских синдромов» в течение беременности у данной пациентки. Дополнительная проверка прогноза была выполнена с помощью индекса PI .

Получен результат $PI = -1,35$, что говорит о высоком риске “больших акушерских синдромов”.

Молекулярно-генетическое исследование на наличие полиморфизмов в генах, ассоциированных с «большими акушерскими синдромами», пациентке не проводилось, поэтому сделать расчет индекса PI_1 не представлялось возможным.

После того, как был установлен высокий риск развития осложнений беременности у пациентки в виде «больших акушерских синдромов», мы рассчитали прогностические индексы отдельных составляющих $PI_{ПЭ}$, $PI_{ЗВУР}$, $PI_{ПР}$ и $PI_{АГП}$, для того, чтобы определить какие именно осложнения вероятны в течении данной беременности.

Мы получили следующие результаты:

$PI_{ПЭ} = 0,11$ (риск преэклампсии низкий)

$PI_{ЗВУР} = -1,33$ (риск ЗВУР без преэклампсии высокий)

$PI_{ПР} = -1,09$ (риск преждевременных родов высокий)

$PI_{АГП} = 22,29$ (риск случайной антенатальной гибели плода низкий).

Учитывая выявленный высокий риск преждевременных родов, в 17 недель мы провели пациентке дополнительное УЗИ с цервикометрией, длина цервикального канала была 36 мм, внутренний зев сомкнут. Руководствуясь существующими клиническими рекомендациями [66], мы не советовали пациентке профилактику преждевременных родов путем вагинального введения микронизированного прогестерона.

Результаты обследования во 2 триместре:

ОАК: гемоглобин 117 г/л, эритроциты $3,75 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $7,8 \times 10^9/л$, СОЭ 14 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 95%, МНО 1,05, АЧТВ 27 с, тромбоциты $228 \times 10^9/л$, фибриноген 4,0 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 16,5 мкмоль/л, АСТ 18 Ед/л, АЛТ 19 Ед/л, сахар 4,3 ммоль/л, креатинин 64 мкмоль/л, мочевины 3,3 ммоль/л, общий белок 60 г/л.

Общий анализ мочи – в норме

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме

При УЗИ-скрининге 2 триместра (в сроке беременности 19 недель 5 дней) размеры плода соответствуют сроку беременности, ВПР не выявлено, длина цервикального канала 32 мм, внутренний зев сомкнут.

С учетом результатов обследования во 2 триместре мы рассчитали индекс $PI_{ПР2}$. $PI_{ПР2} = -1,63$. Несмотря на отсутствие ИЦН, риск преждевременных родов оказался высоким. Индекс $PI_{звур2}$ мы рассчитать не смогли, так как у пациентки не проводилось молекулярно-генетическое исследование и расчет риска в программе “GOS RISK”, а данный параметр входит в формулу для расчета $PI_{звур2}$.

Учитывая высокий риск ЗВУР (соответственно индексу $PI_{звур}$) в 28 недель мы рекомендовали пациентке дополнительное УЗИ с доплерометрией. Размеры плода соответствовали сроку беременности 26-27 недель, НМПК не выявлено.

В сроке беременности 30 недель 6 дней пациентка направлена на УЗИ-

скрининг 3 триместра. Размеры плода соответствовали сроку беременности 28-29 недель, выявлено НМПК 1 степени (увеличение PI и RI в правой маточной артерии), количество околоплодных вод в норме (ИАЖ 9 см). Пациентке было рекомендовано проводить УЗИ+доплерометрию 1 раз в 2 недели.

Лабораторные показатели в 3 триместре без существенных отклонений от нормы. Общий анализ мочи пациентке сдавала при каждой явке, протеинурия не выявлялась.

В сроке беременности 32 недели 5 дней размеры плода по биометрии соответствовали сроку беременности 29-30 недель, выявлено маловодие (ИАЖ 5 см), НМПК 1 степени (увеличение PI и RI в правой маточной артерии). КТГ – сомнительная. Пациентка была госпитализирована. Рекомендован ежедневный контроль КТГ. На следующий день беременная отметила ухудшение шевеление плода, проведено КТГ, выявлены признаки дистресса плода. Проведена доплерометрия – выявлено НМПК 2 степени (нарушение кровотока в правой маточной артерии и в артерии пуповины). Принято решение о завершении беременности методом операции кесарева сечения.

При операции извлечена живая недоношенная девочка весом 1180 грамм, с оценкой по шкале Апгар 5/6 баллов, околоплодные воды – мекониальные.

Плацента направлена на гистологическое исследование. По результатам гистологии выявлено нарушение созревания ворсин, атероматоз плаценты, сделано заключение о наличии плацентарной недостаточности.

Таким образом, нами верно был определен общий риск осложнений беременности и риск ЗВУР. Риск преэклампсии и внезапной антенатальной гибели плода был рассчитан как низкий, и этих осложнений в течении беременности у пациентки не произошло. Мы определили высокий риск преждевременных родов, однако в данном случае не известно, верно ли был оценен данный риск, поскольку, учитывая ЗВУР 2 степени, наличие

признаков дистресса плода, были произведено ятрогенное преждевременное родоразрешение путем операции кесарева сечения.

Пример 2.

Первобеременная пациентка С. 26 лет, инженер по профессии, жительница г. Екатеринбурга. Наследственность не отягощена. Хронических соматических заболеваний у пациентки нет. Вредные привычки, профессиональные вредности – отрицает.

Менструации с 12 лет, установились сразу, менструальный цикл регулярный, через 28 по 5 дней.

При планировании беременности пациентке проведено молекулярно-генетическое исследование «Панель «Осложнения беременности»». Результаты исследования представлены в таблице 85.

Таблица 85. Результаты молекулярно-генетического исследования пациентки С.

Ген	Полиморфизм	Результат пациентки	Превалирующий в популяции генотип
FGB	G-455A	GG	GG
F2	G-20210A	GG	GG
F5	G1691A	GG	GG
F7	G10976A	GG	GG
F13	G103A	GG	GG
PLAT	C7351T	CT	CC
PAI1	-657 5G/4G	4G4G	5G5G
ITGA2	C807T	CC	CC
ITGB3	T176C	CT	TT
GpVI	A683G	GG	AA
MTHFR	C677T	CT	CC
MTHFD	G1958A	GG	GG
MTR	A2756G	AG	AA
MTRR	A66G	AG	AA
EDN1	G5393T	GT	GG
CYP11B2	G-344A	GA	GG
ACE	Alu I/D	DD	II
AGT	A704G	GG	AA

IL1 β	G-511A	AA	GG
IL1 β	G+3953A	GA	GG
TNF-a	G-308A	GG	GG
GSTM	N/del	+/+	+/+
GSTP	A313G	AA	AA
GSTP	C341T	CC	CC
GSTT	N/del	+/+	+/+
ESR2	A1730G	AG	AA

На учет в женскую консультацию встала в сроке беременности 8 недель 5 дней. При постановке на учет жалоб не предъявляла. Рост пациентки 163 см, вес 67 кг, ИМТ 25,3 кг/см². Телосложение правильное, пропорциональное, оволосение по женскому типу. АД 110/70 мм.рт.ст.

Диагноз при первой явке: Беременность 8-9 недель.

Даны направления на лабораторные исследования.

Результаты исследований:

Группа крови: O(I), Rh(-) отр.

ОАК: гемоглобин 130 г/л, эритроциты $4,23 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты $5,7 \times 10^9$ /л, СОЭ 18 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 92%, МНО 1,08, АЧТВ 28 с, тромбоциты 254×10^9 /л, фибриноген 3,7 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 11 мкмоль/л, АСТ 15,3 Ед/л, АЛТ 11,7 Ед/л, сахар 4,3 ммоль/л, креатинин 70 мкмоль/л, мочевины 4,7 ммоль/л, общий белок 69 г/л

Общий анализ мочи – в норме

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме

Анализы на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С – отрицательны.

В сроке беременности 13 недель 4 дня пациентке проведен комплекс пренатальной диагностики 1 триместра. По результатам УЗИ выявлено: КТР 70 мм, ТВП 2,3 мм, носовая кость плода визуализируется, реверсного кровотока в венозном протоке нет, пороков развития у плода не выявлено. Биохимические показатели: РАРР-А 4,058 МЕ/л (1,249 МоМ), β -ХГЧ 18,13 МЕ/л (0,497 МоМ). Индивидуальный риск хромосомной патологии у плода:

риск трисомии 21, трисомии 13, трисомии 18 – <1: 10000.

В 14 недель пациентке проведен расчет риска осложнений беременности с помощью индекса PI_1 (с учетом результатов расчета риска по программе «GOS RISK». $PI_1 = -0,54$ (высокий риск развития «больших акушерских синдромов» в течение беременности у данной пациентки).

После того, как мы спрогнозировали высокий риск развития осложнений беременности у пациентки, был рассчитаны прогностические индексы $PI_{ПЭ1}$, $PI_{ЗВУР}$, $PI_{ПР}$ и $PI_{АГП}$, для того, чтобы определить какие именно осложнения вероятны в течении данной беременности.

Мы получили следующие результаты:

$PI_{ПЭ1} = -3$ (риск тяжелой преэклампсии высокий)

$PI_{ЗВУР} = -1,27$ (риск ЗВУР высокий, независимо от развития преэклампсии)

$PI_{ПР} = 0,39$ (риск преждевременных родов высокий)

$PI_{АГП} = 16,7$ (риск случайной антенатальной гибели плода низкий).

Учитывая высокий риск преэклампсии, мы рекомендовали пациентке прием ацетилсалициловой кислоты в дозе 150 мг ежедневно, однако от приема данного препарата пациентка отказалась.

При УЗИ-скрининге 2 триместра (в сроке беременности 18 недель 6 дней) размеры плода соответствуют сроку беременности, ВПР не выявлено, длина цервикального канала 38 мм, внутренний зев сомкнут.

Лабораторные показатели во 2 триместре:

ОАК: гемоглобин 111 г/л, эритроциты $3,53 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $7,8 \times 10^9/л$, СОЭ 17 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 103%, МНО 0,95, АЧТВ 27 с, тромбоциты $219 \times 10^9/л$, фибриноген 3,9 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 16 мкмоль/л, АСТ 20,1 Ед/л, АЛТ 18,7 Ед/л, сахар 4,6 ммоль/л, креатинин 73 мкмоль/л, мочевины 4,2 ммоль/л, общий белок 60 г/л

Общий анализ мочи – в норме.

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме.

АД при беременности 110-120/70-80 мм.рт.ст.

С учетом результатов обследования 2 триместра, мы рассчитали индексы $PI_{звур2}$ и $PI_{ПР2}$.

$PI_{звур2} = -4,69$ (риск ЗВУР высокий, независимо от развития преэклампсии)

$PI_{ПР2} = 1,86$ (риск преждевременных родов низкий)

Учитывая высокий риск ЗВУР (соответственно индексам $PI_{звур}$, $PI_{звур2}$) в 28-29 недель мы рекомендовали пациентке дополнительное УЗИ с доплерометрией. Размеры плода соответствовали в 28 недель 6 дней сроку беременности 27-28 недель, количество околоплодных вод в норме. По результатам доплерометрии выявлено НМПК I степени – увеличение PI , RI в правой маточной артерии.

В 29 недель в общем анализе мочи у пациентки выявлена протеинурия 0,6 г/л, на приеме – повышение АД до 142/94. Выставлен диагноз «Умеренная преэклампсия», пациентке рекомендована госпитализация. Жалоб пациентка не предъявляла.

В стационаре пациентке проведено исследование «суточная протеинурия», уровень белка – 0,7 г/л. Рекомендован суточный мониторинг артериального давления (СМАД). При проведении СМАД в ночные часы у пациентки выявлено повышение АД до 173/128 мм.рт.ст.

Результаты анализов:

ОАК: гемоглобин 115 г/л, эритроциты $3,72 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $8,1 \times 10^9/л$, СОЭ 22 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 112, МНО 0,9, АЧТВ 24,7 с, тромбоциты $225 \times 10^{12}/л$, фибриноген 4,8 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 17 мкмоль/л, АСТ 21,1 Ед/л, АЛТ 18,5 Ед/л, сахар 4,6 ммоль/л, креатинин 71 мкмоль/л, мочевины 4,1 ммоль/л, общий белок 55 г/л.

Начата антигипертензивная терапия, магниевая терапия, профилактика СДР плода.

Несмотря на проводимую терапию, через 2 дня выявлена протеинурия 2,0 г/л, повышение АД до 162/110. Пациентке дополнительно назначен нифедипин (для быстрого снижения АД), рекомендовано срочное оперативное родоразрешение.

В сроке беременности 29 недель 4 дня проведена операция кесарева сечения, извлечен живой недоношенный мальчик, весом 900 грамм, длиной 31 см, с оценкой по шкале Апгар 4/5 баллов.

Пример 3

Повторнобеременная первородящая пациентка М. 33 лет, ведущий специалист торговой компании, жительница г. Каменск-Уральский. Наследственность отягощена: у матери гипертоническая болезнь, у отца – рак легких. Хронические соматические заболевания: хронический гастрит, ремиссия. Вредные привычки, профессиональные вредности – отрицает.

Менструации с 13 лет, установились сразу, менструальный цикл регулярный, через 28 по 4-5 дней.

У пациентки в анамнезе 2 неразвивающиеся беременности (завершены в сроке беременности 7-8 недель). При 2 беременности был проведен ХМА продуктов зачатия, выявлена мозаичная трисомия 22 хромосомы (уровень мозаицизма 70%).

При планировании беременности пациентке проведено молекулярно-генетическое исследование «Панель «Осложнения беременности»».

Результаты исследования представлены в таблице 86.

С помощью программы «GOS RISK» была выполнена оценка риска осложнений беременности у данной пациентки и получили результат «Общепопуляционный риск».

Таблица 86. Результаты молекулярно-генетического исследования пациентки М.

Ген	Полиморфизм	Результат пациентки	Превалирующий в популяции генотип
FGB	G-455A	GA	GG
F2	G-20210A	GG	GG
F5	G1691A	GG	GG
F7	G10976A	GA	GG
F13	G103A	GA	GG
PLAT	C7351T	CT	CC
PAI1	-657 5G/4G	5G4G	5G5G
ITGA2	C807T	CC	CC
ITGB3	T176C	TT	TT
GpVI	A683G	AA	AA
MTHFR	C677T	CC	CC
MTHFD	G1958A	GA	GG
MTR	A2756G	GG	AA
MTRR	A66G	AA	AA
EDN1	G5393T	GT	GG
CYP11B2	G-344A	GG	GG
ACE	Alu I/D	ID	II
AGT	A704G	AG	AA
IL1 β	G-511A	GG	GG
IL1 β	G+3953A	GA	GG
TNF-a	G-308A	GG	GG
GSTM	N/del	+/+	+/+
GSTP	A313G	AG	AA
GSTP	C341T	CC	CC
GSTT	N/del	+/+	+/+
ESR2	A1730G	AG	AA

На учет в женскую консультацию встала в сроке беременности 7 недель 5 дней.

При постановке на учет жалоб не предъявляла. Рост пациентки 168 см, вес 65 кг, ИМТ 24 кг/см². Телосложение правильное, пропорциональное, оволосение по женскому типу. АД 112/71 мм.рт.ст.

Диагноз при первой явке: Беременность 7-8 недель. ОАА (привычный выкидыш). Хронический гастрит, ремиссия.

Даны направления на лабораторные исследования.

Результаты исследований:

Группа крови: A(II),Rh(+)пол.

ОАК: гемоглобин 109 г/л, эритроциты $3,5 \times 10^{12}$ /л, лейкоциты $6,5 \times 10^9$ /л, СОЭ 11 мм/ч

Коагулограмма: ПТИ 99%, МНО 1, АЧТВ 34,4 с, тромбоциты 199×10^9 /л, фибриноген 3,8 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 12,8 мкмоль/л, АСТ 19,2 Ед/л, АЛТ 16,7 Ед/л, сахар 4,4 ммоль/л, креатинин 56,5 мкмоль/л, мочевины 2,7 ммоль/л, общий белок 63 г/л.

Общий анализ мочи – в норме.

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме.

Анализы на ВИЧ, сифилис, гепатиты В и С – отрицательны.

Учитывая наличие анемии 1 степени, пациентке были назначены пероральный прием препаратов железа (сульфат железа 100 мг 2 раза в день).

В сроке беременности 11 недель 5 дней пациентке проведен комплекс пренатальной диагностики 1 триместра. По результатам УЗИ выявлено: КТР 51,1 мм, ТВП 1,5 мм, носовая кость плода визуализируется, реверсного кровотока в венозном протоке нет, пороков развития у плода не выявлено. Биохимические показатели: PAPP-A 1,566 ммоль/л (1,136 МоМ), β -ХГЧ 32,7 (0,792 МоМ). Индивидуальный риск хромосомной патологии у плода: риск трисомии 21, трисомии 13, трисомии 18 – $<1: 10000$.

Поскольку у пациентки в анамнезе было 2 неразвивающиеся беременности, и она имела высокий уровень беспокойства о состоянии будущего ребенка, пациентка решила сделать НИПС. В 12 недель беременности сделан тест «Панорама», расширенная панель. Результат: риск хромосомных аномалий у плода низкий, пол плода - женский, фетальная фракция 7,2%.

В 13 недель пациентке проведен расчет риска осложнений беременности с помощью индекса PI_1 (с учетом результатов расчета риска по программе «GOS RISK». $PI=1.33$ (низкий риск развития «больших акушерских

синдромов» в течение беременности у данной пациентки). Индекс PI_2 (рассчитанный с учетом показателя фетальной фракции) был 0,15, то есть также определил низкий риск.

Исходя из научного интереса, мы рассчитали индексы $PI_{ПЭ1}$, $PI_{звур}$, $PI_{ПР}$ и $PI_{АГП}$.

Мы получили следующие результаты:

$PI_{ПЭ1}=7,05$ (риск тяжелой преэклампсии низкий)

$PI_{звур}=-3,5$ (высокий риск развития ЗВУР без преэклампсии)

$PI_{ПР}=2,28$ (риск преждевременных родов низкий)

$PI_{АГП}=28,38$ (риск случайной антенатальной гибели плода низкий).

При УЗИ-скрининге 2 триместра (в сроке беременности 20 недель) размеры плода соответствуют сроку беременности, ВПР не выявлено, длина цервикального канала 34 мм, внутренний зев сомкнут.

Лабораторные показатели во 2 триместре:

ОАК: гемоглобин 115 г/л, эритроциты $3,81 \times 10^{12}/л$, лейкоциты $7,2 \times 10^9/л$, СОЭ 28 см/ч

Коагулограмма: ПТИ 98, МНО 1,01, АЧТВ 32,3 с, тромбоциты $183 \times 10^{12}/л$, фибриноген 4,5 г/л

Биохимический анализ крови: билирубин (общий) 12,8 мкмоль/л, АСТ 20,5 Ед/л, АЛТ 20,7 Ед/л, сахар 3,9 ммоль/л, креатинин 58 мкмоль/л, мочевины 3,7 ммоль/л, общий белок 59 г/л

Общий анализ мочи – в норме

Микроскопическое исследование мазка на флору – в норме

АД при беременности 100-115/60-74 мм.рт.ст.

С учетом результатов обследования 2 триместра, мы рассчитали индексы $PI_{звур2}$ и $PI_{ПР2}$.

$PI_{звур2}= 1,69$ (риск ЗВУР низкий)

$PI_{ПР2}=2,28$ (риск преждевременных родов низкий)

Далее беременность у пациентки протекала без осложнений. В сроке беременности 40 недель 2 дня самостоятельно родоразрешилась живой

доношенной девочкой весом 3440 грамм, длиной 52 см, с оценкой по шкале Апгар 8/9 баллов.

Таким образом, с помощью различных индексов верно оценен общий риск осложнений беременности, как низкий. Изначально был определен повышенный риск ЗВУР у пациентки. Тем не менее, когда мы рассчитали риск ЗВУР повторно, во 2 триместре, с помощью индекса $PI_{звур2}$, который включает не только лабораторные показатели 1 и 2 триместра, но и результаты молекулярно-генетического исследования, был установлен низкий риск ЗВУР, и данный прогноз оказался верным. Кроме того, благодаря индексам $PI_{пр}$ и $PI_{пр2}$, был верно установлен низкий риск преждевременных родов, несмотря на наличие привычного невынашивания беременности в анамнезе у пациентки.

Подводя краткий итог данному разделу работы необходимо указать на то, что современные математические инструменты дают возможность на основании оценки относительно простых анамнестических, инструментальных, а также молекулярно-генетических критериев, с высокой специфичностью и чувствительностью прогнозировать формирование наиболее клинически значимой патологии беременности, объединенной едиными патогенетическими механизмами – «большие акушерские синдромы». Причем, результаты нашего исследования подтверждают высокие прогностические потенции математических моделей как в отношении «больших акушерских синдромов» в целом, так и в отношении отдельных составляющих этого сборного клинического понятия. Включение разработанных нами правил прогноза в относительно несложные компьютерные программы и калькуляторы создает предпосылки для их широкого использования в клинической практике.

6.3. Оптимизация оказания акушерской помощи и персонафицированный алгоритм принятия тактических решений при высоком риске «больших акушерских синдромов».

Результаты нашего исследования позволили сформировать алгоритм оказания акушерской помощи для своевременного прогнозирования «больших акушерских синдромов», и, как следствие, улучшения исходов беременности. Предложенный нами алгоритм ведения беременности представлен на рисунке 48.

При прегравидарной подготовке пациентке предлагается провести молекулярно-генетическое исследование полиморфизмов генов, ассоциированных с осложнениями беременности, и выполнить компьютерный расчет риска в программе “GOS RISK”.

При беременности после постановки на учет в женской консультации, пациентке рекомендуется стандартное клиничко-лабораторное обследование, регламентированное приказом МЗ РФ №572н [59], включающее в себя комплекс пренатальной диагностики 1 триместра. Далее, если у пациентки имеются результаты молекулярно-генетического исследования, и проведен расчет риска в программе «GOS RISK», следует провести ей расчет прогностического индекса PI_1 (у данного индекса наиболее высокие показатели чувствительности и специфичности). Если результаты молекулярно-генетического исследования отсутствуют, проводится расчет индекса PI .

Если значение PI или PI_1 больше 0, делают заключение о низком риске развития «больших акушерских синдромов», и далее рекомендуется вести данную беременность как «беременность низкого риска» согласно клиническим рекомендациям «Нормальная беременность» [56].

