

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Белоусова Вера Сергеевна

**Преждевременные роды:
патогенез, прогнозирование, акушерская тактика**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

Диссертация
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Научный консультант:
доктор медицинских наук,
профессор, академик РАН
Стрижаков Александр Николаевич

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Глава 1. СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА, ДИАГНОСТИКА И ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ (обзор литературы)	18
1.1. Медико-социальные аспекты преждевременных родов.....	18
1.2. Перинатальные и отдаленные исходы преждевременных родов	20
1.3. Факторы риска преждевременных родов	25
1.4. Звенья патогенеза преждевременных родов	27
1.4.1. Активация гипоталамо-гипофизарной системы.....	28
1.4.2. Преждевременные роды, вызванные различными осложнениями беременности или хроническими заболеваниями матери.....	28
1.4.3. Роль инфекции в патогенезе преждевременных родов	29
1.4.4. Спонтанные преждевременные роды.....	34
1.5. Цитокины в патогенезе преждевременных родов.....	36
1.5.1. Значение цитокинов во время беременности.....	36
1.5.2. Фактор некроза опухолей (<i>TNF-α</i>).....	38
1.5.3. <i>IL-1β</i> и антагонист рецептора <i>IL-1 (IL-1Ra)</i>	38
1.5.4. <i>IL-4</i>	39
1.5.5. Полиморфизмы генов цитокинов в генезе преждевременных родов	40
1.6. Toll-подобные рецепторы и их роль в патогенезе преждевременных родов.....	44
1.6.1. Структура toll-подобных рецепторов.....	44
1.6.2. Лиганды toll-подобных рецепторов.....	45
1.6.3. Функционирование toll-подобных рецепторов.....	47
1.6.4. TLRs-связанная терапия.....	48
1.6.5. Роль toll-подобных рецепторы во время беременности.....	49
1.7. Апоптоз плаценты и его значение в генезе преждевременных родов.....	51
1.7.1. Апоптоз и его регуляция.....	51

1.7.2. Значение апоптоза плаценты во время беременности.....	54
1.8. Современные подходы к диагностике и ведению преждевременных родов.....	55
1.8.1. Диагностика преждевременных родов	55
1.8.2. Профилактика РДС плода.....	58
1.8.3. Токолитическая терапия.....	58
1.8.4. Антибиотикопрофилактика и антибиотикотерапия при преждевременных родах.....	67
1.9. Акушерская тактика при преждевременных родах.....	69
1.10. Профилактика преждевременных родов.....	73
1.10.1. Значение прогестерона для профилактики преждевременных родов	73
1.10.2. Тактика при укорочении шейки матки.....	75
1.10.3. Использование аспирина для профилактики преждевременных родов.....	77
1.11. Ведение беременности и родов у женщин с преждевременными родами в анамнезе.....	78
Глава 2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БЕРЕМЕННЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	82
2.1 Дизайн исследования.....	82
2.2 Клиническая характеристика женщин исследуемых групп	86
2.2.1. Ретроспективное исследование.....	86
2.2.2. Проспективное исследование.....	93
2.3 Методы исследования.....	96
2.3.1. Изучение полиморфизма генов провоспалительных цитокинов.....	96
2.3.2. Исследование toll-подобных рецепторов.....	97
2.3.3. Оценка маркеров апоптоза плаценты.....	98
2.4