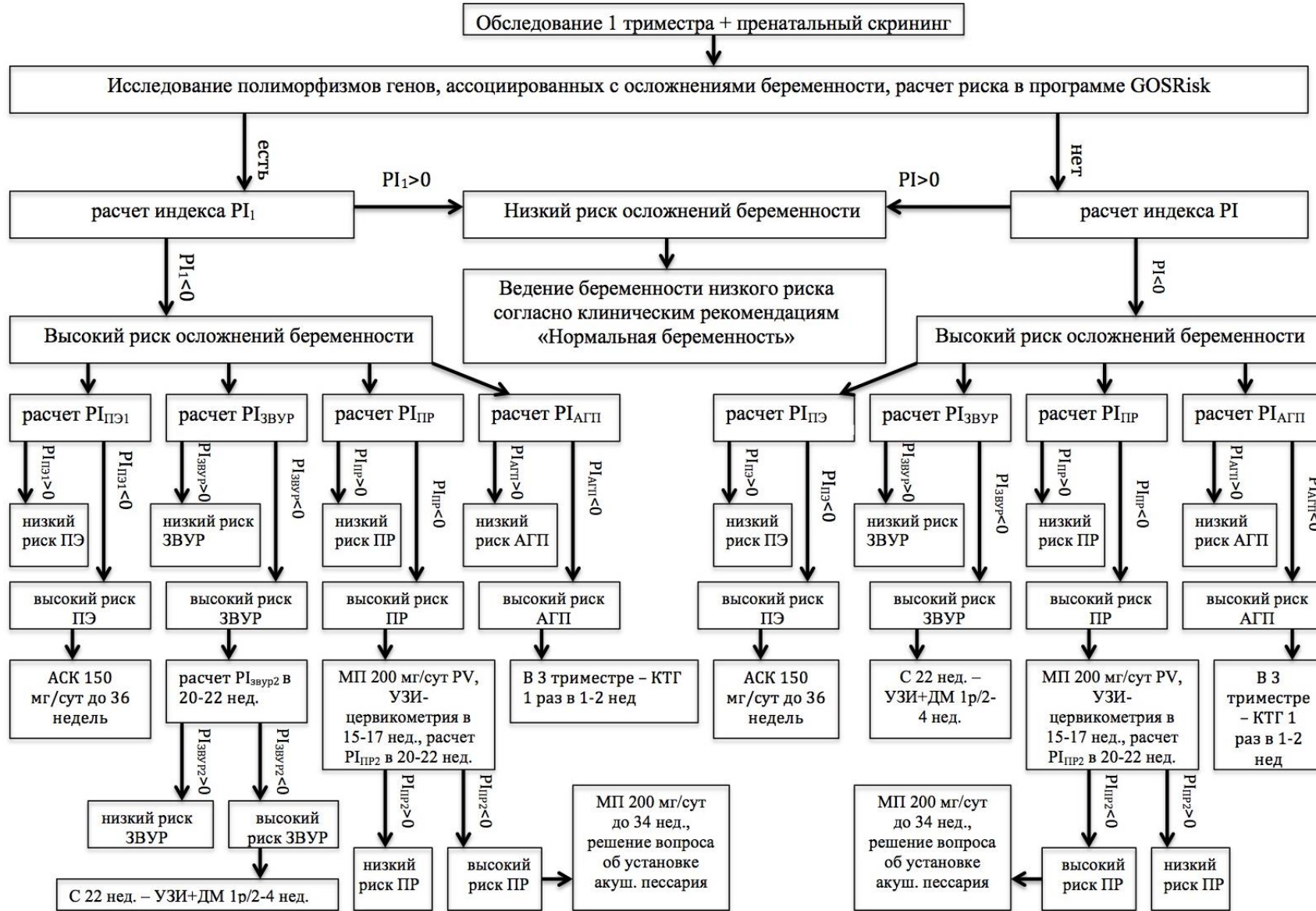


Рисунок 48. Алгоритм ведения беременности с расчетом риска «Больших акушерских синдромов»

В случае, если PI или PI_1 меньше 0, делают заключение о высоком риске осложненного течения беременности, и далее следует оценить, риск каких именно осложнений гестации повышен у данной пациентки.

Для оценки риска тяжелой преэклампсии при наличии результатов оценки генетически-детерминированного риска с помощью программы “GOS RISK”, рассчитывается индекс $PI_{ПЭ1}$, при отсутствии молекулярно-генетического исследования – индекса $PI_{ПЭ}$. Для оценки риска ЗВУР 2-3 степени, преждевременных родов и внезапной антенатальной гибели плода используются индексы $PI_{ЗВУР}$, $PI_{ПР}$ и $PI_{АП}$.

В случае, если $PI_{ПЭ}$ или $PI_{ПЭ1} > 0$, риск преэклампсии низкий. Если $PI_{ПЭ}$ или $PI_{ПЭ1} < 0$ – высок риск тяжелой преэклампсии, необходимо начать профилактику преэклампсии ацетилсалициловой кислотой (АСК) 150 мг/сут (согласно клиническим рекомендациям «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия») [25, 306].

Если $PI_{ЗВУР} > 0$, риск ЗВУР 2-3 степени низкий. Если $PI_{ЗВУР} < 0$, повышен риск ЗВУР 2-3 степени. Следует провести коррекцию модифицируемых факторов риска ЗВУР (лечение анемии, категорический отказ от курения, белковое питание). Если у пациентки есть результаты оценки риска осложнений беременности, проведенной с помощью программы “GOS RISK”, можно во 2 триместре рассчитать риск ЗВУР 2-3 степени повторно с помощью индекса $PI_{ЗВУР2}$, и тогда в случае $PI_{ЗВУР2} > 0$ делается вывод о низком риске ЗВУР. Если $PI_{ЗВУР2} < 0$ или не посчитан (а $PI_{ЗВУР} < 0$), начиная со срока беременности 22 недели следует 1 раз в 2-4 недели проводить УЗИ с оценкой темпов роста плода и доплерографию.

Если $PI_{ПР} > 0$, риск преждевременных родов низкий. Если $PI_{ПР} < 1$, риск преждевременных родов высокий, следует начать профилактику преждевременных родов путем вагинального введения микронизированного прогестерона (МП) 200 мг в сутки, провести коррекцию модифицируемых факторов риска (лечение анемии, выявление и лечение бактериального

вагиноза), а в 15-16 недель провести цервикометрию с помощью УЗИ TV [39]. В 20-22 недели после лабораторного обследования 2 триместра и УЗИ-скрининга 2 триместра следует рассчитать индекс $PI_{ПР2}$. $PI_{ПР2} > 0$ делают заключение о низком риске преждевременных родов. При $PI_{ПР2} < 0$ риск преждевременных родов высокий, прием микронизированного прогестерона следует продолжить до 34 недель [66].

Если $PI_{АГП} > 0$, риск антенатальной гибели плода вне связи с акушерскими осложнениями низкий. Если $PI_{АГП} < 0$, риск внезапной антенатальной гибели плода повышен, с пациенткой следует провести беседу о необходимости ежедневного проведения теста шевелений плода, в 3 триместре беременности рекомендовать КТГ 1 раз в 1-2 недели.

Качественное антенатальное наблюдение невозможно без адекватной пренатальной диагностики. Поэтому, учитывая полученные результаты, мы предлагаем модифицированный алгоритм пренатальной диагностики, изображенный на рисунке 49.

Первоначально всем пациенткам в 11-13,6 недель беременности необходимо пройти стандартный комплекс пренатальной диагностики, поскольку помимо оценки риска хромосомных анеуплоидий, его результаты могут быть эффективно использованы для оценки риска осложненного течения беременности.

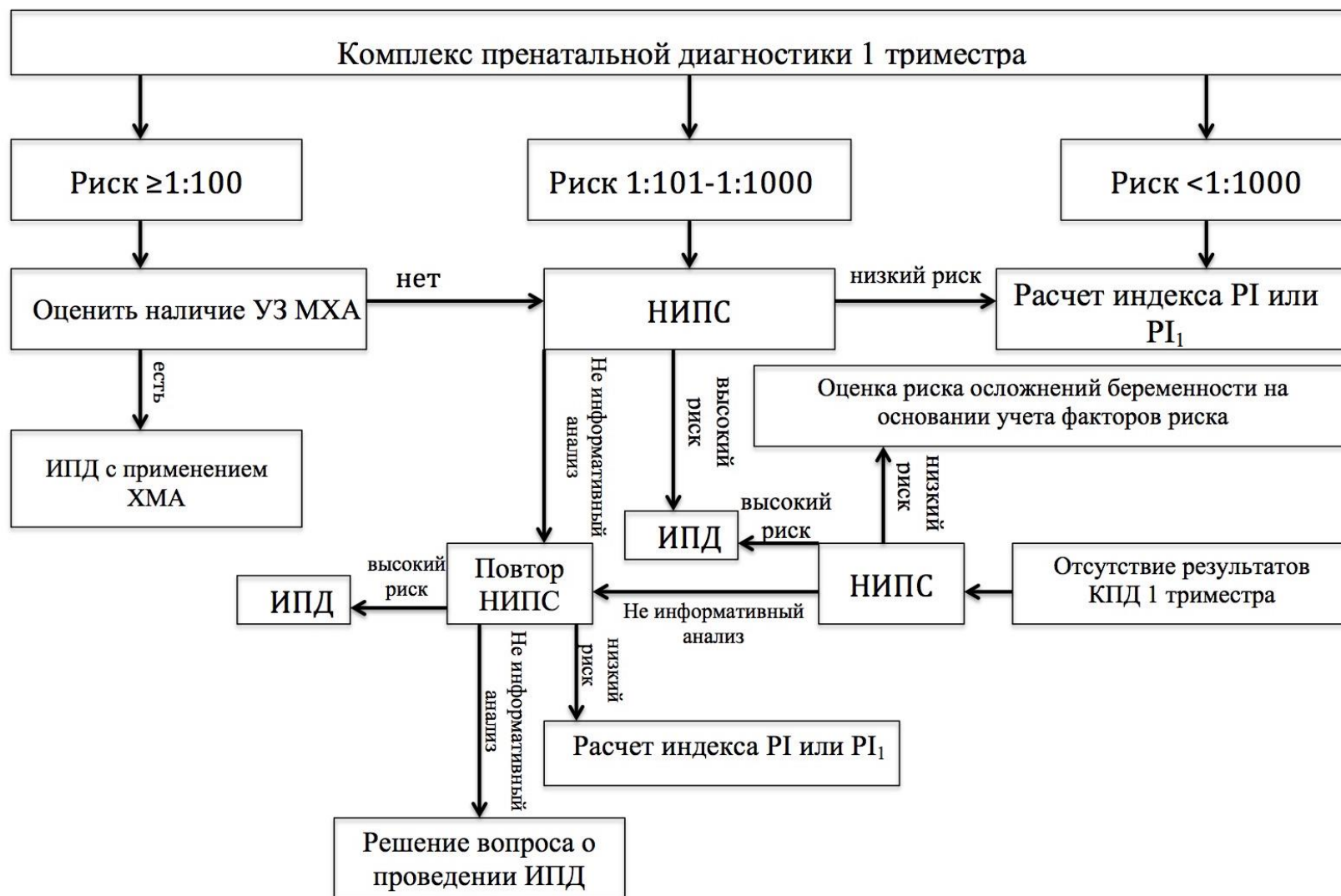


Рисунок 49. Алгоритм проведения пренатальной диагностики в 1 триместре

Далее, в случае, если выявлен риск $\geq 1:100$, следует внимательно оценить, за счет чего выявлен повышенный риск патологии плода. Если высокий риск выявлен вследствие изменения биохимических показателей или анамнестических параметров, при этом результаты УЗИ в норме, следует предложить пациентке НИПС. В случае, если НИПС выявит высокий риск какого-либо хромосомного синдрома, необходимо подтвердить этот результат с помощью инвазивной диагностики и каритипирования биологического материала. Если выявлен низкий риск хромосомных анеуплоидий, следует рассчитать индекс PI или PI₁ и оценить риск осложненного течения беременности. Если результат НИПС не информативен, вследствие низкого уровня фетальной фракции или низкого качества ДНК, пациентке предлагается повторить анализ. При повторном не информативном НИПС необходимо провести инвазивную диагностику.

Если же выявлен риск $\geq 1:100$, и при этом по УЗИ выявлены МХА (увеличение ТВП, отсутствие НК, либо пороки развития) необходимо сразу же направить пациентку на ИПД. Поскольку при наличии именно ультразвуковых маркеров хромосомной патологии повышен риск не только числовых, но и структурных хромосомных перестроек, метод выбора анализа плодного материала в данной случае - это ХМА [177].

Пациенток, с уровнем риска 1:101-1:1000 следует направить на НИПС [262, 300]. В этой группе риск ХА у плода не настолько высок, чтобы сразу после результата скрининга встал вопрос о проведении инвазивной пренатальной диагностики, тем не менее, риск у них несколько выше, чем в общей популяции. Далее, также, как и в группе пациенток высокого риска ХА, в случае выявленного низкого риска следует определить у пациентки риск развития «больших акушерских синдромов» в течение беременности (расчет индекса PI или PI₁), в случае высокого риска по результатам НИПС – провести ИПД, при не информативном анализе – повторить его однократно, при повторном не результативном анализе – решить вопрос о проведении ИПД.

У пациенток, у которых по результатам КПД 1 триместра выявлен низкий риск ($<1:1000$), проводится расчет значения индекса PI или PI₁, и далее – ведение беременности в зависимости от общего уровня риска осложнений беременности и отдельных “больших акушерских синдромов”.

Если пациентка поздно встала на учет и сроки проведения КПД 1 триместра упущены, либо пациентка отказалась от проведения данного исследования, следует ей рекомендовать УЗИ экспертного класса и НИПС. При наличии на УЗИ МХА или пороков развития нужно направить пациентку на ИПД с проведением на плодном материале хромосомного микроматричного анализа [177]. При высоком риске ХА по результатам НИПС пациентка должна быть направлена на инвазивную пренатальную диагностику, при низком риске и нормальных результатах УЗИ следует оценить риск осложнений на основании учета факторов риска, поскольку для подсчета разработанных нами прогностических индексов необходимы показатели скрининга 1 триместра (РАРР-А) и ряд лабораторных показателей также оцененных в 1 триместре.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вопросы репродукции человека продолжают оставаться в фокусе внимания научного и практического сообщества не только врачей акушеров-гинекологов, которые непосредственно занимаются обеспечением благополучного деторождения, но и широкого круга специалистов (организаторов здравоохранения, неонатологов, генетиков, специалистов УЗИ и лабораторной диагностики) так или иначе соприкасающихся с данной проблемой. Для нашей страны эта проблема приобретает особую важность в связи с перманентным демографическим кризисом и депопуляцией. Осознавая невозможность решения чрезвычайно сложных, многоуровневых социально-экономических задач, определяющих снижение рождаемости и высокий уровень смертности населения, с помощью усилий только здравоохранения и тем более акушерско-гинекологической службы, мы тем не менее полагаем, что определенный вклад в их решение может быть сделан. Нам видится, что этот вклад может состоять в том числе и в снижении частоты и степени тяжести осложнений в течение беременности, которые во многом определяют плодовую составляющую репродуктивных потерь. Новые подходы к пониманию общебиологических закономерностей, определяющих этиопатогенетические основы гестационной патологии, нашли отражение в создании, разработке и обосновании концепции «больших акушерских синдромов» [170, 309]. Суть этой концепции состоит в идее, что механизмы лежащие в основе наиболее значимых с клинической точки зрения осложнений беременности (преэклампсия, преждевременные роды, плацентарная недостаточность с задержкой роста плода, невынашивание беременности), которые во многом и определяют репродуктивные потери, едины и сводятся к нарушениям процессов имплантации бластоцисты, формирования плаценты и дальнейшего ее функционирования. Иными словами, «большие акушерские синдромы» - это плацентоассоциированная патология. При всей привлекательности данной

концепции она не дает ответы на ряд вопросов, имеющих важное не только с теоретических, но и практических позиций значение. В частности, известно, что к нарушениям процессов формирования плаценты может привести множество самых разных факторов (лютеиновая недостаточность, врожденные и приобретенные тромбофилии, воздействие инфекционных патогенов, многочисленные генетические аберрации у эмбриона и плода, влияние экзо- и эндогенных токсикантов и др.). В связи с этим вопрос формулируется следующим образом: существует ли какой-либо основной фактор, который и вызывает формирование «больших акушерских синдромов»? Если мы отвечаем на данный вопрос положительно, то естественно возникает следующий вопрос, что это за фактор?

В практической деятельности врачи акушеры-гинекологи постоянно сталкиваются с разными клиническими проявлениями «больших акушерских синдромов» от преэклампсии-эклампсии до неразвивающейся беременности в ранние сроки. Возникает вопрос, что определяет столь разнообразные клинические проявления при единых патогенетических механизмах?

Не менее важным и интересным представляется вопрос о том, что определяет степень тяжести указанных выше осложнений беременности. Не секрет, что раннее начало преэклампсии, как правило, сопряжено с более тяжелыми клиническими проявлениями и печальными перинатальными исходами. А раннее начало плацентарной недостаточности ассоциировано с более тяжелыми проявлениями синдрома задержки роста плода. В таком случае правомерным представляется вопрос: почему, несмотря на общие патогенетические механизмы, в одних ситуациях мы наблюдаем ее катастрофическое развитие, а в других – относительно доброкачественное течение и благополучное завершение беременности? Ответы на эти и некоторые другие вопросы составляют суть научного поиска, направленного на решение проблемы «больших акушерских синдромов».

В последние годы в обиход научных исследований активно включаются новые инструменты и информационные технологии, создающие

реальные предпосылки получения ответов на сформулированные выше вопросы и позволяющие приблизиться к решению глобальной проблемы «больших акушерских синдромов». В частности, имеются в виду, получившие стремительное развитие молекулярно-генетические методы диагностики, а также методы математического моделирования, оперирующие большими базами данных. Использование этих инструментов в выполненной нами научной работе позволило изменить сложившееся ранее представление о механизмах ее формирования, установить значение генетических факторов и разработать прогностические модели обсуждаемой патологии, наметить пути медикаментозной профилактики и решения вопросов тактики ведения беременности при ее возникновении.

Выполнение работы предполагало 5 этапов: 1 этап заключался в ретроспективном анализе роли генетической предрасположенности в формировании «больших акушерских синдромов»; 2 этап состоял в оценке прогностических возможностей различных вариантов пренатального скрининга I триместра беременности на врожденную и наследственную патологию плода в отношении данной патологии; 3 этап касался углубленного анализа течения беременности у пациенток, прошедших пренатальный скрининг I триместра беременности, на основе новых методов молекулярно-генетического тестирования; 4 этап включал исследование abortивного материала полученного при невынашивании беременности с помощью современных цитологических и молекулярно-генетических методов; 5 этап был посвящен разработке и проверки специфичности, чувствительности и прогностической эффективности различных прогностических моделей относящихся к «большим акушерским синдромам».

Гипотеза о генетической детерминированности «больших акушерских синдромов» не нова: известны многочисленные клинические наблюдения семейной предрасположенности к преэклампсии [125, 130, 135, 187, 213], большинство клинических протоколов, посвященных этой патологии,

включая и отечественный [25], отмечает отягощенный по этой патологии семейный анамнез в качестве серьезного фактора риска, требующего конкретных профилактических мероприятий – назначение низких доз аспирина. В связи с этим вполне логичным представляется поиск особенностей генотипа индивидов склонных к возникновению не только преэклампсии, но и других плацентоассоциированных заболеваний. Молекулярно-генетическое тестирование было выполнено на достаточной по мощности выборке из 391 женщины. Из них 279 женщин составили основную группу 1.1 (пациентки имели верифицированные осложнения беременности, входящие в группу «больших акушерских синдромов»), а 112 женщин составили контрольную группу 1.2. Молекулярно-генетический анализ включал несколько генных сетей по мнению ряда авторов, контролирующих основополагающие процессы, обеспечивающие нормальное течение беременности [1, 16, 22, 23, 27, 69, 83, 96, 102, 107, 123, 129, 135, 153, 154, 161, 166, 175, 181, 182, 187, 194, 210, 216, 234, 236-239, 243, 259, 281]. Минимальные дефекты в указанных ниже генах в виде однонуклеотидных замен (полиморфные варианты) способны частично нарушить регулируемую функцию измененных генов, блокировать или существенно изменять продукцию факторов, необходимых для осуществления нормального гестационного процесса. В общей сложности исследовано 37 полиморфизмов в 35 генах: гены системы гемостаза (FGB, F2, F5, F7, F13, PLAT, PAI1, PROC, ITGA2, ITGB3, GPVI), гены фолатного цикла (MTHFR, MTHFD, MTR, MTRR, CBS, SLC19A1), гены «дисфункции эндотелия» (END1, NOS3), гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (CYP11B2, ACE, ADD1, AGT), гены цитокинов (IL1 β , TNF-a), гены системы детоксикации (GSTM, GSTP, GSTT), гены антиоксидантной системы (GPX1, MnSOD), гены рецепторов половых гормонов (ESR1, ESR2, PGR).

Поиск молекулярно-генетических предикторов «больших акушерских синдромов» предполагал подробное изучение полученного материала с

использованием общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной моделей генетического анализа. Понимая и разделяя несколько скептическое отношение к изучению отдельных полиморфизмов генов, мы тем не менее сочли необходимым провести данное исследование, рассматривая его в качестве предварительного этапа изучения сочетаний некоторых полиморфных вариантов.

Справедливости ради необходимо уточнить, что значимых отклонений по большинству генных сетей нами, как и рядом авторов ранее занимавшихся данной проблемой [154, 187, 210, 236, 272, 300], установлено не было. Однако и те скромные результаты, которых мы достигли, заслуживают обсуждения. В частности, при анализе полиморфных вариантов генов ассоциированных с регуляцией гемостаза, нами были усановлены различия по частоте встречаемости полиморфных генотипов лишь для двух генов – F13 и PLAT. Причем оказалось, что гетерозиготный вариант GA гена F13 значительно чаще встречался в контрольной группе - у 57 (50,9%) пациенток по сравнению с 80 (28,7%) в основной группе ($\chi^2=17,33$, $p<0,001$, ОШ 0,39, (ДИ 95% 0,24-0,61)), а мажорный гомозиготный вариант GG чаще регистрировался в основной группе – у 179 (64,2%) по сравнению с 49 (43,8%) в контрольной группе ($\chi^2=13,69$, $p<0,001$, ОШ 2,3, (ДИ 95% 1,47-3,6)). Неизбежно возникает предположение о протективном эффекте полиморфного варианта гена F13 в отношении разного рода и степени тяжести тромбофилических реакций и возможной их связи с невынашиванием беременности, на что уже ранее указывалось в ряде научных публикаций [173, 322]. Возможно, полиморфный генотип F13 G103A также имеет протективный эффект и в отношении «больших акушерских синдромов». По частоте встречаемости гомозиготного генотипа AA достоверных различий не выявлено – в основной группе он обнаружен у 20 (7,2%) пациенток, в контрольной – у 6 (5,2%) ($\chi^2=0,42$, $p=0,52$, ОШ 1,36, (ДИ 95% 0,53-3,49)). В гене PLAT (полиморфизм C7351T) полиморфный гомозиготный генотип TT, вопреки нашим ожиданиям, значительно чаще

встречался в контрольной группе, что отражает его возможный защитный эффект в плане развития «больших акушерских синдромов». В группе 1.1 такой вариант был у 29 (10,4%) пациенток, в группе 1.2 – у 25 (22,3%) ($\chi^2=9,55$, $p=0,002$, ОШ 0,4, (ДИ 95% 0,22-0,73)). Данный результат входит в противоречие с ранее опубликованными работами [23, 61, 102]. Известно, что гомозиготный полиморфизм ТТ сопряжен с мягким подавлением фибринолиза, чем можно объяснить его положительный эффект в плане более благополучного течения беременности. Такие же результаты продемонстрировал генетический анализ распространенности этих полиморфизмов в соответствии с мультипликативной, доминантной и рецессивной моделями, что дополнительно убеждает нас в правильности наших суждений.

Вопреки сложившемуся мнению о роли нарушений метаболизма фолиевой кислоты в генезе осложнений беременности [166, 258, 318, 348], нами не были получены значимые различия по большинству из изученных нами полиморфных вариантов генов, контролирующих фолатный цикл. Возможное объяснение этому факту мы видим в низкой пенетрантности полиморфизмов этой генной сети, патологический эффект которых реализуется лишь при сочетанном действии с полиморфными вариантами генов в других генных сетях. Единственное статистически значимое различие между пациентками исследуемых групп было установлено по частоте встречаемости полиморфного гомозиготного генотипа СС гена SLC19A1 – в группе 1.1 данный вариант был выявлен у 61 (21,9%) пациенток, а в группе 1.2 – у 13 (11,6%) ($\chi^2=5,48$, $p=0,02$, ОШ 2,13, (ДИ 95% 1,11-4,06)). Данный ген, ответственный за синтез транспортера фолатов, играет интегрирующую роль в обеспечении правильности и сбалансированности фолатного цикла, что в условиях его гомозиготной модификации не может обеспечить его полноценное функционирование, смещает и затрудняет метаболизм фолатов с клиническими выраженными последствиями. Выявленные нами особенности генов, регулирующих фолатный цикл, подтверждены и при

использовании других моделей генетического анализа.

Одним из важнейших патогенетических механизмов развития «больших акушерских синдромов», подтвержденных многочисленными исследованиями [139, 170, 329], является повреждение эндотелия сосудов, приводящее к нарушениям перфузии тканей на системном уровне, ишемии органов и систем, повышению проницаемости сосудистой стенки, патологическим изменениям водно-электролитного обмена и развитию полиорганной дисфункции. Попытки исследовать генетическую предрасположенность к формированию эндотелиальной дисфункции предпринимались и ранее, было показано значение некоторых генетических полиморфизмов участвующих в регуляции сосудистого тонуса, ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [1, 92, 162, 199]. Однако убедительных доказательств в отношении их роли в формировании «больших акушерских синдромов» получено не было. Следует признать, что и нам их получить не удалось. Единственным полиморфным вариантом генов показавшим статистически существенные различия между исследуемыми группами был ген CYP11B2 (полиморфизм G-344A), отвечающий за уровень фермента участвующего в метаболизме альдостерона – альдостеронсинтазы. Обнаружено, что в контрольной группе чаще встречается гетерозиготный генотип GA гена CYP11B2 (полиморфизм G-344A). В группе 1.1 он был выявлен у 110 (39,4%) пациенток, а в группе 1.2 – у 65 (58%) ($\chi^2=4,64$, $p=0,03$, ОШ 0,65 (ДИ 95% 1,11-4,06)). Этот факт дает основание предположить протективный эффект данного полиморфного варианта гена, присутствие которого, по-видимому, снижает эффективность синтеза альдостерона и тем самым предупреждает развитие характерной для гиперальдостеронизма гипокалиемии, гипернатриемии и задержки жидкости, то есть фенотипических проявлений характерных для преэклампсии.

Гестационная иммуномодуляция является необходимым условием нормального течения беременности. Любые факторы способные нарушить процесс нормального для беременности перехода иммунных реакций с Th1

(провоспалительного) ответа на Th2 (противовоспалительный) ответ неизбежно приведут к снижению глубины инвазии цитотрофобласта вследствие противодействия проникновению полуаллогенных объектов. Одной из возможных причин этих нарушений может быть генетическая предрасположенность. Данная гипотеза была нами проверена с помощью молекулярно-генетического тестирования. В результате проведенного исследования нами установлены существенные различия по полиморфизму IL1 β G+3953A: гомозиготный генотип GG в группе 1.1 был выявлен у 132 (47,3%) пациенток, а в группе 1.2 – у 78 (69,6%) ($\chi^2=16,03$, $p<0,001$, ОШ 0,39 (ДИ 95% 0,24-0,62)). При этом гетерозиготный генотип GA в основной группе был обнаружен у 121 (43,4%) пациенток, а в контрольной – у 30 (26,8%) ($\chi^2=9,27$, $p=0,002$, ОШ 2,09 (ДИ 95% 1,29-3,38)). Гомозиготный полиморфный генотип AA также в основной группе встречался чаще, чем в контрольной, соответственно у 26 (9,3%) и 4 (3,6%), но выявленные различия не достигли статистически значимых величин ($\chi^2=3,73$, $p=0,053$). Цитокин IL1 β является одним из ключевых медиаторов провоспалительного иммунного ответа, его продукция находится под генетическим контролем. Установленные нами полиморфные варианты гена IL1 β , преобладавшие в основной группе логично вписываются в концепцию нарушений иммуномодуляции при плацентоассоциированной патологии беременности.

Процесс образования эндогенных токсинов в результате жизнедеятельности и поступление их в организм из внешней среды – перманентный процесс сопровождающий любой живой организм в течение всей его жизни. Сложившаяся в процессе эволюции система противодействия интоксикации – система детоксикации, обеспечивает защиту от токсических повреждений и выживание любого живого организма. При беременности важность системы детоксикации возрастает кратно, так как появляется еще один источник поступления токсикантов – фетоплацентарный комплекс. Поэтому нагрузка на эту систему существенно возрастает. Процесс детоксикации подвержен генетическому контролю за счет нескольких генов,

участвующих в продукции различного рода ферментов разрушающих вещества, потенциально обладающие токсическими свойствами. При анализе частоты встречаемости полиморфных генотипов, имеющих отношение к этой сети, получены результаты не вписывающиеся в обычные представления о генетической регуляции процессов детоксикации. Оказалось, что «дикие» гомозиготные генотипы генов GSTM (N/del) и GSTP (C341T) чаще встречались в основной группе, то есть у пациенток, у которых беременность имела осложненное течение ($p < 0,001$). В контрольной же группе значительно чаще, чем в основной встречалась гомозиготная и гетерозиготная делеция в гене GSTM и гетерозиготный генотип СТ гена GSTP ($p < 0,01$). При использовании мультипликативной модели генетического анализа результаты были аналогичными. Мажорный аллель гена GSTM в основной группе выявлен в 92,5% случаев, а в контрольной – в 68,5%, а «нулевой» полиморфный аллель соответственно в 7,5% и 31,7% случаев ($\chi^2 = 75,53$, $p < 0,001$). При анализе полиморфизма GSTP C341T также установлено, что аллель С чаще встречался у пациенток с осложнениями беременности, а полиморфный аллель Т – у женщин, у которых беременность протекала без осложнений и благополучно завершилась ($\chi^2 = 4,25$, $p = 0,04$). «Нулевые» генотипы генов детоксикации и сниженная устойчивость организма к токсическим агентам увеличивают риск невынашивания беременности – это было показано на 4 этапе нашего исследования. При этом в случае прогрессирующей беременности наличие «нулевых» вариантов генов детоксикации увеличивает шансы на благоприятный исход беременности. Вероятно, это можно объяснить тем, что в случае снижения устойчивости организма к внешним токсикантам и воздействию неблагоприятного фактора в ранние сроки беременности, данная беременность прерывается – происходит самопроизвольный выкидыш или неразвивающаяся беременность. В случае же «нормальной» работы системы детоксикации, при воздействии токсикантов, выраженного повреждения эмбриона, приводящего к потере беременности не происходит, но в более поздние сроки влияние

неблагоприятного фактора все же проявляется и приводит к осложненному течению беременности.

Гормональная регуляция гестационного процесса носит всеобъемлющий характер, затрагивая все основные факторы, обеспечивающие нормальное течение беременности, включая подготовку эндометрия к имплантации бластоцисты, формирование иммунологической толерантности, стимуляцию продукции факторов роста и ангиогенеза, обеспечение энергетических потребностей и др. Изменения гормонального фона при беременности хорошо известны [2], в то же время недостаточно изученной остается система тканевого рецепторного аппарата, через который и реализуется действие гормонов. В еще меньшей степени изучены генетические сети, контролирующие рецепторный аппарат. Проведенные нами исследования показали, что статистически значимых различий в соответствии со всеми использованными нами моделями генетического анализа по частоте встречаемости полиморфных вариантов генов, регулирующих уровень рецепторов к стероидным половым гормонам между пациентками исследуемых групп не выявлено. По-видимому, количественные характеристики генных модификаций рецепторов данных гормонов не имеют существенного значения в генезе «больших акушерских синдромов».

Человеческий генотип представляет собой множество сочетаний различных полиморфных вариантов генов, относящихся к разным генным сетям и контролирующих разнообразные фенотипические проявления. Отдельные генетические полиморфизмы (мутации), конечно, могут иметь вполне отчетливые клинические эквиваленты (например, мутация Лейден), но в подавляющем большинстве случаев фенотипические проявления однонуклеотидных замен не столь очевидны. Это означает, что пенетрантность и экспрессивность полиморфных вариантов генов относительно невелика. В связи с этим представляется важным исследование сочетаний наиболее значимых полиморфных вариантов генов, относящихся к

одной и той же или разным генным сетям, которые могут проявлять как синергичный, так и антагонистичный эффекты.

Для более наглядной демонстрации ряд возможных вариантов сочетаний полиморфных генотипов был представлен в виде графических фигур. Например, сочетания полиморфных вариантов генов ангиотезинпревращающего фермента и ангиотензиногена. Сочетание гетерозиготного генотипа ACE Alu I/D ID и полиморфного гомозиготного генотипа AGT A704G GG преобладало в основной группе и было выявлено у 35 (12,5%) пациенток, а в контрольной лишь у 4 (3,6%) ($\chi^2=7,17$, $p=0,007$, ОШ=3,87, ДИ 1,34-11,16). При этом надо отметить, что при анализе данных генов по отдельности, достоверных различий между исследуемыми группами при использовании всех аналитических моделей (общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной) получено не было. Вероятно, по отдельности полиморфные варианты в этих генах незначительно изменяют функционирование ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, а вот при их сочетании, видимо, потенцируется неблагоприятный эффект, что приводит к существенному увеличению риска осложнений беременности.

Сочетание полиморфных генотипов гена, контролирующего синтез ангиотензиногена, и гена метионинсинтазы-редуктазы, регулирующего метаболизм фолиевой кислоты, значительно чаще регистрировалось в основной группе, чем в контрольной. Причем в зависимости от типа зиготности этих полиморфизмов проявлялся патологический или наоборот протективный эффект. Так, в группе 1.1 значительно чаще, чем в группе 1.2 встречалось сочетание полиморфного гомозиготного генотипа AGT A704G GG с гетерозиготным генотипом MTRR A66G AG, что отражает неблагоприятный эффект таких сочетаний. Напротив, сочетание генотипа AGT A704G AA с гетерозиготным генотипом MTRR A66G AG в группе 1.1, встречалось существенно реже – только у 3 (1,1%) пациенток по сравнению с 14 (12,5%) пациентками в группе 1.2 ($\chi^2=25,08$, $p<0,001$, ОШ=0,08, ДИ 0,02-0,27). Частота двух гетерозиготных генотипов также чаще выявлялась в

контрольной группе – у 20 (17,9%) участниц, по сравнению с 23 (8,2%) пациенток основной группы ($\chi^2=6,77$, $p=0,009$, ОШ=0,45, ДИ 0,23-0,86). Полагаем, что эффект полиморфного генотипа MTRR зависит от наличия или отсутствия полиморфных вариантов в других генах. Например, в сочетании с полиморфным гомозиготным генотипом в гене AGT он может повышать риск «больших акушерских синдромов», а в комбинации с «диким» или гетерозиготным генотипом может оказывать некий протективный эффект.

На наш взгляд, интерес представляет сочетание полиморфных вариантов генов регулирующих ангиотензин и контролирующих гемостаз. Так, в группе 1.1 существенно чаще встречалось сочетание «дикого» генотипа GG гена F7 и полиморфного гомозиготного генотипа AA гена AGT – соответственно 59 (21,1%) и 5 (4,5%) в основной и контрольной группах ($\chi^2=16,25$, $p<0,001$, ОШ=7,74, ДИ 2,23-14,71). В ряде работ [129] ранее было высказано предположение о возможном протективном эффекте полиморфного аллеля А в гене F7 в отношении тромбофилии и осложненного течения беременности, и, соответственно, об увеличении риска у носителей генотипа GG. В нашем исследовании при анализе отдельных генов и при использовании общей, мультипликативной, доминантной и рецессивной моделей мы таких данных не выявили. Тем не менее, в комбинации с другими генами этот эффект может быть более заметен – как, например, в сочетании с гомозиготным полиморфизмом AGT A704G.

Отдельные полиморфные варианты генов, контролирующих конкретные факторы системы гемостаза и ее составляющих в нашей работе в большинстве случаев не продемонстрировали статистически существенных различий между исследуемыми группами. В то же время анализ сочетания полиморфных генотипов коагуляционных факторов F13 и F7 показал статистически значимые различия между пациентками исследуемых групп. В основной группе существенно чаще, чем в контрольной выявлялось сочетание мажорных гомозиготных генотипов генов F7 и F13: у 109 (39,1%) пациенток группы 1.1 и только у 11 (9,8%)

пациенток группы 1.2 ($\chi^2=32,14$, $p<0,001$, ОШ=5,89, ДИ 3,02-11,47). Можно сделать заключение, что наличие хотя бы 1 полиморфного аллеля в одном из этих генов снижает риск акушерских осложнений. О протективном эффекте полиморфных вариантов этих генов в отношении тромбофилии и осложнений беременности ранее упоминалось в научной литературе [129, 173, 236, 322]. Выше нами были описаны статистически значимые различия по частоте встречаемости гомозиготного генотипа GG в гене F13 (он чаще встречался в основной группе) при использовании общей модели и полиморфных генотипов GA+AA при использовании доминантной модели (они чаще встречались в контрольной группе).

Еще одной парой полиморфных генотипов, контролирующих систему гемостаза стали гены F7 и ITGA2. В основной группе чаще встречалось сочетание генотипов F7 G10976A GG и ITGA2 C807T CC – у 70 (25,1%) пациенток по сравнению с 4 (3,6%) в группе 1.2 ($\chi^2=24,12$, $p<0,001$, ОШ=9,04, ДИ 3,22-25,4). Генотип CC в 677 положении гена MTHFR в сочетании с генотипом GG в 10976 позиции гена F7 также чаще регистрировался в основной группе ($\chi^2=28,9$, $p<0,001$, ОШ=6,1, ДИ 2,96-12,59). В группе 1.1 носительницами данной комбинации были 97 (34,8%) пациенток, а в группе 1.2 – только 9 (8%) пациенток. Это наглядно иллюстрирует тот факт, что ряд полиморфизмов в определенных комбинациях обладает протективным эффектом, а отсутствие полиморфных вариантов не всегда свидетельствует о низком риске патологии.

У пациенток с осложненным течением беременности чаще встречалось сочетание гетерозиготных генотипов GA CYP11B2 G-344A и GA IL1 β G+3953A. В основной группе такая комбинация была у 56 (20,1%) пациенток, а в контрольной – у 4 (3,6%) ($\chi^2=16,74$, $p<0,001$, ОШ=6,78, ДИ 2,39-12,92). При этом сам по себе гетерозиготный генотип GA в гене CYP11B2 чаще встречался в контрольной группе. Это еще раз подтверждает мысль, что само по себе отсутствие или наличие определенных полиморфизмов в генотипе пациентки не дает оснований для выводов о повышенном риске ряда

состояний – один и тот же генетический вариант в зависимости от межгенных взаимодействий может проявлять себя совершенно по-разному. Более обоснован подход, основанный на анализе именно сочетаний и комбинаций полиморфных аллелей в нескольких генах, хотя такой анализ намного сложнее.

При анализе сочетаний генотипов генов PAI1 (полиморфизм -657 5G/4G) и IL1 β (полиморфизм G+3953A) расхождение между исследуемыми группами выявлено по частоте встречаемости двух комбинаций. В основной группе значительно чаще встречалась комбинация гетерозиготного генотипа 5G4G в гене PAI1 с полиморфным гомозиготным генотипом AA в гене IL1 β , а также комбинация полиморфных гомозиготных генотипов обоих генов. Эти комбинации в основной группе встречались соответственно у 53 (19%) пациенток и 38 (13,6%) пациенток. В контрольной группе первый вариант сочетаний был диагностирован только у 5 (4,5%) пациенток, а второй – только у 2 (1,8%). Различия статистически значимы. В гене PAI1 гетерозиготный вариант выявлялся даже чаще, чем гомозигота 5G5G, что позволяет считать его вариантом нормы. Однако при неблагоприятной комбинации даже такой частый полиморфный вариант может играть определенную роль в развитии осложнений беременности. Например, в данном случае можно предположить, что незначительное снижение фибринолиза, к которому может приводить полиморфизм PAI1 -657 5G/4G, не оказывает значимого влияния на течение беременности, однако в сочетании с усилением воспалительных реакций, обусловленных полиморфизмом IL1 β G+3953A, местные иммунные реакции и функционирование системы гемостаза искажаются более значительно, что может проявляться клинически.

Таким образом, нами было показано, что при построении относительно простых двухлокусных моделей сочетаний полиморфных генотипов, между исследуемыми группами выявлены существенные различия. Если же в модель прогнозирования включать большее количество локусов, межгенные

взаимодействия могут быть еще более значительны, а модель прогнозирования более достоверна. Результаты наших исследований показали, что анализ отдельных полиморфных вариантов в генах, косвенно ассоциированных с осложнениями беременности, целесообразен только при наличии вполне известных фенотипических проявлений и только в таком случае он может влиять на тактику ведения беременности. Если использовать молекулярно-генетические исследования для прогнозирования риска акушерской патологии в практике, требуются мультилокусные модели, учитывающие множественные межгенные сочетания, а также средовые воздействия. Кроме того, более эффективным нам представляется анализ генов из различных генных сетей.

Совершенно очевидно, что анализ больших баз данных, характерных для генетических исследований и показанных нами на конкретных примерах, немислим без использования компьютеризированного подхода. В связи с этим нами была разработана и официально зарегистрирована компьютерная программа для анализа генетической информации «GOS RISK». Программа обеспечивает ввод и анализ совокупности генотипов, ассоциированных с повышенным риском осложнений беременности. В результате анализа введенных данных программа по заданному алгоритму формирует оценку риска осложнений беременности «повышенный»/«общепопуляционный». Программа снабжена наглядным дружественным интерфейсом, обеспечивающим реализацию ее функций. Для того, чтобы оценить риск осложненного течения гестации с помощью программы «GOS RISK» необходимо выполнить молекулярно-генетическое тестирование, для определения наличия полиморфизмов в генах TNF-a, PAI1, PLAT, MTR, MTRR, MTHFR (C677T), MTHFD, IL1b (2 полиморфизма), GSTT, GSTM, GPVI, ITGA2 (GPIa), ITGB3 (GPIIb), ACE, AGT, CYP11b2, END1, ESR2, F7, F13. Далее полученные генотипы нужно ввести в программу и нажать клавишу «Оценить». После этого в строке внизу диалогового окна появится определенный уровень риска осложнений беременности – «повышенный»,

либо «общепопуляционный».

Чувствительность и специфичность классифицирующей модели была оценена при помощи ROC-анализа. По результатам построения ROC-кривой показатель AUC (Area under ROC curve — площадь под ROC-кривой, с англ.) составил $0,836 \pm 0,024$, ДИ 95% 0,8-0,912 при $p=0,000$, что соответствовало высокому качеству модели для прогнозирования риска «Больших акушерских синдромов». Чувствительность и специфичность, рассчитанные на экзаменационной выборке методом скользящего экзамена, составили соответственно 70,8% и 78,8%, эффективность способа 74,8%.

Резюмируя первый этап выполненной работы, считаем нужным обозначить, что установленные нами факты высоко достоверных различий между пациентками, имевшими верифицированные клинические проявления «больших акушерских синдромов», и пациентками с нормальным течением беременности по распространенности полиморфных генотипов в нескольких генных сетях не оставляют сомнений в генетической детерминированности данной патологии. Очевидно также то, что единичные однонуклеотидные замены не оказывают решающего влияния на формирование тяжелых форм осложнений беременности, однако сочетание нескольких, даже на первый взгляд, малозначимых полиморфных вариантов генов, с высокой степенью статистической значимости ассоциировано с «большими акушерскими синдромами». Причем, имеет значение сочетание полиморфных генотипов, не только входящих в одну генетическую сеть, но и относящихся к разным генным сетям. Как и ожидалось, важное значение имеет также характер зиготности выявленных полиморфных генотипов: гомозиготные варианты, как правило, приводили к более тяжелым клиническим последствиям. Данное наблюдение в полной мере согласуется с выводами ряда авторов, занимавшихся данной проблемой [5, 6, 16, 27, 89, 102, 107, 129, 216, 275, 282, 299]. Результаты нашего исследования приводят к еще одному важному заключению: полиморфные генотипы далеко не всегда приводят к неблагоприятным патологическим последствиям, более того так называемые

«дикие» генотипы могут быть ассоциированы с повышенным риском тяжелых осложнений беременности, а полиморфные генотипы сопряжены с протективным эффектом, защищают от их возникновения и развития. Конкретные патогенетические механизмы, приводящие к развитию патологических процессов требуют дальнейшего изучения и не входили в задачи нашей работы.

Разработанная нами компьютерная программа «GOS RISK» для идентификации риска развития «больших акушерских синдромов», основанная на анализе и определении значимости тех или иных генетических девиаций продемонстрировала высокую чувствительность, специфичность и эффективность, хорошую пригодность к использованию в клинической практике.

Следующий, второй этап нашей работы касался изучения возможностей использования современного, получившего широкое внедрение в клиническую практику, особенно за рубежом, метода детекции наиболее значимых анеуплоидий плода, основанного на сепарации и анализе свободной ДНК (free DNA) плода из сыворотки крови матери [12, 35, 113, 121, 138, 142, 268, 269, 270, 310]. В научной литературе имеются многочисленные сообщения о попытках использования новой информации не только по прямому назначению, но и с целью прогнозирования осложнений гестационного процесса [62, 95, 271]. На наш взгляд, с точки зрения прогнозирования возможных осложнений беременности, особый интерес представляет использование информации полученной как в результате принятого в настоящее время комбинированного скрининга 1 триместра, так и неинвазивного пренатального теста, основанного на выделении свободной ДНК плода.

На основании результатов тестов НИПС, которые были выполнены у 27845 пациенток в России в период с 1.01.2013г. по 31.12.2018г. нами было проведено популяционное изучение возможностей использования полученной информации с целью выявления наиболее значимых

анеуплоидий у плода и прогнозирования «больших акушерских синдромов». При использовании различных вариантов НИПС в России в 2013-2018 году было выявлено 742 пациентки с высоким риском хромосомных аномалий у плода (2,66% среди всех обследованных пациенток). При этом частота анеуплоидий не превышает в российской популяции 0,2% [3]. Приведенная выше цифра хромосомных аномалий, существенно превышающая популяционный показатель, объясняется особенностями применения НИПС, так как на исследование в большинстве случаев направлялись пациентки, у которых уже был выявлен высокий риск по результатам стандартного комплекса пренатальной диагностики 1 триместра, либо пациентки, у которых риск изначально оценивался как высокий, например, из-за возраста или рождения детей с хромосомными аномалиями в анамнезе. Это важный аспект нашего исследования, оказывающий определенное влияние на прогностические характеристики НИПС в отношении «больших акушерских синдромов».

В целом структура выявленных с помощью НИПС хромосомных анеуплоидий соответствует популяционной структуре. Безусловный интерес представляет сравнительный анализ частоты ложно-отрицательных и ложно-положительных результатов при исследовании free-DNA плода и стандартным комплексом пренатальной диагностики. Оказалось, что частота ложно-отрицательных результатов в общей сложности составила 0,022% среди известных исходов беременности или 0,014% среди всех проведенных тестов. Частота ложно-положительных результатов составила 0,066%. При проведении комбинированного скрининга, согласно данным Аудита-2018 [3] в г. Москва частота ложно-отрицательных результатов составила 0,025%, ложно-положительных результатов составила 3,5%, в Свердловской области эти показатели были соответственно 0,02% и 2,48% [3]. Существенных различий по числу ложно-отрицательных результатов между НИПС и стандартным комплексом пренатальной диагностики не было, что, наверное, не столь драматично. Намного большую проблему представляют ложно-

положительные результаты, которые могут стать поводом для радикальных и при этом ошибочных решений. В этом смысле есть неоспоримое преимущество НИПС, так как число ложно-положительных результатов при выполнении данного теста было с высокой степенью достоверности ниже, чем при комбинированном пренатальном скрининге ($p < 0,001$).

Одной из возможных причин ложно-отрицательных результатов НИПС, на наш взгляд, может рассматриваться и раннее формирование плацентаассоциированных осложнений беременности сопряженных с нарушениями развития раннего хориона и плаценты, что может быть связано с ограниченным поступлением биологического материала плода, содержащего участки хромосом, в кровотоки матери. Речь о том, что одним из важных прогностических критериев, как вероятных хромосомных аномалий у плода, так и развития «больших акушерских синдромов», считается величина фетальной фракции [62, 95, 271], которая является долей генетического материала, имеющего плодовое происхождение, в общем объеме, анализируемого при молекулярно-генетическом исследовании биологического объекта. В нашем исследовании у 1322 пациенток (4,7%) не удалось получить результат НИПС при первичном исследовании, что чаще всего было связано с низкой фетальной фракцией, либо низким качеством ДНК. И в том, и в другом случае причины, вероятно, крылись в рано формирующейся патологии хориона и плаценты. Согласно данным ряда исследователей повторный анализ требуется в 3-6% случаев НИПС [87, 113, 270, 277, 295]. При этом необходимость проведения повторных исследований повышает как вероятность выявления хромосомных анеуплоидий, так и формирования осложнений в течение беременности.

Известно, что одной из возможных причин низкого уровня фетальной фракции и, соответственно, неудачного анализа НИПС, является избыточная масса тела пациентки [87, 295, 347]. С одной стороны это объясняется снижением относительной концентрации биологического материала плодового происхождения, поступившего в кровотоки матери, а с другой

стороны избыточная масса тела беременных сама по себе является общепризнанным фактором риска «больших акушерских синдромов», например, преэклампсии. По нашим данным, действительно у беременных с низкой фетальной фракцией при проведении НИПС значительно чаще наблюдалось ожирение, по сравнению с беременными с удовлетворительными показателями фетальной фракции.

Третий этап нашей работы состоял в изучении возможностей различных вариантов пренатального скрининга в off-lable режиме для прогнозирования «больших акушерских синдромов».

Более высокую специфичность и чувствительность НИПС по сравнению с комбинированным пренатальным скринингом демонстрируют полученные нами данные. У большинства пациенток, которым с помощью НИПС был определен высокий риск ХА, КПД 1 триместра также выявил высокий риск анеуплоидий (у 88,23%). При этом среди 108 пациенток из нашего исследования, которым был определен низкий риск по КПД, у 3 (2,78%) в дальнейшем с помощью НИПС были выявлены ХА, которые были подтверждены с помощью ИПД.

Предварительное исследование корреляционных зависимостей установило, что существует статистически значимая взаимосвязь между уровнем фетальной фракции и возрастом беременной (чем старше женщина, тем ФФ ниже), весом и ИМТ пациентки, количеством беременностей в анамнезе, а также уровнем β -ХГЧ (в МоМ). Интересно, что между уровнем ФФ и сроком беременности статистически значимая взаимосвязь отсутствует. Также не было взаимосвязи между ФФ и количеством родов в анамнезе, уровнем PAPP-A и PI в маточной артерии.

Сравнительный анализ между подгруппами 3.2А (N=203) – пациентки с физиологическим течением беременности и рождением живого доношенного ребенка и 3.2Б (N=51) – пациентки, у которых беременность осложнилась одним из состояний, относящихся к группе «больших акушерских синдромов» по уровню фетальной фракции, определенному при проведении

НИПС, а также по биохимическим и ультразвуковым показателям КПД 1 триместра, показал наличие существенных различий. Так, нами выявлено, что уровень PAPP-A в подгруппе 3.2Б был ниже, как в абсолютных единицах, так и в МоМ ($p < 0,01$). Этот показатель кроме того коррелировал с массой тела новорожденного.

Осложнения беременности, относящиеся к группе «больших акушерских синдромов», уже в 1 триместре проявляются изменениями ряда показателей пренатального скрининга. При проведении стандартного комплекса пренатальной диагностики наиболее значимые различия выявлены по уровню PAPP-A (МоМ). При проведении НИПС у пациенток с осложненным течением беременности отмечается более низкий уровень ФФ, а само исследование чаще оказывается не результативным.

Таким образом, при проведении комплекса пренатальной диагностики 1 триместра показатель PAPP-A можно использовать не только для оценки риска ХА у плода, но и включать этот параметр в прогностические модели для оценки риска осложнений беременности. По уровню β -ХГЧ значимых различий между исследуемыми группами не выявлено. При оценке УЗИ-маркеров ХА мы также не выявили значимых расхождений у пациенток и нормальным и осложненным течением беременности при нормальном кариотипе плода.

Известно, что наличие невынашивания беременности в анамнезе, а в особенности привычной потери беременности, повышает в дальнейшем риск акушерских осложнений [64, 200, 280]. Первый этап нашего исследования показал, что повторяющиеся случаи невынашивания беременности – это фактор риска осложненной гестации в будущем. На 4 этапе нашего исследования мы проанализировали результаты хромосомного микроматричного анализа абортивного материала, полученного методом вакуум-аспирации у пациенток с диагностированной в сроке беременности 6-12 недель (по результатам измерения КТР с помощью УЗИ) неразвивающейся беременностью.

По нашим данным наиболее часто встречались трисомии аутосом (не половых хромосом) – они были обнаружены в 351 образце (60,5% среди всех ХА), причем в 346 (59,7%) случаях были выявлены трисомии, и лишь в 5 (0,9%) случаях моносомии. Второй по значимости геномной проблемой при невынашивании беременности по нашим данным были анеуплоидии половых хромосом. При этом при потерях беременности в ранние сроки в абортивном материале нередко диагностируются аутосомные трисомии, совместимые с живорождением.

Одним из важных итогов нашей работы мы считаем результаты сравнительного анализа ХМА и цитогенетического кариотипирования. На наш взгляд ХМА имеет очевидные организационные и технологические преимущества по сравнению с цитогенетическим исследованием, которые состоят в возможности отсроченного выполнения теста, транспортировки биологического материала, возможности выявления микроструктурных хромосомных аномалий, отсутствие необходимости культивирования клеток и, следовательно, исключение фактора неудач при данном процессе, возможность использования для анализа мертвых тканей, исключение вероятности полиплоидизации фибробластов плацентарной ткани и снижение вероятности ложноположительных результатов. С этих позиций ХМА может быть рекомендован для использования в клинической практике при выявлении причин потери беременности.

Обсуждая представленные в данном разделе работы результаты необходимо отметить, что геномные мутации у эмбриона являются наиболее значимой причиной потери беременности независимо от того, носит ли эта патология спорадический или привычный характер. Хромосомные аномалии обнаруживаются более чем в половине образцов при анализе продуктов зачатия после неразвивающейся беременности. Структура выявленных ХА может иметь некоторые различия в зависимости от метода исследования, что напрямую связано с особенностями методики. Но в любом случае к невынашиванию беременности в ранние сроки приводят достаточно грубые

нарушения хромосомного аппарата. Полиморфные варианты генотипа, по-видимому, не играют фатальной роли при невынашивании беременности. Несмотря на то, что нами выявлен ряд полиморфизмов генов в разных генных сетях, имеющих статистически значимые различия представительства в исследуемых группах, их патогенетическое значение при невынашивании беременности остается неопределенным по нескольким причинам. Во-первых, фенотипические проявления указанных полиморфизмов не столь очевидны (например, ITGB3 T176C - гена гликопротеина тромбоцитарных рецепторов) при невынашивании беременности. Во-вторых, эти полиморфные варианты генотипов контролируют относительно малозначимые этапы метаболизма (например, SLC19A1 T80C, участвующий в метаболизме фолиевой кислоты) неспособные оказать радикальное влияние на конечные результаты. В-третьих, присутствие некоторых полиморфных вариантов генов, по-видимому, оказывает протективный эффект. Поэтому целесообразность исследования полиморфных вариантов генов различных генных сетей представляется сомнительной, так как для большинства полиморфизмов достоверных различий между исследуемыми группами не выявлено.

Наше исследование по понятным причинам носит прикладной характер, это означает, что разработка патогенетических основ той или иной патологии должна иметь выход в виде практических рекомендаций. Очевидно, что научные исследования, посвященные изучению патологических процессов, интересны не только сами по себе, но и теми последствиями для клинической практики, которые они влекут, теми важными с клинической точки зрения данными, которые потенциально могут привести к созданию новых прогностических моделей, тактических алгоритмов и методов лечения. Результаты наших исследований показали значение в генезе «больших акушерских синдромов» ряда анамнестических, лабораторных, инструментальных и молекулярно-генетических показателей, которые теоретически можно использовать в целях совершенствования клинических

подходов к оказанию помощи беременным.

Логическим следствием изучения патогенетических основ формирования «больших акушерских синдромов» стала разработка их прогностических моделей. При этом, учитывая гетерогенность клинических проявлений данной патологии, целесообразно создание прогностических моделей в отношении отдельных нозологий, входящих в группу «больших акушерских синдромов», что в дальнейшем может стать основой дифференцированного подхода к профилактике, акушерской тактике и лечению пациенток. Немаловажным представляется и еще один аспект выполненной работы: прогностические модели, относящиеся к различным вариантам «больших акушерских синдромов», позволят обосновать прогноз формирования не только этих осложнений, но установить некоторые ключевые патогенетические механизмы их возникновения.

Разработанные нами прогностические модели и правила прогноза «больших акушерских синдромов» и их составляющих основаны на анамнестических данных, лабораторных общеклинических и биохимических исследованиях крови беременных женщин, анализе коагулограммы в 1-2 триместре беременности, результатов молекулярно-генетического анализа полиморфизмов генов ассоциированных с осложнениями беременности с последующим подсчетом прогностического индекса. Важным преимуществом этих прогностических моделей является малая инвазивность необходимых исследований для осуществления прогноза и использование ряда показателей, которые в рутинном порядке анализируются у всех беременных женщин и, следовательно, делает их привлекательными с экономической точки зрения. Отличительной особенностью разработанных нами прогностических моделей стала их многоуровневость: правило прогноза само по себе включает еще и компьютерную оценку риска осложненного течения беременности вычисленную в компьютерной программе “GOS RISK”, данный параметр также был включен в число переменных, анализируемых с целью разработки правила прогноза.

В результате пошагового дискриминантного анализа были выделены информативные признаки, обладающие разделяющей силой между нормально протекающей беременностью, либо беременностью, сопровождающейся каким-либо осложнением из группы «больших акушерских синдромов». Первоначально мы разработали общее правило для расчета риска осложнений беременности, далее для каждой подгруппы основной группы анализ проводился отдельно.

При обсуждении результатов нашей работы мы посчитали нецелесообразным повторно демонстрировать и характеризовать все прогностические модели разработанные нами в ходе исследования: их подробная характеристика представлена в соответствующем разделе диссертации. На наш взгляд, вполне достаточно подчеркнуть научную новизну правил прогноза, а ранее подобные прогностические модели не были опубликованы в доступной нам научной литературе, обратить внимание на их практическую значимость и оценить эффективность разработанных нами прогностических моделей.

Многочисленные попытки построения различных прогностических алгоритмов в отношении возникновения осложнений в течение беременности хорошо известны и поддерживаются различными протоколами лечения во многих странах мира [38, 98, 284]. Эти рекомендации хорошо продуманы, основываются на принципах доказательной медицины, ряде научных исследований, мета-анализах и систематических обзорах. Однако, содержащиеся в них предложения (например, рекомендация определять плацентарный фактор роста или измерять индекс резистентности маточных сосудов в первом триместре) не носят абсолютного характера, их предсказательная ценность относительно невелика. Применение этих прогностических критериев направлено преимущественно на обоснование тех или иных профилактических мероприятий (например, назначение аспирина), обоснование использования дополнительных диагностических процедур. Поэтому разработанные нами правила прогноза в отношении как в

целом «больших акушерских синдромов», так и в отношении его отдельных составляющих, основанные на результатах рутинных исследований, представляют практический интерес.

При этом специфичность, чувствительность и эффективность этих прогностических моделей достаточно высоки, что дает основание для предложения использовать их в клинической практике. Некоторым исключением из этого ряда является правило прогноза, касающееся антенатальной гибели плода, показавшее низкую специфичность и чувствительность. Включение генетических полиморфизмов в прогностическую модель не привело к повышению точности прогноза. Данный факт, на наш взгляд, отражает крайнюю сложность прогнозирования «случайной» антенатальной гибели плода при беременности, протекающей без осложнений, так как столь неблагоприятный перинатальный исход ассоциирован не только и не столько с «большими акушерскими синдромами», сколько с огромным множеством разнородных факторов, включая социальный статус беременной, наличие вредных зависимостей (табакокурение, алкоголизм, наркомания), вирусные инфекции, перенесенные при беременности, травмы как физические, так и психические.

Отдельного обсуждения заслуживают прогностические правила, касающиеся различных нозологических форм, входящих в семейство «больших акушерских синдромов». Необходимо еще раз подчеркнуть, что в исследование были включены пациентки с клинически верифицированными тяжелыми осложнениями беременности: тяжелая преэклампсия, плацентарная недостаточность со ЗВУР 2-3 степени, сверххранние и ранние преждевременные роды, антенатальная гибель плода. Поэтому правила прогноза затрагивают не просто все возможные осложнения беременности, а их наиболее тяжелые, жизнеугрожающие формы, а значит наиболее значимые состояния с точки зрения репродуктивных потерь. Еще одним немаловажным аспектом сформированных нами правил прогноза является то, что в них вошли показатели, отражающие функциональное состояние

определенных органов и систем, которые, вероятно, принимают участие в патогенезе «больших акушерских синдромов» и этот факт нашел подтверждение в результате сложных математических расчетов. Методологической особенностью разработанных нами прогностических моделей является использование в них результатов современных молекулярно-генетических исследований, которые с одной стороны значительно повышают их эффективность, а с другой стороны еще раз подтверждают роль генетических факторов в патофизиологических механизмах их формирования. Могут возникнуть возражения против использования в прогностических алгоритмах результатов молекулярно-генетических исследований на основании их дороговизны, ограниченной доступности. Действительно, на сегодняшний день эти исследования экономически довольно обременительны и не всегда организационно доступны, но со временем, на фоне бурного развития медицинских услуг стоимость молекулярно-генетических исследований будет неуклонно снижаться, оборудование для их выполнения появляется во многих лабораториях, что делает их более доступными. Поэтому включение молекулярно-генетических исследований в правила прогноза «больших акушерских синдромов» мы считаем обоснованным, целесообразным и перспективным.

На основании разработанных правил прогноза нами были созданы алгоритмы ведения пациенток, имеющих факторы риска «больших акушерских синдромов». На наш взгляд, при всей внешней громоздкости данные алгоритмы существенно упрощают процесс ведения беременных, прогнозирования у них данных осложнений и использования профилактических мер. Процесс применения данных алгоритмов станет еще проще, если они будут интегрированы в мобильное приложение для смартфонов и других гаджетов.

Таким образом, «большие акушерские синдромы» представляются генетически детерминированной патологией связанной как с хромосомными

количественными и структурными абберациями, так и с однонуклеотидными заменами, то есть полиморфными генотипами. Уточнение роли тех или иных генетических девиаций позволяет рассчитывать на создание с одной стороны высокоэффективных прогностических моделей, а с другой стороны на разработку таргетных профилактических мероприятий способных предотвратить развитие этих грозных осложнений беременности, определяющих репродуктивные потери и снизить их уровень. Мы полагаем, что выполненное нами диссертационное исследование внесло скромный вклад в решение данной проблемы.

ВЫВОДЫ

1. Общими анамнестическими факторами риска «больших акушерских синдромов» являются: наследственность, отягощенная по сердечно-сосудистой патологии, наличие искусственных абортов в анамнезе, повторяющиеся случаи невынашивания беременности в анамнезе. У пациенток с осложненным течением беременности ниже рост (162,55(6,55) см по сравнению с 166,3(5,37) см у пациенток контрольной группы, $p < 0,01$), они чаще имеют ожирение (19% по сравнению с 7,1%, $p < 0,01$), соматическую патологию (анемия, болезни, сопровождающиеся повышенным артериальным давлением, заболевания мочеполовой системы). Беременные с высоким риском «больших акушерских синдромов» имеют ряд особенностей: снижение уровня гемоглобина, более низкий уровень АЧТВ, более высокий уровень креатинина, более низкая СОЭ.

2. «Большие акушерские синдромы» – это патология беременности с очевидной генетической предрасположенностью. Полиморфные варианты генов могут играть как роль триггеров заболевания, так и оказывать протективный эффект: среди пациенток с осложненным течением гестации чаще встречаются варианты F13 G103A GG, SLC19A1 T80C CC, IL1 β G+3953A GA, GSTM +/+, GSTP C341T CC, а у пациенток с благоприятными исходами беременности – варианты F13 G103A GA, PLAT C-7351T TT, CYP11B2 G-344A GA, IL1 β G+3953A GG, GSTM +/-del и del/del, GSTP C341T CT. В генезе осложнений беременности большее, чем отдельные полиморфные генотипы, имеет значение сочетание различных генетических вариантов. Компьютерная прогностическая программа “GOS RISK” со специфичностью 78,8% и чувствительностью 70,8% определяет уровень риска осложненного течения беременности с учетом межгенных взаимодействий.

3. НИПС является высокоэффективным скрининговым методом для оценки риска хромосомных анеуплоидий у плода, и может использоваться в

качестве теста первой или второй линии. При неинформативном НИПС в 80,1% случаев повторный анализ будет результативным. Неинформативный НИПС (вследствие низкого уровня фетальной фракции) свидетельствует о повышенном риске хромосомных аномалий у плода, в особенности синдрома Эдвардса. При втором нерезультативном НИПС шансы на получение результата при следующем анализе снижаются, а риск наличия хромосомных аномалий у плода повышается.

4. Низкий уровень фетальной фракции при НИПС ассоциирован с повышенным риском осложненного течения беременности. У пациенток подгрупп 3.2А и 3.2Б (с физиологическим и осложненным течением гестации) этот показатель составил соответственно 9,2(6,8-12,6)% и 7,55(5,17-11)% ($p=0,02$). Имеется положительная корреляция между уровнем фетальной фракции и уровнем β -ХГЧ в 11-13,6 недель беременности и отрицательная корреляция между уровнем фетальной фракции и возрастом пациентки, ее массой тела, ИМТ и количеством беременностей в анамнезе.

5. Среди показателей комплекса пренатальной диагностики 1 триместра для оценки риска осложнений беременности наибольшую ценность представляет показатель PAPP-A, МоМ (у пациенток групп 1.1 и 1.2 он составил 0,848 (0,581-1,22) МоМ и 1,13 (0,795-1,6) МоМ, $p<0,01$). Особенно значительно снижение PAPP-A при высоком риске преэклампсии и ЗВУР 2-3 степени (соответственно 0,794(0,577-1,07) МоМ и 0,641(0,51-1,35) МоМ).

6. Одной из ведущих причин невынашивания беременности, как спорадического, так и привычного, являются геномные aberrации (хромосомные аномалии) эмбриона/плода. Значимую роль играют полиморфные варианты в генах, ответственных за внешний путь свертывания крови и состояние эндотелия (ITGA2, ITGB3, GPVI, NOS3), в гене транспортера фолатов (SLC19A1), генах PAAC (CYP11B2 и ADD1), гене интерлейкина-1 ($IL1\beta$), генах детоксикации и антиоксидантной защиты (GSTM, GSTT, GPX1).

7. Предложенные прогностические модели оценки риска «больших

акушерских синдромов» эффективны в прогнозировании осложнений беременности уже в 1 триместре беременности. Использование молекулярно-генетических исследований повышает эффективность прогностических индексов, в частности, чувствительность и специфичность индекса PI_1 составили 83,5% и 89,3% соответственно, индекса $PI_{ПЭ1}$ – 92,2% и 93,8%.

8. Алгоритмы ведения беременности базирующиеся на разработанных нами прогностических моделях «больших акушерских синдромов» являются основой персонализированного прогнозирования, выбора оптимальных тактических решений и проведения профилактических мероприятий.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Артифициальные аборты повышают общий риск осложненного течения последующих беременностей и, особенно, риск преждевременных родов, о чем необходимо информировать пациенток во время профилактических гинекологических осмотров.

2. На этапе прегравидарной подготовки целесообразно предложить пациентке молекулярно-генетическое исследование для определения наличия полиморфизмов генов TNF-a, PAI1, PLAT, MTR, MTRR, MTHFR (C677T), MTHFD, IL1b (2 полиморфизма), GSTT, GSTM, GPVI, ITGA2, ITGB3, ACE, AGT, CYP11b2, END1, ESR2, FVII, FXIII, и далее провести компьютерный анализ риска осложнений беременности с помощью программы “GOS RISK”;

3. В 1 триместре беременности после клиничко-лабораторного обследования и комплекса пренатальной диагностики необходимо оценить риск «больших акушерских синдромов» и помощью индекса PI или PI₁ (в зависимости от объема проведенных исследований). При определении общего высокого риска, провести оценку риска конкретных осложнений гестации – преэклампсии, ЗВУР 2-3 степени, преждевременных родов, антенатальной гибели плода;

4. Для улучшения перинатальных исходов необходимо использовать предложенный алгоритм ведения беременности, включающий в себя поэтапный расчет прогностических индексов и ряд профилактических мероприятий, которые следует провести при высоком риске определенных «больших акушерских синдромов»;

5. В алгоритм пренатальной диагностики необходимо включить НИПС в качестве теста 2 линии. Целесообразно рекомендовать НИПС пациенткам с высоким риском хромосомных анеуплоидий ($\geq 1:100$) и при отсутствии УЗИ-маркеров хромосомных аномалий, или пациенткам с уровнем риска 1:101-1:1000. Кроме того, целесообразно выполнение НИПС у

пациенток, которым в связи с поздней постановкой на учет не был проведен КВД 1 триместра;

6. В случае, если НИПС оказывается не информативным, пациентке рекомендуется повторно сдать биологический материал для проведения НИПС. Если же и второе исследование оказывается не информативным, предпочтительным является проведение инвазивной пренатальной диагностики, поскольку повторный неинформативный НИПС существенно повышает риск наличия хромосомных анеуплоидий у плода;

7. В связи с высокой вероятностью наличия хромосомных aberrаций у эмбриона при неразвивающейся беременности в 1 триместре абортивный материал следует подвергнуть генетическому исследованию. В наибольшей степени этой цели отвечает ХМА. В дальнейшем, обследование на этапе прекоцепционной подготовки следует скорректировать в зависимости от результатов генетического исследования и согласно предложенному нами алгоритму.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертензия
АГП – антенатальная гибель плода
АД – артериальное давление
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АПФ – ангиотензин-превращающий фермент
АСК – ацетилсалициловая кислота
АСТ – аспаратаминотрансфераза
АФП – альфа-фетопротеин
АФС – антифосфолипидный синдром
АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время
ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза
ВИЧ – вирус иммунодефицита человека
ВП – венозный проток
ВПр – врожденные пороки развития
ВРТ – вспомогательные репродуктивные технологии
ВТЭО – венозные тромбоэмболические осложнения
ГСД – гестационный сахарный диабет
ДИ – доверительный интервал
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЗВУР – задержка внутриутробного роста плода
ИАЖ – индекс амниотической жидкости
ИМТ – индекс массы тела
ИПД – инвазивная пренатальная диагностика
ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность
КПД – комплекс пренатальной диагностики
КС – кесарево сечение
КТГ – кардиотокография

КТР – копчиково-теменной размер

ЛО – ложно отрицательный

ЛП – ложно положительный

ЛПП – ложно-положительный результат

Me – медиана

МКБ – международная классификация болезней

МКПД - межтерриториальный кабинет пренатальной диагностики

МНО – международное нормализованное отношение

Mo – мода

МП – микронизированный прогестерон

МТГРФ – метилентетрагидрофолат редуктаза

МХ – моносомия X хромосомы

МХА – маркеры хромосомных аномалий

НГГ – наружная гистерография

НИПС – неинвазивный пренатальный скрининг

НИПТ – неинвазивный пренатальный тест

НК – косовая кость

НМПК – нарушение маточно-плацентарного кровотока

ОАА – отягощенный акушерский анамнез

ОАК – общий анализ крови

ОАМ – общий анализ мочи

ПГД – предимплантационная генетическая диагностика

ПГТ – предимплантационное генетическое тестирование

ПНБ – привычное невынашивание беременности

ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной

плаценты

ПР – преждевременные роды

ПРПП – преждевременный разрыв плодного пузыря

ПТИ – протромбиновый индекс

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ПЭ – преэклампсия
п.н. – пар нуклеотидов
РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система
РАРР-А – pregnancy associated plasma protein A
РНК – рибонуклеиновая кислота
РОАГ – Российское общество акушеров-гинекологов
РФ – Российская Федерация
СД – сахарный диабет
СКВ – системная красная волчанка
СМАД – суточный мониторинг артериального давления
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
cf-DNA – cell-free DNA (внеклеточная ДНК)
Т13 – трисомия 13 хромосомы
Т18 – трисомия 18 хромосомы
Т21 – трисомия 21 хромосомы
ТВП – толщина воротникового пространства
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФУТ – функционально узкий таз
ФФ – фетальная фракция
ХА – хромосомные аномалии
ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
ХМА – хромосомный микроматричный анализ
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
ACMG – the American college of medical geneticists
ACOG – the American college of obstetricians and gynecologists
AUC - Area under ROC curve
CGH – comparative genome hybridization
CNV – copy number variation
ESHRE – European Society of Human Reproduction and Embriology

FISH – fluorescent in situ hybridization

MoM - multiple of the median

NGS – new generation sequencing

NO – оксид азота

NPV – negative predictive value

PI – пульсационный индекс

PIGF – placental growth factor

PPV – positive predictive value

PV – per vaginum (интравагинально)

RCOG – the Royal college of obstetricians and gynecologists

RI – индекс резистентности

ROC - Receiver Operator Characteristic

SD – среднеквадратичное отклонение

SNP – single nucleotide polymorphism

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акуленко, Л. В. Роль полиморфизма генов ренин-ангиотензиновой системы в этиологии и патогенезе преэклампсии / Л. В. Акуленко, С. Г. Цахилова, А. В. Джансолова [и др.] // Проблемы репродукции. – 2017. - № 1. – С. 8-11.
2. Акушерство. Национальное руководство / под ред. Г. М. Савельевой, Г. Т. Сухих, В. Н. Серова, В. Е. Радзинского. – 2-е издание. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 1078 с.
3. Анализ результатов раннего пренатального скрининга в Российской Федерации АУДИТ-2018 : Информационно-справочные материалы. - Москва, 2018. – 111 с.
4. Андропова, Н. В. Снижение репродуктивных рисков у носителей сбалансированных хромосомных перестроек : дисс. ... канд. мед. наук / Н. В. Андропова. - Москва, 2015. - 142 с.
5. Анохова, Л. И. Клинические и молекулярно-генетические предикторы преэклампсии / Л. И. Анохова, Т. Е. Белокриницкая, Н.И. Фролова, Ю. Н. Смоляков // Забайкальский медицинский вестник. – 2017. - №3. - С. 7-13.
6. Анохова, Л. И. Метод прогнозирования задержки роста плода в сроки недоношенной беременности / Л. И. Анохова, Т. Е. Белокриницкая, Ю. Н. Смоляков // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2016. Т. 2, №1. - С. 12-17.
7. Анохова, Л. И. Прогнозирование плацентарной недостаточности при преждевременных родах / Л. И. Анохова, Т. Е. Белокриницкая, Ю. Н. Смоляков // Забайкальский медицинский вестник. - 2016. - № 2. - С. 66-70.
8. Баранов, В. С., Цитогенетика эмбрионального развития человека / В. С. Баранов, Т. В. Кузнецова. – Санкт-Петербург: Издательство Н-Л., 2007. – 640 с.

9. Баранов, И. И. Непрямые причины материнской смертности / И. И. Баранов, З. З. Токова // *Акушерство и гинекология*. - 2012. - № 4-2. - С. 92-96.
10. Баранов, И. И. Структура материнской смертности в России у женщин с бесплодием в анамнезе / И. И. Баранов, З. З. Токова // *Акушерство и гинекология*. 2012. - №1. – С. 85-88.
11. Баранов, И. И. Медицинские и социальные аспекты преждевременных родов / И. И. Баранов, Ю. П. Скрипниченко, З. З. Токова и др. // *Гинекология*. – 2014. - Т. 5, № 16. – С. 90-93.
12. Баранова, Е. Е., Ижевская В.Л. Неинвазивные пренатальные тесты: европейские и американские рекомендации по применению в клинической практике / Е. Е. Баранова, М. С. Беленикин, Л. А. Жученко [и др.] // *Медицинская генетика*. – 2017. – Т. 16, №8. – С. 3-10.
13. Баркаган, З. С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Момот. – Москва : Ньюдиамед, 2008. - 292 с.
14. Барков, И. Ю. Плацентарный мозаицизм по хромосоме 7, выявленный по результатам полногеномного неинвазивного днк-скрининга анеуплоидий плода по крови матери / И. Ю. Барков, Е. С. Шубина, О. К. Ступко [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2018. - № 10. - С. 59-63.
15. Белозёрцева, Е. П. Конфаундинг-факторы антенатальной гибели плода / Е. П. Белозёрцева, Т. Е. Белокриницкая, С. А. Иозефсон [и др.] // *Дальневосточный медицинский журнал*. – 2014. - № 4. – С. 50.
16. Белокриницкая Т. Е. Вазоактивные гены как молекулярно-генетические предикторы тяжелой преэклампсии / Т. Е. Белокриницкая, Н. И. Фролова, Н. Н. Страмбовская [и др.] // *Гинекология*. – 2019. – Т. 21, № 1. – С. 10–13.
17. Белокриницкая, Т. Е. Структура критических акушерских состояний и материнской смертности у пациенток раннего и позднего

репродуктивного возраста / Т. Е. Белокриницкая, Н. И. Фролова, С. А. Иозефсон [и др.] // Практическая медицина. - 2019.- Т. 4, № 17. – С. 32-36.

18. Будюхина, О. А. Перинатальные исходы плацентарной недостаточности в зависимости от генотипов глутатион-S-трансфераз / О. А. Будюхина, Е. И. Барановская, Н. Г. Даниленко [и др.] // Репродуктивное здоровье в Беларуси. – 2010. - №2. – С.59-68.

19. Вавилова, Т. В. Генетический анализ на тромбофилию в клинической практике / Т. В. Вавилова, О. В. Сироткина // Лаборатория. – 2012. - № 4: С. 8-10.

20. Выкидыш в ранние сроки беременности: диагностика и тактика ведения : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2016. – режим доступа https://rokb.ru/sites/default/files/pictures/vykidysh_v_rannie_sroki_beremennosti_diagnostika_i_taktika_vedeniya.pdf

21. Галинова, И. В. Анализ многолетней динамики осложнений беременности в столице пермского края / И. В. Галинова, Г. К. Садыкова // Общественное здоровье и организация здравоохранения, экология и гигиена человека. – 2018. – Т. 58, № 2. – С. 35-39.

22. Генетически детерминированные тромбофилии: теория и практика / под ред. О. П. Ковтун. - Екатеринбург : Издательство УГМУ Минздрава России. - 2013. – 227 с.

23. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова – Санкт-Петербург : Издательство Н-Л, 2009. – 528 с.

24. Гестационный сахарный диабет: диагностика, лечение, послеродовое наблюдение : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2013. – режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.

25. Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия : Клинические

рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2013. – режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.

26. Гланц С. Медико-биологическая статистика : пер. с англ. / С. Гланц. – Москва : Практика, 1998. – 459 с.

27. Глотов, А. С. Исследования популяционных частот полиморфизма генов, ассоциированных с гестозом / А. С. Глотов, Е. С. Вашукова, О. С. Глотов [и др.] // Экологическая генетика. – 2013. - Т. 11, №7. – С. 91-100.

28. Гнетецкая, В. А. Прогностическая значимость неинвазивных пренатальных тестов в группах женщин с высоким и низким риском анеуплоидии плода / В. А. Гнетецкая, Е. Е. Баранова, М. С. Беленикин [и др.] // Медицинская генетика. – 2018. – Т. 17, № 12. С. 30-35.

29. Гра, О. А. Биочиповые технологии в диагностике социально значимых многофакторных заболеваний / О. А. Гра, Ж. М. Кожекбаева, Д. В. Гра [и др.] // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2009. – Т. 5, № 1. - С. 5-15.

30. Григорьев, С. Г. Роль и место логической регрессии и ROC-анализа в решении медицинских диагностических задач / С. Г. Григорьев, Ю. В. Лобзин, Н. В. Скрипченко // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 4. – С. 36–45.

31. Гусар, В. А., Профиль экспрессии плацентарных МикроРНК - регуляторов окислительного стресса при синдроме задержки роста плода / В. А. Гусар, А. В. Тимофеева, Н. Е. Кан [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. - № 1. – С. 74-80.

32. Девятова, Е. А., Оценка материнской смертности: спорные вопросы и современные решения / Е. А. Девятова, И. Н. Костин, М. Г. Лебедева // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2017. – Т. 17, №3. – С. 25-32.

33. Добрынина, Н. В., Перинатальные исходы при пренатальной диагностике структурных хромосомных перестроек у плода / Н. В.

Добрынина, В. В. Ковалев, Е. Б. Николаева / Уральский медицинский журнал. - 2007. - № 3. – С. 38-43.

34. Дубровина, С. О., Ранние предикторы преэклампсии / С. О. Дубровина, Ю. С. Муцалханова, В. В. Васильева // Акушерство и гинекология. – 2018. - № 10. – С. 47-51.

35. Емельяненко, Е. С., Инновационные технологии в пренатальной диагностике: мнение врачей и пациентов / Е. С. Емельяненко, А. А. Исаев, Е. Е. Письменная [и др.] // Доктор.ру. – 2017. – Т. 138, №9. - С. 38-43.

36. Жученко, Л. А., Реализация мероприятий Национального проекта «Пренатальная (дородовая) диагностика нарушений развития ребенка» в Московской области / Л. А. Жученко, Е. Н. Андреева, Е. Ю. Воскобоева [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2013. № 4. – С. 6-12.

37. Иващенко, Т. Э., Первый опыт применения ngs секвенирования для проведения неинвазивного пренатального тестирования / Т. Э. Иващенко, Е. С. Вашукова, П. Ю. Козюлина [и др.] // Генетика. – 2019. - Т. 55, № 10, С. 1151-1157.

38. Инициатива по преэклампсии Международной федерации гинекологии и акушерства (FIGO): практическое руководство по скринингу в I триместре и профилактике заболевания : адаптированная версия на русском языке / под ред. З. С. Ходжаевой, Е. Л. Яроцкой, И. И. Баранова // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2019. – Т. 7, № 4. – С. 25-32.

39. Истмико-цервикальная недостаточность : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2018. - режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.

40. Карева, Е. Н. Тетрагидрофолат: роль в прегравидарной подготовке и ведении беременности / Е. Н. Карева, Л. А. Зорина, М. В. Судницына // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2019. - Т. 24, №2. – С. 59-63.

41. Кашеварова, А. А., Ретроспективная молекулярно-цитогенетическая характеристика тетраплоидии при ранней эмбриолетальности у человека / А. А. Кашеварова, Н. Н. Суханова, Е. Н. Толмачева [и др.] // Цитология. – 2007. – Т. 49, № 4. – С. 322-328.
42. Кащеева, Т. К., Биохимическим пренатальный скрининг в эпоху эры неинвазивной диагностики. Вместе или врозь? / Т. К. Кащеева, В. С. Баранов // Медицинская генетика. – 2015. – Т. 14, №7. - С. 3-8.
43. Кащеева, Т.К. Новые технологии и тенденции развития пренатальной диагностики / Т. К. Кащеева, Т. В. Кузнецова, В. С. Баранов // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66., № 2. – С. 33–39.
44. Керкешко, Г. О. Оптимизация терапии фолатами при осложнениях беременности / А. В. Арутюнян, О. Н. Аржанова, Ю. П. Милютин // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013 – Т. 62, № 6. – С.25-36.
45. Ким, Л. В. Результаты комбинированного и неинвазивного пренатального скрининга методом высокопроизводительного секвенирования в прогнозировании хромосомных анеуплоидий плода у женщин с привычным выкидышем / Л. В. Ким, Н. К. Тетрашвили, Д. Ю. Трофимов, [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнение, обучение. 2017. – Т. 18, № 4. – С. 41-47.
46. Ковалев, В. В. Патофизиологические основы ультразвукового мониторинга состояния плода при синдроме задержки его развития / В. В. Ковалев, П. Б. Цывьян // Акушерство и гинекология. – 2010. - №1. – С. 11-15.
47. Корчагина, Р. П. Полиморфизм генов биотрансформации ксенобиотиков GSTM1, GSTT1, CYP2D6, вероятных маркеров онкологических заболеваний, в популяциях коренных этносов и русских Северной Сибири / Р. П. Корчагина, Л. П. Осипова, Н. А. Вавилова [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. - Т.15, № 3 - С. 448-461.
48. Кочерова, В. В. Задержка внутриутробного развития плода: факторы риска, диагностика, отдаленные последствия / В. В. Корчагина, В.

А. Щербак // Российский педиатрический журнал. – 2015. – Т. 18, №2. – С. 36–42.

49. Ланг, Т.А. Как описывать статистику в медицине : руководство для авторов, редакторов и рецензентов / Т. А. Ланг, М. Сесик. – Москва : Практическая Медицина, 2011. – 480 с.

50. Медведев, М. В. Основы УЗ скрининга в 18-21 неделю беременности : практическое пособие для врачей / М. В. Медведев. – 3-е изд., доп. и перераб. – Москва : Реал Тайм, 2015. – 126 с.

51. Методы статистической обработки медицинских данных : методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / сост. А. Г. Кочетов, О. В. Лянг, В. П. Масенко [и др.]. – Москва : РКНПК, 2012. – 42 с.

52. Момот, А. П. Тромбофилии в акушерско-гинекологической практике / А. П. Момот, М. Г. Николаева // Медицинский совет. – 2017. - №13. – С. 71-78.

53. Момот, А. П. Физиологическая беременность как модель несостоявшегося тромбоза / А. П. Момот // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. – 2017. - № 2. – С. 44-52.

54. Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Н. П. Бочкова, Е. К. Гинтера, В. П. Пузырева. – Москва : ГЭОТАР-Медиа. - 2013. - 936 с.

55. Никитина, Т. В. Молекулярное кариотипирование (ACGH) как современный подход к исследованию причин невынашивания беременности / Т. В. Никитина, А. А. Кашеварова, Н. А. Скрябин [и др.] // Медицинская генетика. – 2013. – Т.12, №1. – с. 26-35.

56. Нормальная беременность : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2020. – режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.

57. Об основах охраны здоровья граждан Российской Федерации [федеральный закон от 21.11.2011 №323-ФЗ [электронный ресурс] / 2011. –

режим доступа http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895.

58. Об утверждении перечня медицинских показаний для искусственного прерывания беременности : приказ МЗ РФ от 3 декабря 2007 г. № 736 (зарегистрирован Минюстом России 25 декабря 2007 г. № 10807), с изменениями, внесенными приказом Минздравсоцразвития России от 27 декабря 2011 г. № 1661н (зарегистрирован Минюстом России 3 февраля 2012 г. № 23119) // Москва. – 2012.

59. Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий) : приказ Минздрава РФ от 1 ноября 2012 г. № 572н // Собрание законодательства Российской Федерации. – 2011. - № 48, ст. 6724.

60. Оленев, А. С. Преэклампсия как угрожающее жизни состояние / А. С. Оленев, В. А. Новикова, В. Е. Радзинский // Акушерство и гинекология. – 2020. - №3. – С. 48-57.

61. Определение наследственной предрасположенности к некоторым частым заболеваниям при беременности : методические рекомендации / под ред. Баранова, В. С., Айламазяна Э. К. - СПб.: Санкт-Петербург: Издательство Н-Л., 2009. – 80 с.

62. Парсаданян, Н. Г. Свободная эмбриональная днк при самопроизвольных ранних потерях беременности у женщин с привычным выкидышем / Н. Г. Парсаданян, Е. С. Шубина, Н. К. Тетруашвили [и др.] // Астраханский медицинский журнал. – 2015. - Т. 10, №1. – С. 84-90.

63. Паршина, А. Ю. Определение структуры материнской смертности в Российской Федерации с применением статистического анализа // А. Ю. Паршина // Москва: Социосфера, 2020. - №1. – С. 131-135.

64. Петров, Ю. А. Современные представления о проблеме искусственного прерывания беременности (обзор литературы) / Ю. А. Петров, Т. Ю. Байкулова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. - №8. – С. 727-73.

65. Прегравидарная подготовка : клинический протокол / Под. ред. В. Е. Радзинского. - Москва: Редакция журнала StatusPraesens, 2016. – 72 с.
66. Преждевременные роды : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2013. – режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.
67. Привычное невынашивание беременности: причины, версии и контраверсии, лечение : пер. с англ. / под ред. Г. Д. Карпа. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 592с.
68. Профилактика ВТЭО в акушерстве и гинекологии : Клинические рекомендации (протокол лечения) [Электронный ресурс]. – 2014. – режим доступа http://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.
69. Профилактика повторных осложнений беременности в условиях тромбофилии (синдром потери плода, гестозы, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тромбозы и тромбоэмболия) : руководство для врачей / под ред. А. Д. Макацария. - Москва: Триада-Х. - 2008. – 170 с.
70. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. - Москва : МедиаСфера, 2003. – 312 с.
71. Савельева, Г. М. Мой взгляд на современное состояние акушерства и перинатологии / Г. М. Савельева // Российский вестник акушера-гинеколога. - 2019. – Т. 19, №2. – С. 7-13.
72. Семятов, С. М. Пути преодоления риска материнской смертности / С. М. Семятов, Е. А. Девятова, Т. В. Смирнова [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. - 2017. – Т. 17, № 3. – С. 43-48.
73. Серов, В. Н. Неотложные состояния в акушерстве / В. Н. Серов, Г. Т. Сухих, И. И. Баранов [и др.] – Москва : «ГЭОТАР Медиа», 2001. – 775с.
74. Сидельникова, В. М. Невынашивание беременности : руководство для врачей / В. М. Сидельникова, Г. Т. Сухих. – Москва : МИА, 2011. – 536 с.

75. Сидельникова, В. М. Привычная потеря беременности / В. Н. Сидельникова. – Москва: Триада-Х, – 2002. - С. 27-38.
76. Сидорова, И. С. Преэклампсия и снижение материнской смертности в России / И. С. Сидорова, Н. А. Никитина, А. Л. Унанян // Акушерство и гинекология. - 2018. №1. – С. 107-112.
77. Сидорова, И. С. Решенные и нерешенные проблемы преэклампсии в России / И. С. Сидорова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – Т.15, №2. – С. 4-9.
78. Складановская, Т. В. Пороки развития плода – фолат-зависимая патология / Т. В. Складановская, Н. И. Свиридова // Лекарственный вестник. - 2013. – Т. 52, № 4– С. 17 – 20.
79. Скрипниченко, Ю. П., Статистика преждевременных родов / Ю. П. Скрипниченко, И. И. Баранов, З. З. Токова // Проблемы репродукции. – 2014. - № 4. – С. 11-14.
80. Соколова, М. Ю. Экстрагенитальная патология у беременных / Соколова, М. Ю. – Москва: Медицинское информационное агентство, 2011. – 231 с.
81. Стрижаков, А. Н., Прогнозирование синдрома задержки роста плода у беременных высокого риска / А. Н. Стрижаков, М. М. Мирющенко, И. В. Игнатко [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2017. - №7. – С. 34-44.
82. Стрижаков, А. Н. Имитаторы тяжелой преэклампсии: вопросы дифференциальной диагностики и мультидисциплинарного ведения / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко, Е. В. Тимохина // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2019. - Т. 13, № 1. - С. 70–78.
83. Супрун, С. В. Генетический полиморфизм IL-10 при преждевременных родах / С. В. Супрун, Е. Б. Наговицына, Е. А. Кондрашова [и др.] // Медицинская Иммунология. – 2017. - № 1. – С. 196.
84. Суркова, Е. И. Неинвазивная пренатальная детекция трисомий: обзор методов и сравнение подходов / Е. И. Суркова, А. Г. Никитин, А. Н. Торопоский // Медицинская генетика. – 2019. - Т. 18, №3. - С. 39-46.

85. Суханова, Л. П. Перинатальные проблемы воспроизводства населения России [Электронный ресурс] / Л. П. Суханова, Т. В. Кузнецова // Электронный научный журнал «Социальные аспекты здоровья населения». – 2010. – Vol. 16, №4. – режим доступа <http://vestnik.mednet.ru/content/view/243/30/lang.ru/>

86. Сухих, Г. Т. Новые подходы к проведению пренатального скрининга хромосомной патологии: днк-скрининг по крови матери / Г. Т. Сухих, Д. Ю. Трофимов, И. Ю. Барков [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – №8. – С. 72-78.

87. Сухих, Г. Т., Неинвазивный пренатальный днк-скрининг анеуплоидий плода по крови матери методом высокопроизводительного секвенирования : клинические рекомендации / Г. Т. Сухих, Д. Ю. Трофимов, И. Ю. Барков [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – №6. – С. 2-22.

88. Сухих, Г. Т. Неинвазивный пренатальный ДНК-скрининг методом высокопроизводительного секвенирования у беременных с акушерской патологией // Г. Т. Сухих, Н. К. Тетруашвили, Д. Ю. Трофимов [и др.] // Гинекология Эндокринология. – 2017. – №3. – С. 11-15.

89. Татарский, П. Ф. Исследования возможной роли полиморфизма генов системы детоксикации и коагуляции крови в патогенезе потери беременности / П. Ф. Татарский, А. М. Кучеренко, К. Г. Хажиленко и др. // Biopolimers and cell. – 2011. Т. 27, № 3. – С. 214-220.

90. Тетруашвили, Н. К. Неинвазивный пренатальный ДНК-тест в качестве скрининговой методики у женщин различных групп риска: взгляд на проблему / Н. К. Тетруашвили, Л. В. Ким, Н. Г. Парсаданян [и др.] // Акушерство и гинекология. -2016. - №8. – С. 24-28.

91. Тимофеева, А. В. Идентификация ассоциированных с преэклампсией микроРНК методом глубокого секвенирования и количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени / А. В. Тимофеева, В. А. Гусар, К. Н. Прозоровская [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – № 8. – С. 60-70.

92. Тимохина, Е. В. Полиморфизм гена ангиотензин-превращающего фермента ACE существенно увеличивает риск развития преэклампсии / Е. В. Тимохина, А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко [и др.] // Биохимия. - 2019. – Т. 84, №2. – С. 281-287.
93. Третьякова, Т. Б. Генетические предикторы акушерских осложнений: межгенные ассоциации / Т.Б. Третьякова, Н.В. Башмакова, Н.С. Демченко // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2012. – Т. 6, № 5. – С. 23-28.
94. Трифонова, Е. А. Геномные и постгеномные технологии в генетике преэклампсии / Е. А. Трифонова, М. Г. Сваровская, В. Н. Сереброва [и др.] // Генетика. - 2020. – Т.56, №5. – С. 495-513.
95. Федорова, Н. И. Свободная эмбриональная днк в плазме крови как предиктор самопроизвольных потерь беременности у женщин с привычным выкидышем / Н. И. Федорова, Н. К. Тетруашвили, Л. З. Файзуллин [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2012. - №6. - С. 9-14.
96. Фетисова, И. Н. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у женщин с гипертензивными расстройствами при беременности / И. Н. Фетисова, И. А. Панова, А. И. Малышкина [и др.] // Таврический медико-биологический вестник. 2017. - Т. 20, № 2. - С. 160-165.
97. Хамадянов, У. Р., Роль генов биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе нарушений репродуктивной функции у женщин / У. Р. Хамадянов, Т. В. Викторова, Г. М. Исхакова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии 2005. - Т.5, №4. - С.39-41.
98. Холин, А. М. Прогнозирование преэклампсии в первом триместре беременности: валидация алгоритмов скрининга на российской популяции / А. М.Холин, К. Т. Муминова, И. С. Балашов [и др.] Акушерство и гинекология. – 2017. - №8. – С. 74-84.
99. Холин, А. М. Прогнозирование преэклампсии в первом триместре на основе клинико-anamnestических факторов, биомаркеров и 3D-энергетической доплеровской оценки васкуляризации плацентарного ложа /

А. М. Холин, К. Т. Муминова, Т. М. Нагоев // *Акушерство и гинекология*. – 2018. - № 8. – С. 56-65.

100. Холин, А. М. Трехмерная энергетическая доплеровская оценка васкуляризации плацентарного ложа в прогнозировании преэклампсии в первом триместре / А. М. Холин, З. С. Ходжаева, А. И. Гус // *Акушерство и гинекология*. – 2018. - № 2. – С. 36-43.

101. Хрунин, А. В. Полиморфизм генов глутатион-трансфераз в популяциях русского населения европейской части России / А. В. Хрунин, Д. В. Хохрин, С. А. Лимборская // *Генетика*. – 2008. – Т.44. – С. 1429-1434.

102. Цахилова, С. Г., Генетические предикторы преэклампсии (обзор литературы) / С. Г. Цахилова, Л. В. Акуленко, В. М. Кузнецов [и др.] // *Проблемы репродукции*. – 2017. - № 1. – С. 110-114.

103. Цепилов, Я. А. Разработка и применение новых моделей в полногеномном анализе ассоциаций : дисс. ... канд. биол. наук / Я. А. Цепилов. - Новосибирск, 2016. –122 с.

104. Цывьян, П. Б. Ультразвуковые маркеры генетической патологии и ранние гемодинамические изменения у эмбриона человека / П. Б. Цывьян, В. В. Ковалев, Н. В. Косовцова // *Физиология человека*. – 2014. – Т. 40, №3. – С. 120-124.

105. Чабанова, Н. Б., Антенатальная гибель плода: причины, факторы риска / Н. Б. Чабанова, В. В. Хасанова, Т. П. Шевлюкова [и др.] // *Университетская медицина*. – 2015. - № 2. – С. 60-62.

106. Черненко, Ю. В., Особенности новорожденных детей с задержкой внутриутробного развития (по данным Перинатального центра Саратовской области) / Ю. В. Черненко, В. Н. Нечаев, Е. С. Дудукина // *Саратовский научно-медицинский журнал*. – 2017. – Т. 13, № 1. – С. 62–67.

107. Чурносков, М. И. Генетические исследования хронической плацентарной недостаточности и синдрома задержки роста плода / М. И. Чурносков, О. С. Кокорина // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2014. - № 1. – С. 27-32.

108. Шабалдин, А. В., Роль GST-генов в формировании репродуктивной патологии / А. В. Шабалдин, О. А. Глушкова, О. С. Макаренко [и др.] // Акушерство и гинекология - 2007. - №4. - с.23-26.
109. Шкляев, А. Е. Оценка факторов риска сверхранных преждевременных родов / А. Е. Шкляев, М. В. Семёнова, А. С. Лялина [и др.] // Вестник Авиценны. – 2019. – Т. 21, №1. – С. 26-32.
110. Шубина, Е. С. Мозаицизм плода как причина ложноотрицательного результата неинвазивного пренатального днк-скрининга анеуплоидий по 21-й хромосоме / Е. С. Шубина, И. Ю. Барков, О. К. Ступко [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. - №11. - С. 31-34.
111. Юрченко, Л. Н., Состояние системы гемостаза при осложнениях беременности и родов / Л. Н. Юрченко, И. Д. Медвинский, В. В. Ковалев. - Екатеринбург: УрОРАН. - 2009. – 106 с.
112. Ящук, А. Г., Состояние сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при беременности: признаки нормы и патологии / А. Г. Ящук, А. В. Масленников, И. Р. Тимершина // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. № 4. – С. 17-19.
113. ACOG committee opinion № 640 : Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy [electronic resource] / American College of Obstetricians and Gynecologists // Committee opinion №640. - 2015. - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26287791>.
114. ACOG Practice Bulletin № 162: Prenatal Diagnostic Testing for Genetic Disorders / American College of Obstetricians and Gynecologists // Obstetrics and gynecology. – 2016. – Vol. 127, № 5. – P. e108-22.
115. ACOG Practice Bulletin №197: Inherited thrombophilias in pregnancy / American College of Obstetricians and Gynecologists // Obstet. Gynecol. – 2018. Vol. 132, №1. - e18-e34.
116. Akolekar, R, Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-

analysis / R. Akolekar, J. Beta, G. Picciarelli [et al.] // *Ultrasound Obstetrics Gynecol.* – 2015. – Vol. 45. – P. 16–26. ^[11]_[SEP]

117. Al-Hijji, J. Nitric oxide synthase activity in human trophoblast, term placenta and pregnant myometrium / J. Al-Hijji, B. Larsson, S. Batraet [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 1. – P. 51-53.

118. Al-Saleh, E. Actions needed to improve maternal health / E. Al-Saleh, G. C. Di Renzo // *Int J of Gynecology and Obstetrics.* – 2009. – Vol. 106. – P. 115-119.

119. Alberry, M. S. Quantification of cell free fetal DNA in maternal plasma in normal pregnancies and in pregnancies with placental dysfunction / M. S. Alberry, D. G. Maddocks, M. A. Hadi [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2009. - Vol 200 (98). – P. 91-96.

120. Alldred, S. K. First trimester serum tests for Down's syndrome screening / S. K. Alldred, Y. Takwoingi, B. Guo [et al.] *Cochrane Database Syst Rev.* – 2015. – Vol. 11. - CD011975.

121. Allyse, M. M. Non-invasive prenatal testing: A review of international implementation and challenges / M. M. Allyse, A. Minear, E. Berson [et al.] // *Int J Womens Health.* – 2015. - № 7. – P. 113-126.

122. Anandakumar, C. Early asymmetric IUGR and aneuploidy / C. Anandakumar, S. Chew, Y. C. Wong [et al.] // *The journal of obstetrics and gynaecology research.* – 1996. – Vol. 22, №4. – P. 365-70.

123. Aracic, N. The impact of inherited thrombophilia types and low molecular weight heparin treatment on pregnancy complications in women with previous adverse outcome / N. Aracic, D. Roje, I. A. Jakus [et al.] // *Yonsei Med J.* – 2016. – Vol. 57, №5. – P. 1230-5.

124. Assessing the deprivation gap in stillbirths and neonatal deaths by cause of death [electronic resource] / K. E. Best, Seaton, S. E., Draper, E. S., et al // *A national population-based study Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition.* – 2018. - URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30842208>

125. Azimi-Nezhad, M. Association of CYP11B2 gene polymorphism with preeclampsia in north east of Iran (Khorasan province) / M. Azimi-Nezhad, A. Teymoori, R. Ebrahimzadeh-Vesal // *Gene*. - 2020. – Vol. 733, № 5. – P. 144358.
126. Azzini, E. Homocysteine: Its Possible Emerging Role in At-Risk Population Groups / E. Azzini, S. Ruggeri, A. Polito // *Int J Mol Sci*. - 2020 Vol. 21, №4. - E1421.
127. Babu, M. S. Association of genetic variants of fibrinolytic system with stroke subtypes / M. S. Badu, T. S. Prabha, S. Kaul [et al.] // *Gene*. - 2012. – Vol. 495, №1: P. 76-80.
128. Bao, S. Expression of nitric oxide synthase isoforms in human pregnant myometrium in term / S. Bao, J. Rai, J. Schreiber // *J Soc Gynecol Investig*. – 2002. – Vol. 9, No. 6. – P.351-356.
129. Barlic, M. Correlation between factor VII and PAI-1 genetic variants and recurrent miscarriage / M. Barlic, A. Seremak-Mrozikiewicz, K. Drews et al. // *Ginekol Pol*. – 2016. – Vol. 87, №7: P. 504-9.
130. Bartsch, E. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies / E. Bartsch, K. E. Medcalf, A. L. Park [et al.] // *BMJ*. - 2016; Vol. 19. – P. 353.
131. Beckers, K. F. Maternal microbiome and the hypertensive disorder of pregnancy, preeclampsia / K. F. Beckers, J. L. Sones // *Am J Physiol Circ Physiol*. - 2020. Vol. 318, №1: H1-H10.
132. Berghella, V. Early pregnancy loss: in book *Obstetric Evidence Based Guidelines* / 2nd ed. - 2012. - P. 142–149
133. Bilagi, A. Association of maternal serum PAPP-A levels, nuchal translucency and crown-rump length in first trimester with adverse pregnancy outcomes: retrospective cohort study / A. Bilagi, D. L. Burke, R. D. Riley [et al.] // *Prenatal Diagnosis*. – 2017. – Vol. 37, №7. - P. 705–711.
134. Birdir, C. Predictive value of sFlt-1, PlGF, sFlt-1/PlGF ratio and PAPP-A for late-onset preeclampsia and IUGR between 32 and 37 weeks of

pregnancy / C. Birdir, L. Droste, L. Fox [et al.] *Pregnancy Hypertension*. – 2018. – Vol. 12. – P. 124–128.

135. Biron-Shental, T. Genomic alterations are enhanced in placentas from pregnancies with fetal growth restriction and preeclampsia: preliminary results / T. Biron-Shental, R. Sharony, A. Shtorch-Asor [et al.] *Mol Syndromol*. – 2016. - № 6. – P. 276–280.

136. Boutin, A. Does Low PAPP-A Predict Adverse Placenta-Mediated Outcomes in a Low-Risk Nulliparous Population? The Great Obstetrical Syndromes (GOS) Study / A. Boutin, C. Gasse, S. Demers [et al.] // *J Obstet Gynaecol Can*. – 2019. – Vol. 40, № 6. – P. 663-668.

137. Bowman-Smart, H. Sex-selection and non-invasive prenatal testing: a review of current practices, evidence, and ethical issues / H. Bowman-Smart, Savulescu J., Gyngell C. [et al.] // *Prenat Diagn*. - 2020. - Vol. 40, №4. – P. 398-407.

138. Brison, N. Predicting fetoplacental chromosomal mosaicism during non-invasive prenatal testing / N. Brison, M. Neofytou, L. Dehaspe [et al.] // *Prenat Diagn*. – 2018. – Vol. 38, №4. – P. 258–266.

139. Brosens, I. The “Great obstetrical syndromes” are associated with disorders of deep placentation / I. Brosens, R. Pijnenborg, L. Vervruysse [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2011. – Vol. 204, №3. – P. 193-201.

140. Brun, S. Interest of Chromosomal Microarray Analysis in the prenatal diagnosis of fetal intrauterine growth restriction / S. Brun, P. Pennamen, A. Mattuizzi [et al.] // *Prenatal Diagnosis*. – 2018. – Vol. 38, №13. – P. 1111-1116.

141. Buchanan, J.A. Prenatal Genomic Microarray and Sequencing in Canadian Medical Practice / J. A. Buchanan, D. Chitayat, E. Kolomietz [et al.] // *J Med Genet*. – 2015. – Vol. 52, №9. – P. 585-586.

142. Bunnik, E. M. Should pregnant women be charged for non-invasive prenatal screening? Implications for reproductive autonomy and equal access / E. M. Bunnik, A. Kater-Kuipers, R. H. Galjaard [et al.] // *Journal of Medical Ethics*. - 2020. – Vol. 46, №3. – P. 194-198.

143. Burada, F. A rare occurrence of three consecutive autosomal trisomic pregnancies in a couple without offspring / F. Burada, S. Sosoi, D. Ilescu [et al.] // *Clin Exp Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 43, № 2. – P. 287-90.
144. Burn, W. The association between anticoagulation therapy, maternal characteristics, and a failed cfDNA test due to a low fetal fraction / W. Burn, N. Koelper, A. Barberio [et al.] // *Prenat Diagn.* – 2017. – Vol. 37, №11. – P. 1125-1129
145. Capece, A. Pathway analysis of genetic factors associated with spontaneous preterm birth and pre-labor preterm rupture of membranes / A. Capece, O. Vasiava, S. Meher [et al.] // *PLoS One.* - 2014. – Vol. 9, №9. – P. e108578.
146. Caradeux, J. First trimester prediction of early onset preeclampsia using demographic, clinical, and sonographic data: a cohort study / J. Caradeux, R. Serra, J. K. Nien [et al.] // *Prenat Diagn.* – 2013. – Vol. 33, № 8. – P. 732-6.
147. Caramelli, E., Cell-free fetal DNA concentration in plasma of patients with abnormal uterine artery Doppler waveform and intrauterine growth restriction--a pilot study / E. Caramelli, N. Rizzo, M. Concu [et al.] *Prenat Diagn.* – 2003. – Vol. 23. – P. 367-371.
148. Cardinale, C., Two miscarriages, consecutive or non consecutive, does it change something? / C. Cardinale, J. Berbis, C. Chau [et al.] // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2017. – Vol. 46, № 10. – P. 721-725.
149. Carp, H. Parental karyotype and subsequent live births in recurrent miscarriage // H. Carp, B. Feldman, G. Oelsner [et al.] // *Fertil Steril.* – 2004. – Vol. 81, №5. – P. 1296–301.
150. Cavallé-Busquets, P., Moderately elevated first trimester fasting plasma total homocysteine is associated with increased probability of miscarriage [electronic resource] / P. Cavallé-Busquets, M. Inglès-Puig, J. D. Fernandez-Ballart [et al.] // *The Reus-Tarragona Birth Cohort Study. Biochimie.* – 2020. - <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.01.008>
151. Chan, N. Implications of failure to achieve a result from prenatal maternal serum cell-free DNA testing: a historical cohort study [electronic

resource] / N. Chan, M. E. Smet, R. Sandow [et al.] // BJOG. - 2017. – <https://doi.org/10.1111/1471-0528.15006>.

152. Chaudhry, S. H., The determinants of maternal homocysteine in pregnancy: findings from the Ottawa and Kingston Birth Cohort [electronic resource] / S. H. Chaudhry, M. Taljaard, A. J. MacFarlane [et al.] // Public Health Nutr. - 2020. - <https://doi.org/10.1017/S1368980019004002>

153. Chedraui, P. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T and A1298C) in the placenta of pregnancies complicated with preeclampsia / P. Chedraui, M. E. Andrade, D. Salazar-Pousada [et al.] // Gynecol Endocrinol. – 2015. – Vol. 31, №7. – P. 569-72.

154. Chen, J., Assotiation of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism with preterm delivery and placental abruption: a systematic review and meta-analysis / J. Chen, L. Chen, L. H. Zhu [et al.] // Acta Obstet Gynecol Scand. – 2016. – Vol. 95, №2. – P. 157-65.

155. Chu, D. M. The microbiome in preterm birth / D. M. Chu, M. Seferovic, R. M. Pace [et al.] // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. – 2018. – Vol. 52. – P. 103-113.

156. Chu, Y. Application of array-based comparative genomic hybridization technique in genetic analysis of patients with spontaneous abortion / Y. Chu, D. Wu, Q. F. Hou [et al.] // Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi. – 2016. – Vol. 51(8), №25. – P. 592-596.

157. Cignini, P. Predictive value of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and free beta-hCG on fetal growth restriction: results of a prospective study / P. Cignini, Savasta L. M., Gulino F. A. [et al.] // Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2015. – Vol. 293, №6, 1227–1233.

158. Côté, N. Spontaneous preterm birth and the maternal microbiome / N. Côté, Pasquier J.C. // Med Sci (Paris). – 2018. – Vol. 34, №10: P. 799-805.

159. Crovetto, F. First trimester screening for early and late preeclampsia based on maternal characteristics, biophysical parameters, and angiogenic factors /

F. Crovetto, F. Figueras, S. Triunfo [et al.] // *Prenat. Diagn.* 2015. – Vol. 35, №2. – P. 183-91.

160. Cui, W. Evaluate of non-invasive prenatal testing to detect chromosomal aberrations in chinese cohort [electronic resource] / W. Cui, Liu X., Zhang Y. [et al.] // *J Cell Mol Med.* – 2019. – <https://doi.org/10.1111/jcmm.14614>

161. Cupisti, S Polymorphisms in estrogen metabolism and estrogen pathway genes and the risk of miscarriage / S. Cupisti, P. A. Fasching, A. B. Ekici [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2009. - Vol. 280, №3. – P. 395-400.

162. Da Silva, L. V. C. Influence of MBL2 and NOS3 polymorphisms on spontaneous preterm birth in North East Brazil: genetics and preterm birth / L. V. C. Da Silva, N. Javorski, L. A. C. Brandão [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2020. – Vol. 33, № 1. – P. 127-135.

163. Dabi, Y. Low-molecular-weight heparin associated with reduced fetal fraction and subsequent false-negative cell-free DNA test result for trisomy 21 / Y. Dabi, J. M. Costa, A. Benachi // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2018. - Vol. 51, №2. – P. 278.

164. Dai, R. Chromosomal copy number variations in products of conception from spontaneous abortion by next-generation sequencing technology / R. Dai, Q. Xi, R. Wang [et al.] // *Medicine (Baltimore).* – 2019. – Vol. 98(47). – P. e18041.

165. De Jong, A., Prenatal screening: current practice, new developments, ethical challenges / A. De Jong, M. Idit, M. M. Jan // *Bioethics.* - 2015. -Vol. 29.1. – P. 1-8.

166. De León Bautista, M. P. Association of Cystathionine β -Synthase Gene Polymorphisms With Preeclampsia [electronic resource] / M. P. De León Bautista, M. Romero-Valdovinos, B. Zavaleta-Villa [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* - 2018. – <https://doi.org/10.1177/1076029618808913>.

167. De-Regil, L. M. Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects [electronic resource] / L. M. De-

Regil, J. P. Peña-Rosas, A. C. Fernández-Gaxiola [et al.] // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2015. – №12. – CD007950. – <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26662928/>

168. Del Gobbo, G. F. The significance of the placental genome and methylome in fetal and maternal health [electronic resource] / G. F. Del Gobbo, C. Konwar, W. P. Robinson // Hum Genet. – 2019. – <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00439-019-02058-w>

169. Deng, N. Circular RNA-expression profiling identifies has_circ_0011460 as a novel molecule in severe preeclampsia // N. Deng, D. Lei, J. Huang [et al.] // Pregnancy Hypertens. – 2019. – Vol. 17, P. 216-225.

170. Di Renzo, G. C. The great obstetrical syndromes / G. C. Di Renzo // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2009. – Vol. 22. – P. 633-635.

171. Docheva, N. The profiles of soluble adhesion molecules in the “great obstetrical syndromes” / N. Docheva, R. Romero, P. Chaemsaitong [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2018. – № 1. – P. 24.

172. Dondorp, W. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening / W. Dondorp, G. de Wert, Y. Bombard [et al.] // Eur J of Human Genetics. – 2015. – Vol. 23. – P. 1438-1450.

173. Dossenbach-Glaninger, A., Risk for early pregnancy loss by factor XIII Val34Leu: the impact of fibrinogen concentration / A. Dossenbach-Glaninger, M. van Trotsenburg, C. Oberkanins [et al.] // J Clin Lab Anal. – 2013. – Vol. 27, № 6. – P. 444-9.

174. Dotters-Katz, S. K. Trisomy 13 and the risk of gestational hypertensive disorders: a population-based study / S. K. Dotters-Katz, W. M. Humphrey, K. L. Senz [et al.] // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2018. – Vol. 31. – P. 1951–1955.

175. Drobinskaia, A. N. Placental morphology in inherited thrombophilia / A. N. Drobinskaia, A. P. Nadeeva, V. A. Zhukova [et al.] // Arkh Patol. – 2014. – Vol. 76, №3. – P. 33-6.

176. Drummond, C. L. Fetal karyotyping after 28 weeks of gestation for late ultrasound findings in a low risk population / C. L. Drummond, D. M. Gomes, M. V. Senat [et al.] // *Prenatal diagnosis*. – 2003. – Vol. 23, №13. – P. 1068-72.
177. Dugoff, L. The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis / L. Dugoff, Norton M. E., Kuller J. A. // *Am J Obstet Gynecol*. -2016. – Vol. 215, №4. – P. B2-B9.
178. Dukhovny, S. Eliminating first trimester markers: will replacing PAPP-A and b-hCG miss women at risk for small for gestational age? / S. Dukhovny, Zera C., Little S. E. [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med*. – 2014. – Vol. 27. – P. 1761–4.4.
179. Dunlop, A. L. Maternal microbiome and pregnancy outcomes that impact infant health: a review / A. L. Dunlop, Mulle J. G., Ferranti E. P. [et al.] // *Adv Neonatal Care*. – 2015. – Vol. 15, №6. – P. 377-85.
180. Edwards, L. First and second trimester screening for fetal structural anomalies / L. Edwards, L. Hui // *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*. – 2018. - Vol. 23. № 2. – P. 102-111.
181. Fang, Q. Systematic review and meta-analysis of the associations between maternal methyltetrahydrofolate reductase polymorphisms and preterm delivery / Q. Fang, Y. Jiang, Z. Liu [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res*. – 2018. – Vol. 44, №4. – P. 663-672.
182. Fang, Z. Association of endothelin-1 gene polymorphisms with essential hypertension in a Chinese population / Z. Fang, Li M., Ma Z. [et al.] // *Genet Mol Res*. – 2017. – Vol. 16, №3. – P. gmr16037446.
183. Fisher, S. J. Why is placenta abnormal in preeclampsia? / S. J. Fisher // *Am J Obstet Gynecol*. – 2015. – Vol. 213, № 40. - P. 115-122.
184. Gaiday, A. N. Effect of homocysteine on pregnancy: A systematic review / A. N. Gaiday, A. B. Tussupkaliyev, S. K. Bermagambetova [et al.] // *Chem Biol Interact*. – 2018. – Vol. 293. – P. 70-76.
185. Garshasbi, M. Clinical application of cell-free DNA sequencing-based prenatal testing for trisomies 21, 18, 13 and sex chromosome aneuploidy in a

mixed-risk population in Iran / M. Garshasbi, Y. Wang, S. Hantoosh Zadeh // *Fetal Diagn Ther.* – 2019. - № 5. – P. 1-8.

186. Gasse, C. First trimester mean arterial blood pressure and the risk of preeclampsia: The Great Obstetrical Syndromes (GOS) study / C. Gasse, A. Boutin, M. Coté [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2018. – Vol. 12. – P. 178-182.

187. Giannkou, K. Genetic and non-genetic risk factors for pre-eclampsia: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies / K. Giannkou, E. Evangelou, S. I. Papatheodorou // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol. 51, № 6. – P. 720-730.

188. Gil, M. M. Analysis of cell-free DNA in maternal blood ^[L]_{SEP} in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis / M. M. Gil, M. S. Quezada, R. Revello [et al.] // *Ultrasound Obstet ^[L]_{SEP}Gynecol.* – 2015. – Vol. 45. – P. 249–66. ^[L]_{SEP}

189. Goldstein, M. Does the number of previous miscarriages influence the incidence of chromosomal aberrations in spontaneous pregnancy loss? / M. Goldstein, R. Svirsky, A. Reches [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2017. – Vol. 24. – P. 2956-2960.

190. Gong, S. Placental polyamine metabolism differs by fetal sex, fetal growth restriction, and preeclampsia [electronic resource] / S. Gong, U. Sovio, I. L. Aye [et al.] // *JCI Insight.* - 2018 Vol. 13, №3. – <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6124516/>

191. Greco, E. First-trimester screening for spontaneous preterm delivery with maternal characteristics and cervical length / E. Greco, R. Gupta, A. Syngelaki [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* – 2012. – Vol. 31. – P. 154–61. ^[L]_{SEP}

192. Green-top Guideline №37b: Venous Thromboembolism during Pregnancy and the Puerperium [Electronic resource] / Royal College of obstetricians and Gynaecologists. – 2015. - <https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/gtg37b/>

193. Groten, T. eNOS14 and EPHX1 polymorphisms affect maternal susceptibility to preeclampsia: analysis of five polymorphisms predisposing to

cardiovascular disease in 279 Caucasian and 241 African women / T. Groten, E. Schleussner, T. Lehmann [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2014. – Vol. 289, № 3. – P. 581-93.

194. Habdous, M. Glutation S-transferases genetic polymorphisms and human diseases: overview of epidemiological studies / M. Habdous, G. Siest, B. Herbeth [et al.] // *Ann. Boil. Clin. (Paris).* – 2004. – Vol. 62, №1. – P. 15-24.

195. Hansen, A. T. The genetic component of preeclampsia: a whole-exome sequencing study / A. T. Hansen, J. M. Bernth Jensen, A.V. Hvas [et al.] // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13, №5. – P. e0197217.

196. Hansen, J. P. Older maternal age and pregnancy outcome: a review of the literature / J. P. Hansen // *Obstet Gynecol Surv.* – 1986, - Vol. 41, №11. – P. 726-42.

197. Hansen, Y. B. (2016). First trimester PAPP-A2, PAPP-A and hCG β in small-for-gestational-age pregnancies / Y. B. Hansen, V. Myrhøj, F. S. Jørgensen [et al.] *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 54(1).

198. Hardy, K. Temporal changes in chromosome abnormalities in human spontaneous abortions: Results of 40 years of analysis / K. Hardy, P. J. Hardy, P. A. Jacobs [et al.] // *Am J Med Genet A.* – 2016. – Vol. 170, №10. – P. 2671-80.

199. He, Q. Arginine bioavailability and endothelin-1 system in the regulation of vascular function of umbilical vein endothelial cells from intrauterine growth restricted newborns / Q. He, X. Liu, Y. Zhong [et al.] // *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* – 2018. – Vol. 28, №12. – P. 1285-1295.

200. Heazel, A. E. Stillbirth: economical and psychosocial consequences / A. E. Heazel, D. Siassacos, H. Blencowe [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol. 387 (10018). – P. 604-16.

201. Hobbs, C. A. Polymorphisms in Genes Involved in Folate Metabolism as Maternal Risk Factors for Down Syndrome / C. A. Hobbs, S. L. Sherman, P. Yi [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 2000. – Vol. 67. – P. 623-630.

202. Hocher, B. Epigenetics of recurrent pregnancy loss / B. Hocher, C. F. Focher // *EbioMed.* – 2018. – Vol. 35. – P. 18-19.

203. Hogge, W. A. The Clinical Use of Karyotyping Spontaneous Abortions / W. A. Hogge // *Am. J. Obstet. Gynaecol.* – 2003. – Vol. 189, № 2. – P. 397 - 402.

204. Holmes, L. B. (2018). Stillborn Infants: Associated Malformations. / L. B. Holmes, H. Nasri, R. Beroukhim [et al.] // *Birth Defects Research.* – Vol. 110, №2, P. 114–121.

205. Honarjoo, M. Assessment of β -human-derived chorionic gonadotrophic hormone (β hCG) and pregnancy-associated plasma protein A(PAPP-A) levels as predictive factors of preeclampsia in the first trimester among iranian women: a cohort study / M. Honarjoo, S. Kohan, E. Zarean [et al.] // *Pregnancy and Childbirth.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 464-468.

206. Howson, C. P. March of Dimes, PMNCH, Save the Children, WBO. Born Too Soon: The Global Action Report on Preterm Birth [Electronic resource] / C. P. Howson, M. V. Kinney, J. E. Lawn // Eds World Health Organization. – Geneva. – 2012. http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2012/preterm_20120502/ru.

207. Hu, J. Association of polymorphisms in the estrogen receptor β (ESR2) with unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA) in Chinese population / J. Hu, J. Wang, H. Xiang [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* // 2012. – Vol. 25, № 9. P. 1727-9.

208. Hu, X. The β -fibrinogen gene 455G/A polymorphism associated with cardioembolic stroke in atrial fibrillation with low CHA₂DS₂-VaSc score [Electronic resource] / X. Hu, J. Wang, Y. Li [et al.] // *Sci Rep.* - 2017. – Vol. 7. - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5727505/>

209. Huusko, J. M. Whole genome sequencing reveals HSPA1L as a genetic risk factor for spontaneous preterm birth / J. M. Huusko, M. K. Karjalainen, B. E. Graham [et al.] // *PLoS Genet.* – 2018. – Vol. 14, №7. – P. e1007394.

210. Hwang, K. R. Methyltetrahydrofolate reductase polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a case control study / K. R. Hwang, Y. M. Choi, J. J. Kim [et al.] // *J Korean Med Sci.* – 2017. – Vol. 32, № 12. – P. 2029-2034.
211. Jackson, R. A. Synthetic combinations of missense polymorphic genetic changes underlying Down Syndrome susceptibility / R. A. Jackson, M. L. Nguyen, A. N. Barrett [et al.] // *Cell Mol Life Sci.* – 2016. – Vol. 73, № 21. – P. 4001-17.
212. Johnson, M. Exome sequencing identifies likely functional variants influencing preeclampsia and CVD risk / M. Johnson, M. Loset, S. Brennecke [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2012. – Vol. 2, №3. – P. 203-4.
213. Kaartokallio, T. Exome sequencing in pooled DNA samples to identify maternal pre-eclampsia risk / T. Kaartokallio, J. Wang, S. Heinonen [et al.] // *Sci Rep.* – 2016. - №6. – P. 29085
214. Kaijomaa, M. Low maternal pregnancy-associated plasma protein A during the first trimester of pregnancy and pregnancy outcomes / L. Rahkonen, V. M. Ulander [et al.] // *International Journal of Gynecology and Obstetrics.* – 2016. – Vol. 136, №1. – P. 76–82.
215. Kaijomaa, M. The risk of adverse pregnancy outcome among pregnancies with extremely low maternal PAPP-A / M. Kaijomaa, V. M. Ulander, E. Hämäläinen [et al.] // *Prenat Diagn.* – 2016. – Vol. 36, №12. – P. 1115-1120.
216. Kamali, M. Association between thrombophilic genes polymorphisms and recurrent pregnancy loss susceptibility in the Iranian population: a systematic review and meta-analysis / M. Kamali, S. Hantoushzadeh, S. Borna [et al.] // *Iran Biomed J.* – 2017. – Vol. 222, №22. – P. 78-89.
217. Karge, A. Maternal Tumor Disease as a Reason for Repeated Test Failure in Cell-Free DNA Screening / A. Karge, O. Graupner, K. Abel [et al.] // *Z Geburtshilfe Neonatol.* – 2019. – Vol. 223, № 3. – P. 179-183.
218. Kasak, L. Extensive load of somatic CNVs in the human placenta [Electronic resource] / L. Kasak, K. Rull, P. Vaas [et al.] // *Sci Rep.* – 2015. - № 5:8342. - <https://doi.org/10.1038/srep08342>

219. Kim, S. C. Clinically significant maternal X chromosomal copy number variation detected by noninvasive prenatal test / S. C. Kim, Cha D. H., Jeong H. R. [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* – 2019. – Vol. 45 №9. – P. 1925-1928.
220. Kim, Y. J. Oxidative stress-related gene polymorphism and the risk of preeclampsia / Y. J. Kim, H. S. Park, M. H. Park // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2005. – Vol. 119, №1. - P. 42-46.
221. Kinnings, S. L. Factors affecting levels of circulating cell-free fetal DNA in maternal plasma and their implications for noninvasive prenatal testing [Electronic resource] / S. L. Kinnings, J.A. Geis, E. Almasri [et al.] // *Prenat Diagn.* - 2015. –<https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pd.4625>
222. Kladzhieva, M. B. Association of oxidative stress-related genes with idiopathic recurrent miscarriage / M. B. Kladzhieva, N. N. Lutcenko, I. V. Volodin [et al.] // *Free Radical Research.* - 2014. - Vol 48, №5. – P. 534-541.
223. Klingler M. The effect of docosahexaenoic acid and folic acid supplementation on placental apoptosis and proliferation / Klingler M., Blaschitz A. // *Br J Nutr.* – 2006. - Vol.96, №1. – P. 182-90.
224. Koshida, S. Impact of advanced maternal age on adverse infant outcomes: A Japanese population-based study / S. Koshida, H. Arima, T. Fujii [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2019. – Vol. 242. – P. 178-181.
225. Krauskopf, A. L. Predicting SGA neonates using first-trimester screening: influence of previous pregnancy's birthweight and PAPP-A MoM / A. L. Krauskopf, A. J. Knippel, P. E. Verde [et al.] // *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine.* – 2015. – Vol. 29, № 18. – P. 1–19.
226. Krishna, I. Adverse perinatal outcomes are more frequent in pregnancies with a low fetal fraction result on noninvasive prenatal testing / I. Krishna, M. Badell, T. L. Loucks [et al.] // *Prenat Diagn.* – 2016. – Vol. 36, № 3. – P. 210-215.
227. Krishnaveni, G. V. Fall CHD. Maternal B12, folate and homocysteine concentrations and offspring cortisol and cardiovascular

responses to stress / G. V. Krishnaveni, S. R. Veena, M. Johnson et al. // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2020. - Vol. 105, №7. - P. dgz114.

228. Lahti-Pulkkinen, M. Maternal hypertensive pregnancy disorders and mental disorders in children / M. Lahti-Pulkkinen, P. Girchenko, S. Tuovinen [et al.] // *Hipertensionaha.* - 2020. – Vol. 119. – P. 14140.

229. Langmia, I. M. Impact of IL1B gene polymorphisms and interleukin 1B levels on susceptibility to spontaneous preterm birth / I. M. Langmia, Y. D. Apalasy, S. Z. Omar [et al.] // *Pharmacogenet Genomics.* – 2016. – Vol. 26, №11. – P. 505-509.

230. Lee, D. E. Clinical Validation of Non-Invasive Prenatal Testing for Fetal Common Aneuploidies in 1,055 Korean Pregnant Women: a Single Center Experience / D. E. Lee, Kim H., Park J. [et al.] // *J Korean Med Sci.* - 2019. – Vol. 34, №24. – P. e172.

231. Lee, T. J. Cell-free fetal DNA testing in singleton IVF conceptions / T. J. Lee, Rolnik D. L., Menezes M. A. [et al.] // *Hum Reprod.* - 2018. - Vol. 33, № 4. – P. 372-578.

232. LeFevre, N. M. Fetal Aneuploidy: Screening and Diagnostic Testing / N. M. LeFevre, R. L. Sundermeyer // *Am Fam Physician.* – 2020. – Vol. 101, № 8. – P. 481-488.

233. Lei, Y. Association of maternal age with fetal sex chromosome aneuploidies / Y. Lei, M. Dong // *Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2019. – Vol. 48, № 4. – P. 409-413.

234. Lenz, B. The investigation of hereditary and acquired thrombophilia risk factors in the development of complications in pregnancy in Croatian women / B. Lenz, M. Samardzija, D. Drenjacevic [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2016. – Vol. 29, №2. – P. 264-269.

235. Leung, C. Demographic factors that can be used to predict early-onset pre-eclampsia / C. Leung, R. Saaid, L. Pedersen [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* - 2014. – Vol. 28, №5. – P. 535-539. [L
SEP]

236. Li, J. Genetic association between FXIII and β -fibrinogen genes and women with recurrent spontaneous abortion: a meta-analysis / J. Li, H. Wu, Y. Chen [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* - 2015. – Vol. 32, №5. – P. 817-825.
237. Li, X. Meta-analysis of the association between plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and recurrent pregnancy loss / X. Li, Y. Liu, R. Zhang et al. // *Med Sci Monit.* – 2015. – Vol. 21. – P. 1051-6.
238. Li, Y. Association between maternal tumor necrosis factor- α G308A polymorphism and interferon- γ A874T polymorphism and risk of preterm birth: a meta-analysis / Y. Li, C. J. Yao, F. B. Tao [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2015. – Vol. 190. – P. 11-19.
239. Li, Y. The effects of gene polymorphisms in angiotensin II receptors on pregnancy-induced hypertension and preeclampsia: a systematic review and meta-analysis / Y. Li, M. Zhu, R. Hu [et al.] // *Hypertens Pregnancy.* - 2015. – Vol. 34, № 2. – P. 241-260.
240. Lin, S. B. Improved assay performance of single nucleotide polymorphism array over conventional karyotyping in analyzing products of conception / S. B. Lin, Y. J. Xie, Z. Chen [et al.] // *J Chin Med Assoc.* 2015. – Vol. 78, № 7. – P. 408-13.
241. Lin, Y. H. Detection of copy number variants with chromosomal microarray in 10 377 pregnancies at a single laboratory [Electronic resource] / Y. H. Lin, Y. J. Jong, P. C. Huang [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2020. – <https://doi.org/10.1111/aogs.13886>.
242. Liu, C. Serum homocysteine and folate concentrations in early pregnancy and subsequent events of adverse pregnancy outcome: the Sichuan Homocysteine study / C. Liu, D. Luo, Q. Wang [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 176.
243. Liu, T. Progesterone receptor (PROGINS) and +331G/A polymorphisms confer susceptibility to ovarian cancer: a meta-analysis based on 17 studies / T. Liu, L. Chen, X. Sun [et al.] // *Tumour Biol.* – 2014. – Vol. 35, № 3. – P. 2427-36.

244. Lomax, B. Comparative genomic hybridization in combination with flow cytometry improves results of cytogenetic analysis of spontaneous abortions / B. Lomax, S. Tang, E. Separovic [et al.] // *Am J Hum Genet.* – 2000. – Vol. 66, № 5. – P. 1516-21.

245. Luewan, S. Low maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A as a risk factor of preeclampsia / S. Luewan, M. Teja-intr, S. Sirichotiyakul [et al.] // *Singapore Medical Journal.* – 2018. – Vol. 59, № 1. – P. 55–59.

246. Luo, Z. C. Association of pre-eclampsia with SOD2 Ala16Val polymorphism among mother-father-infant triads / Z. C. Luo, P. Julien, S. Q. Wei [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2018. – Vol. 142, № 2. – P. 221-227.

247. Maher, G. M. Hypertensive disorders of pregnancy and risk of neurodevelopmental disorders in the offspring: a systematic review and meta-analysis protocol [Electronic resource] / G. M. Maher, G. W. O'Keeffe, L. C. Kenny et al. // *BMJ open.* – 2017. – Vol. 7, № 10. - e018313. – <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-018313>.

248. Masoumi, Z. Preeclampsia is Associated with Sex-Specific Transcriptional and Proteomic Changes in Fetal Erythroid Cells / Z. Masoumi, G. E. Maes, K. Herten [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2019. – Vol. 20, № 8. - pii: E2038.

249. Mastrolia, S. A. Placental vascular pathology and increased thrombin generation as mechanisms of disease in obstetrical syndromes / S. A. Mastrolia, M. Mazor, G. Loverro [et al.] // *PerrJ.* – 2014. – Vol. 18, № 2. – P. e653.

250. Mastrolia, S.A. The physiologic anticoagulant and anti-inflammatory role of heparins and their utility in the prevention of pregnancy complications / S. A. Mastrolia, M. Mazor, G. Holcberg [et al.] // *Thromb Haemost.* – 2015. – Vol. 113, № 6. – P. 1236-46.

251. McPherson, J. A. Genomics of preterm birth-evidence of association and evolving investigations / J. A. McPherson, T. A. Manuck // *Am J Perinatol.* - 2016. – Vol. 33, № 3. – P. 222-8.

252. Miltoft, C. B. Parental Decisions about Prenatal Screening and

Diagnosis among Infants with Trisomy 21 in a National Cohort with High Uptake of Combined First-Trimester Screening / C. B. Miltoft, C. B. Wulff, S. Kjærgaard [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* – 2016. Vol. 41, №3. – P. 209-214.

253. Minor, K. Enoxaparin effect on pregnancy outcomes in a patient with elevated plasminogen activator inhibitor-1 [Electronic resource] / K. Minor, H. Leftwich // *Case Rep Obstet Gynecol.* – 2020. - <https://www.hindawi.com/journals/crig/2020/7860324/>

254. Mishra, J. Trends of folate, vitamin B₁₂, and homocysteine levels in different trimester of pregnancy and pregnancy outcomes [Electronic resource] / J. Mishra, A. Tomar, M. Puri [et al.] // *Am J Hum Biol.* – 2020. - e23388. - <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31898383/>

255. Modi, B. P. Mutations in fetal genes involved in innate immunity and host defense against microbes increase risk of preterm premature rupture of membranes (PPROM) / B. P. Modi, M. E. Teves, L. N. Pearson [et al.] // *Mol Genet Genomic Med.* – 2017. – Vol. 5, № 6. – P. 720-729.

256. Modi, B. P. Rare mutations and potentially damaging missense variants in genes encoding fibrillar collagens and proteins involved in their production are candidates for risk for preterm premature rupture of membranes / B. P. Modi, M. E. Teves, L. N. Pearson [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12, № 3. – P. e0174356.

257. Mohammad, N. Maternal Predictors of Intrauterine Growth Retardation / N. Mohammad, A. Sohaila, U. Rabbani [et al.] // *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan.* – 2018. – Vol. 28, № 9. – P. 681-685.

258. Mohanraj, P. S. Temporal expression of genes involved in folate metabolism and transport during placental development, preeclampsia and neural tube defects / P. S. Mohanraj, B. Rahat, A. Mahajan Bagga [et al.] // *Mol Biol Rep.* - 2019. – Vol. 46, № 3. – P. 3193-3201.

259. Morgan, L. Update on genetics of preeclampsia. / L. Morgan // *Pregnancy Hypertens.* - 2013. - № 2. – P. 59-60.

260. Morris, R. K. (2017). Association of serum PAPP-A levels in first trimester with small for gestational age and adverse pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis / R. K. Morris, A. Bilagi, P. Devani [et al.] // *Prenatal Diagnosis*. - Vol. 37, № 3. – P. 253–265.

261. Myatt, L. Can changes in angiogenic biomarkers between the first and second trimesters of pregnancy predict development of pre-eclampsia in a low-risk nulliparous patient population? / L. Myatt, R. Clifton, J. Roberts [et al.] // *BJOG*. – 2013. – Vol. 120. – P. 1183e91.

262. Myatt, L. First-trimester prediction of preeclampsia in low-risk nulliparous women / L. Myatt, R. Clifton, J. Roberts [et al.] // *Obstet Gynecol*. – 2012. – Vol. 119. – P. 234e42.

263. Nagaishi, M. Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan / M. Nagaishi, T. Yamamoto, K. Iinuma [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* - 2004. - Vol. 30, № 3.- P. 237-241.

264. Nan, Y. MTHFR genetic polymorphism increases the risk of preterm delivery / Y. Nan, H. Li // *Int J Clin Exp Pathol*. – 2015. – Vol. 8, № 6. – P. 7397-402.

265. Nebert, D. W. Inter-individual susceptibility to environmental toxicants: a current assessment / D. W. Nebert // *Toxicol. Appl. Pharmacol*. – 2005. – Vol. 207. – P. 34–S42.

266. Nicolaides, K. H. A model for a new pyramid of prenatal care based on the 11 to 13 weeks' assessment / K. H. Nicolaides // *Prenat Diagn*. – 2011. – Vol. 31. – P. 3–6.

267. Nicolaides, K. H. Noninvasive prenatal testing for fetal trisomies in a routinely screened first-trimester population / K. H. Nicolaides, A. Syngelaki, G. Ashoor [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2012. – Vol. 207. – P. 374.e1–6.

268. Nikolaides K. H. Validation of targeted sequencing of single-nucleotide polymorphisms for non-invasive prenatal detection of aneuploidy of chromosomes 13, 18, 21, X, and Y / K. H. Nikolaides, A. Syngelaki, M. Gil [et al.] // *Prenat. Diagn*. – 2013. – Vol. 33. – P. 575-9.

269. Noh, J. J. A two-year experience of non-invasive prenatal testing (NIPT) at an urban tertiary medical center in South Korea / J. J. Noh, H. M. Ryu, S. Y. Oh et al. *Taiwanese journal of obstetrics and Gynecology*. – 2019. - Vol. 56, № 4. - P. 545-551.
270. Norton, M. E. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy / M. E. Norton, B. Jacobsson, G. K. Swamy [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2015. – Vol. 372, № 17. – P. 1589-97.
271. Norton, M. Relationship between 1st trimester fetal fraction of cell-free DNA from maternal plasma and preeclampsia in a large general pregnancy population / M. Norton, T. Musci, R. Wapner // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – Vol. 212, № 1. – P. S188.
272. Nowak, I. The methylenetetrahydrofolate reductase c.c. 677 C>T and c.c. 1298 A>C polymorphisms in reproductive failures: experience from RSA and RIF study on a polish population / I. Nowak, A. Bylinska, A. Wilcznska // *PloS One*. – 2017. – Vol. 12, № 10. –P. e0186022.
273. Oliveira, N. External validity of first-trimester algorithms in the prediction of pre-eclampsia ^{[[L]]}_{SEP} disease severity / N. Oliveira, L. E. Doyle, R. O. Atlas [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2014. – Vol. 44. – P. 286e92. ^{[[L]]}_{SEP}
274. Oluwole, A. A. Association between Serum Homocysteine Levels in Preeclampsia and its Severity among Women in Lagos, South-West Nigeria / A. A. Oluwole, C. M. Nwogu, Sekumade A. [et al.] // *West Afr J Med.* – 2020. – Vol. 37, № 1. – P.246-252.
275. Osunkalu, V. O. Methylene tetrahydrofolate reductase and methionine synthase gene polymorphisms as genetic determinants of pre-eclampsia / V. O. Osunkalu, I. A. Taiwo, C. C. Makwe [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* -2020. – Vol. 20. – P. 7-13.
276. Pabalan, N. Association of the progesterone receptor gene polymorphism (PROGINS) with endometriosis: a meta-analysis / N. Pabalan, A. Salvador, H. Jarjanazi [et al.] // *Arch Gynecol Obstet.* – 2014. – Vol. 290. – P. 2015-1022.

277. Palomaki, G. E. The clinical utility of DNA-based screening for fetal aneuploidy by primary obstetrical care providers in the general pregnancy population / G. E. Palomaki, Kloza E. M., O'Brien B. M. [et al.] // *Genetics in Medicine*. – 2017. – Vol. 19. – P. 778-786.
278. Panchalee, T. Clinical performance of DNA-based prenatal screening using single-nucleotide polymorphisms approach in Thai women with singleton pregnancy [Electronic resource] / T. Panchalee, N. Pongvarin, W. Amornrit et al. // *Mol Genet Genomic Med*. – 2020. - <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mgg3.1256>
279. Parra-Cordero, M. Prediction of early and late pre-eclampsia from maternal characteristics, uterine artery Doppler and markers of vasculogenesis during first trimester of pregnancy / M. Parra-Cordero, R. Rodrigo, P. Barja [et al.] // *Ultrasound Obstet. Gynecol*. – 2013. – Vol. 41, № 5. – P. 538-44.
280. Patel, E. M. Temporal trends in maternal medical conditions and still-birth / E. M. Patel, W. H. Goodnight, A. H. James [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. - 2015. - Vol. 212, № 5. - P. 673.
281. Pereza, N. Systematic review and meta-analysis of genetic association studies in idiopathic recurrent spontaneous abortion / N. Pereza, S. Ostojic, M. Kapovic [et al.] // *Fertil Steril*. – 2017. – Vol. 107, № 1. – P. 150-159.
282. Pileri, P. Maternal and fetal thrombophilia in intrauterine growth restriction in the presence or absence of maternal hypertensive disease / P. Pileri, F. Franchi, I. Cetin [et al.] // *Reprod Sci*. – 2010. – Vol. 17, № 9. – P. 844-8.
283. Poon L. C., First-trimester prediction of macrosomia / L. C. Poon, G. Karagiannis, V. Stratieva [et al.] // *Fetal Diagn Ther*. – 2011. – Vol. 29. – P. 139–47. ^[L]_[SEP]
284. Poon, L. C. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy / L. C. Poon, N. A. Kametas, N. Maiz et al. // *Hypertension*. - ^[L]_[SEP]2009. – P. 53:812e8.
285. Poon, L. C. Maternal plasma cell-free fetal and maternal DNA at 11-13 weeks' gestation: relation to fetal and maternal characteristics and pregnancy

outcomes / L. C. Poon, T. Musci, K. Song [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* – 2013. – Vol. 33. – P. 215–23.

286. Poon, L. C. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach / L. C. Poon, N. A. Kametas, T. Chelemen [et al.] // *J Hum Hypertens.* – 2010. – Vol. 24. – P. 104e10. ^[1]_{SEP}

287. Pos, O. Recent trends in prenatal genetic screening and testing [Electronic resource] / O. Pos, J. Budis, T. Szemes // *F1000Res.* – 2019. – Vol. 8. - pii: F1000 Faculty Rev-764. – <https://doi.org/10.12688/f1000research.16837.1>. eCollection 2019.

288. Prager, S. Pregnancy loss (miscarriage): Risk factors, etiology, clinical manifestations, and diagnostic evaluation [Electronic resource] / S. Prager, E. Vicks, V. Datton. – 2020. - <https://www.uptodate.com/contents/pregnancy-loss-miscarriage-risk-factors-etiology-clinical-manifestations-and-diagnostic-evaluation>.

289. Prefumo, F. The contingent use of cell-free fetal DNA for prenatal screening of trisomies 21, 18, 13 in pregnant women within a national health service: A budget impact analysis / F. Prefumo, D. Paolini, G. Speranza [et al.] // *PLoS One.* – 2019. – Vol. 14, № 6. – P. e0218166.

290. Pritchard, A. M. Hereditary thrombophilia and recurrent pregnancy loss / A. M. Pritchard, P. W. Hendrix, M. J. Paidas // *Clin Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 59, № 3. – P. 487-97.

291. Procopciuc, L. M. Maternal/newborn VEGF-C936T interaction and its influence on the risk, severity and prognosis of preeclampsia, as well as on the maternal angiogenic profile / L. M. Procopciuc, G. Caracostea, G. Zaharie et al. // *J matern Fetal Neonatal Med.* – 2014. – Vol. 27, № 17. – P. 1754-60.

292. Prunet, C. Risk factors of preterm birth in France in 2010 and changes since 1995: Results from the French National Perinatal Surveys / C. Prunet, M. Delnord, M. J. Saurel-Cubizolles [et al.] // *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* – 2017. – Vol. 46, № 1. – P. 19-28.

293. Pummara, P. (2016). Association of first-trimester pregnancy-associated plasma protein A levels and idiopathic preterm delivery: A population-based screening study / P. Pummara, T. Tongsong, C. Wanapirak [et al.] // *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 2016. – Vol. 55, № 1. – P. 72–75.
294. Pylyp, L. Y. Chromosomal abnormalities in products of conception of first-trimester miscarriages detected by conventional cytogenetic analysis: a review of 1000 cases / L. Y. Pylyp, L. O. Spynenko, N. V. Verhoglyad [et al.] // *J Assist Reprod Genet*. – 2018. - Vol. 35, № 2. – P. 265-271.
295. Qiao, L. Sequencing of short cfDNA fragments in NIPT improves fetal fraction with higher maternal BMI and early gestational age / L. Qiao, Q. Zhang, Y. Liang [et al.] // *Am J Transl Res*. – 2019. – Vol. 11, № 7. – P. 4450–4459.
296. Quaranta, M. The physiologic and therapeutic role of heparin in implantation and placentation / M. Quaranta, O. Erez, S. A. Mastrolia [et al.] // *Peer J*. – 2015. – Vol. 3. – P. e691.
297. Quibel, T. In utero fetal death / T. Quibel, T. Bultez, J. Nizard [et al.] // *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. – 2014. – Vol. 43, № 10. – p. 883-907.
298. Quibel, T. What are the real purpose and scope of screening for aneuploidy? / T. Quibel, Rozenberg P. // *Gynecol Obstet Fertil Senol*. – 2018. – Vol. 46, № 2. – P. 124-129.
299. Rath, W. Hereditary trombophilias and placental mediated pregnancy complications in the II/III trimester / W. Rath, Thaler C. J. // *Hämostaseologie*. – 2013. - № 3. – P. 21-36.
300. Recurrent pregnancy loss : Guideline of the European Society of Reproducrion and Embryology [Electronic resource] / European Society of Reproducrion and Embryology early pregnancy development group. - 2017. – eshre.eu/guidelines-and-legal/guidelines/

301. Reddy, U. M. Prepregnancy risk factors for antepartum stillbirth in the United States / U. M. Reddy, S. K. Laughon, L. Sun [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 116, № 5. – P. 1119-1126.
302. Reddy, U. M. Karyotype versus microarray testing for genetic abnormalities after stillbirth / U. M. Reddy, G. P. Page, G. R. Saade [et al.] // *N Engl J Med.* – 2012. – Vol. 367. – P. 2185–2193.
303. Reddy, U. M. The role of DNA microarrays in the evaluation of fetal death / U. M. Reddy, G. P. Page, G. R. Saade // *Prenat Diagn.* - 2012. – Vol. 32. – P. 371–375. [SEP]
304. Reshetnikov, E. Genetic markers for inherited thrombophilia are associated with fetal growth retardation in the population of Central Russia / E. Reshetnikov, O. Zarudskaya, A. Polonikov [et al.] // *J Obstet Gynaecol Res.* - 2017. – Vol. 43, №7. – P. 1139-1144.
305. Reshetnikov, E. The VNTR polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and blood pressure in women at the end of pregnancy / E. Reshetnikov, I. Ponomarenko, O. Golovchenko [et al.] // *Taiwan J Obstet Gynecol.* - 2019. – Vol. 58, № 3. – P. 390-395.
306. Roberge, S. Early administration of low-dose aspirin for the prevention of preterm and term preeclampsia: a systematic review and meta-analysis / S. Roberge, P. Villa, K. Nicolaides [et al.] // *Fetal Diagn Ther* 2012;31:141–6.
307. Robinson, W. P. Assessing the role of placental trisomy in preeclampsia and intrauterine growth restriction / W. P. Robinson, M. S. Peñaherrera, R. Jiang // *Prenat Diagn.* – 2010. – Vol. 30. – P. 1-8.
308. Rolnik, D. L. Association between fetal fraction on cell-free DNA testing and first trimester markers for preeclampsia / D. L. Rolnik, F. da Silva Costa, T. J. Lee [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol. 52, № 6. – P. 722-727.
309. Romero, R. Prenatal medicine: The child is the father of the man / R. Romero // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2009. – Vol. 22, № 8. – P. 636-639.

310. Sacco, A. Women's choices in non-invasive prenatal testing for aneuploidy screening: results from a single centre prior to introduction in England / A. Sacco, H. Hewitt, P. Pandya // *Arch Dis Child* – 2020. – Vol. 105, №1. – P. 47-52.
311. Sagi-Dain, L. Risk for chromosomal aberrations in apparently isolated intrauterine growth restriction: A systematic review / L. Sagi-Dain, A. Peleg, S. Sagi // *Prenatal Diagnosis*. – 2017. – Vol. 37, № 11. – P. 1061–1066.
312. Sahoo, T. Comprehensive genetic analysis of pregnancy loss by chromosomal microarrays: outcomes, benefits and challenges / T. Sahoo, N. Dzidic, M. N. Strecker [et al.] // *Genet Med*. – 2016. – Vol. 19, № 1. – P. 83-89.
313. Sandoval-Carrillo, A. Polymorphisms in the GSTT1 and GSTM1 genes are associated with increased risk of preeclampsia in the Mexican mestizo population / A. Sandoval-Carrillo, M. Aguilar-Duran, F. Vázquez-Alaniz [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2014. – Vol. 13, № 1. - P. 2160-5.
314. Satra. M. Sequence variations in the FII, FV, F13A1, FGB and PAI-1 genes are associated with differences in myocardial perfusion / M. Satra., M. Samara, G. Wozniak [et al.] *Pharmacogenomics*. - 2011. – Vol. 12, № 2. – P. 195-203.
315. Say, L. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis / L. Say, S. C. Robson, T. U. Kelly [et al.] // *Lancet*. – 2014 –Vol. 2., № 6. – P. 323-333.
316. Scazzocchio, E. Performance of a first-trimester screening of preeclampsia in a routine care low-risk setting / E. Scazzocchio, F. Figueras, F. Crispi [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. - 2013. – Vol. 208. – P. 203.e1-203.e10. [SEP]
317. Scott, F. P. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction and the consequences for test accuracy / F. P. Scott, M. A. Menezes, R. Palma-Dias [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med*. – 2018. – Vol. 31, №14. – P. 1865-1872.
318. Serimac-Mrozikiewicz, A. The importance of MTHFR, MTR, MTRR and CSE expression levels in Caucasian women with preeclampsia / A. Serimac-

Mrozikiewicz, A. Bogacz, J. Bartkowiak-Wieczorek [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2015. – Vol. 188. – P. 113-7.

319. Shah, M. S. Comparison of cytogenetics and molecular karyotyping for chromosome testing of miscarriage specimens / M. S. Shah, C. Cinnioglu, M. Maisenbacher [et al.] // *Fertil Steril.* – 2017. – Vol. 107, № 4. – P. 1028-1033.

320. Sharp, A. N. First trimester screening can predict adverse pregnancy outcomes / A. N. Sharp, Z. Alfirovic // *Prenat Diagn.* – 2014. – Vol. 34. – P. 660–7.

321. Sheikh, I. A. Spontaneous preterm birth and single nucleotide gene polymorphisms: a recent update / I. A. Sheikh, E. Ahmad, M. S. Jamal [et al.] // *BMC Genomics.* – 2016. – Vol. (Suppl 9). – P. 759.

322. Shi, X. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis / X. Shi, X. Xie, Y. Jia [et al.] // *Clin Genet.* – 2017. – Vol. 91, № 2. – P. 265-284.

323. Simionescu, A. A. Missed down syndrome cases after first trimester false-negative screening – lessons to be learned / A. A. Simionescu, A. M. A. Stanescu // *Medicina (Kaunas).* - 2020. Vol. 56, № 4. – P. E199.

324. Sokol, J. Glycoprotein VI Gene Variants Affect Pregnancy Loss in Patients With Platelet Hyperaggregability / J. Sokol, M. Skerenova, K. Biringer [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost.* – 2018. – Vol. 24 (9_suppl). – P. 202S-208S.

325. Sonek, J. D. (2016). Inverted Pyramid of Care / J. D. Sonek, K. O. Kagan, K. H. Nicolaides // *Clinics in Laboratory Medicine.* – Vol. 36, № 2, P. 305–317

326. Sonek, J. D. What will be the role of first-trimester ultrasound if cell-free DNA screening for aneuploidy becomes routine? / J. D. Sonek, H. S. Cuckle // *Ultrasound Obstetrics Gynecol.* – 2014. – Vol. 44. – P. 621–30.

327. Stipoljev, F., Latin V., Kos M. et al. Correlation of confined placental mosaicism with fetal intrauterine growth retardation. A case control study of placentas at delivery / *Fetal Diagn Therapy.* – 2001. – Vol. 16. – P. 4-9

328. Stojanovska, V. Double-hit pre-eclampsia model results in sex-specific growth restriction patterns / V. Stojanovska, Dijkstra D. J., Vogtmann R. et al. // *Dis Model Mech.* – 2019. – Vol. 12, № 2. - dmm035980.
329. Strauss, J. F. Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition / J. F. Strauss, R. Romero, N. Gomez-Lopez [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol. 218, № 3. – P. 294-314.
330. Su, M. T. Association of progesterone receptor polymorphism with idiopathic recurrent pregnancy loss in Taiwanese Han population / M. T. Su, I. W. Lee, Y. C. Chen [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2011. - Vol. 28, № 3. – P. 239-43.
331. Sureshchandra, S. Inflammatory determinants of pregravid obesity in placenta and peripheral blood / S. Sureshchandra, Mardhall N. E., Wilson R. M. [et al.] // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1089.
332. Suzuki, K. Haplotype analysis of coagulation factor VII gene in a patient with congenital coagulation factor VII deficiency with heterozygous p.Arg337Cys Mutation and o.Aro413Gin Polymorphism / K. Suzuki, T. Yoshioka, T. Obara [et al.] // *Rinsho Byori.* – 2016. – Vol. 64, № 4. – P. 380-386.
333. Suzumori, N. Fetal cell-free DNA fraction in maternal plasma for the prediction of hypertensive disorders of pregnancy / N. Suzumori, A. Sekizawa, T. Ebera [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* – 2018. - Vol. 224. – P. 165-169.
334. Sweeting, A. The first trimester: Prediction and prevention of the great obstetrical syndromes / A. Sweeting, F. Park, J. Hyett // *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology.* - 2015. - Vol. 29, № 2. – P. 183-93.
335. Szumska, M. Pregnancy-Associated Plasma Protein A (PAPP-A) Concentration in Population of Healthy Young People: Interactions with Tobacco Smoke and Anti-oxidative Status / M. Szumska, A. Damasiewicz, A. Bodze, [et al.] // *Cardiovasc Toxicol.* – 2018. – Vol. 18. – P. 1 – 9.

336. Taddei, C. R. Microbiome in normal and pathological pregnancies: A literature overview / C. R. Taddei, R. V. Cortez, R. Mattar [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. - Vol. 80, № 2. – P. :e12993.
337. Taylor B. D. The impact of female fetal sex on preeclampsia and the maternal immune milieu / B. D. Taylor, R. B. Ness, M. A. Klebanoff [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2018. – Vol. 12. – P. 53-57.
338. Taylor, B. D. Fetal sexual dimorphism in systemic soluble fms-like tyrosine kinase 1 among normotensive and preeclamptic women / B. D. Taylor, C. L. Haggerty, R. B. Ness [et al.] // *Am J Reprod Immunol.* – 2018. – Vol. 80, № 5. – P. e13034.
339. Teimoori, B. The effect of GPx-1 rs1050450 and MnSOD rs4880 polymorphisms on PE susceptibility: a case- control study / B. Teimoori, M. Moradi-Shahrehabak, M. Razavi [et al.] // *Mol Biol Rep.* - 2019. – Vol. 46, №6. – P. 6099-6104.
340. Tian, Q. X. Comprehensive analysis of the differential expression profile of microRNAs in missed abortion / Q. X. Tian, S. H. Xia, Y. H. Wu [et al.] // *Kaohsiung J Med Sci.* – 2019. - Vol. 36, № 2. – P. 114-121.
341. Trifonova, E. A. The interaction effect of angiogenesis and endothelial dysfunction-related gene variants increases the susceptibility of recurrent pregnancy loss / E. A. Trifonova, M. G. Swarovskaya, O. A. Ganzha [et al.] // *J Assist Reprod Genet.* – 2019. – Vol. 36, № 4. – P. 717-726.
342. Tsyvian, P. B. Leftventricular isovolumic relaxation and rennin-angiotensin system in the growth restricted fetus / P. B. Tsyvian, T. V. Markova, S. V. Mikhailova [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* - 2008. Vol. 140, № 1. - P. 33.
343. Umesawa, M. Epidemiology of hypertensive disorders in pregnancy: prevalence, risk factors, predictors and prognosis / M. Umesawa, G. Kobashi // *Hypertens Res.* – 2017. - Vol. 40, № 3. – P.213-220.

344. Uzunm, A. Targeted sequencing and meta-analysis of preterm birth / A. Uzunm, J. Schuster, B. McGonnigal [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, № 5. – P. e0155021.
345. Van Opstal, D. Placental studies elucidate discrepancies between NIPT showing a structural chromosome aberration and a differently abnormal fetal karyotype / D. van Opstal, S. van Veen, M. Joosten [et al.] // Prenat Diagn. – 2019. - Vol. 39, № 11. – P. 1016-1025.
346. Venous thromboembolism, thrombophilia, antitrombotic therapy and pregnancy: American college of Chest Physicians Evidence-based Clinical Practice Guidelines (9th edition) / S. M. Bates, I. A. Greer, I. Padinger [et al.] // Chest. 2012. – Vol. 141 (2): e691S-736S.
347. Verma, I. C. ACMG 2016 Update on Noninvasive Prenatal Testing for Fetal Aneuploidy: Implications for India / I. C. Verma, R. Dua-Puri, S. Bijarnia-Mahay // J Fetal Med. – 2017. – Vol. 4, № 1. – P. 1-6.
348. Wang, B. J. Association between SNPs in genes involved in folate metabolism and preterm birth risk / B. J. Wang, M. J. Liu, Y. Wang [et al.] // Genet Mol Res. – 2015. – Vol. 14, № 1. – P. 850-9.
349. Wang, X. X. Placental microbiota and pregnancy / X. X. Wang, K. Huang, F. B. Tao // Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. - 2019. Vol. 53, № 6. – P. 633-637.
350. Wapner, R. J. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis / R. J. Wapner, C. L. Martin, B. Levy [et al.] // N Engl J Med. – 2012. – Vol. 367. – P. 2175-84.^[SEP]
351. Wataganara, T. Placental volume, as measured by 3-dimensional sonography and levels of maternal plasma cell-free fetal DNA / T. Wataganara, M. Metzenbauer, I. Peter [et al.] // Am J Obstet Gynecol. - 2005. – Vol. 193. – P. 496-500.
352. WHO Guideline: Daily iron and folic acid supplementation in pregnant women [Electronic resource] / World Health Organization. – 2012. – http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/77770/1/9789241501996_eng.pdf

353. WHO recommendations for the prevention and management of tobacco use and second-hand smoke exposure in pregnancy [Electronic resource] / Tobacco free initiative. - 2013. - 104 p. - <https://www.who.int/tobacco/publications/pregnancy/guidelinstobaccosmokeexposure/en/>
354. Wong, L. F. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery / L. F. Wong, J. Wilkes, K. Korgenski [et al.] // BJOG. - 2016. - Vol. 123, № 11. - P. 1772-8.
355. Workalemahu, T. Genetic variations and risk of placental abruption: A genome-wide association study and meta-analysis of genome-wide association studies / T. Workalemahu, D. A. Enquobahrie, Gelaye B. [et al.] // Placenta. - 2018. - Vol. 66. - P. 8-16.
356. Wright, D. A. competing risks model in early screening for preeclampsia / D. A. Wright, R. Akolekar, A. Syngelaki [et al.] // Fetal Diagn Ther. - 2012. - Vol. 32. - P. 171-8. ^[L]_[SEP]
357. Wu, H. Genetic polymorphism of MTHFR C677T with preterm birth and low birth weight susceptibility: a meta-analysis / H. Wu, P. Zhu, X. Geng [et al.] // Arch Gynecol Obstet. - 2017. - Vol. 295, № 5. - P. 1105-11.
358. Xu, L. Non-invasive cell-free fetal DNA testing: a multicenter follow-up study of 31515 singleton pregnancies in southeastern China / L. Xu, Huang H., Lin N. [et al.] // Ultrasound Obstet Gynecol. - 2020. - Vol. 55, № 2. - P. 242-247.
359. Yin, Y. Association between estrogen receptor beta gene polymorphisms in Chinese Uygur patients and intrahepatic cholestasis of pregnancy / Y. Yin, F. Li, D. M. Wang // Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Za Zhi. - 2012. - Vol. 29, № 3. - P. 319-22.
360. Ying, X. Non- invasive prenatal testing to detect chromosome aneuploidies in 57,204 pregnancies / X. Ying, Z. Guodong, L. Hong [et al.] // Mol Cytogenet. - 2019. - № 12. - P. 29.
361. Yuan, H. Application of chromosomal microarray analysis for a cohort of Chinese patients with spontaneous miscarriage / H. Yuan, M. Chen, X.

Deng [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* – 2016. - №33 (4). – P. 442-446.

362. Yuan, X. Early second-trimester plasma cell free DNA levels with subsequent risk of pregnancy complications / X. Yuan, L. Zhou, B. Zhang [et al.] // *Clinical biochemistry.* – 2019. - Vol. 71. – P. 46-51.

363. Zahumensky, J. The importance of maternal microbiome in pregnancy / J. Zahumensky, J. Hederlingova, P. Psenkova // *Ceska Gynekol.* – 2017. – Vol. 82, № 3. – P. 211-217.

364. Zhang, H. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies / H. Zhang, Y. Gao, F. Jiang [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol. 45. – P. 530–538.

365. Zhang, J. Placental anti-oxidant gene polymorphisms, enzyme activity, and oxidative stress in preeclampsia / J. Zhang, M. Masciocchi, D. Lewis // *Placenta.* – 2008. – Vol. 95, № 5. - P. 439-443.

366. Zhang, L. M. Comparison of the etiological constitution of two and three or more recurrent miscarriage / L. M. Zhang, Y. N. Yang, R. X. Zhang [et al.] // *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* – 2018. – Vol. 53, № 12. – P. 855-859.

367. Zhao, X. Gene polymorphism associated with endothelial nitric oxide synthase (4VNTR, G894T, C786T) and unexplained recurrent spontaneous abortion risk: A meta-analysis / X. Zhao, Q. Li, F. Yu [et al.] // *Medicine (Baltimore).* - 2019. – Vol. 98, № 4. – P. e14175

368. Zheng, L. The effect of folic acid throughout pregnancy among pregnant women at high risk of pre-eclampsia: A randomized clinical trial / L. Zheng, J. Huang, H. Kong [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* – 2020. – Vol. 19. – P. 253-258.

369. Zhou, L. Association of gene polymorphisms of FV, FII, MTHFR, Serpine1, CTL4A, IL10, and TNF alpha with pre-eclampsia in Chinese women / L. Zhou, L. Cheng, Y. He [et al.] // *Inflamm Res.* – 2016. – Vol. 65, № 9. – P. 717-24.

370. Zhou, L. Combination of Genetic Markers and Age Effectively Facilitates the Identification of People with High Risk of Preeclampsia in the Han Chinese Population [Electronic resource] / L. Zhou, X. Hui, H. Yuan [et al.] // Biomed Res Int. – 2018. - Article ID 4808046. – <https://doi.org/10.1155/2018/4808046>.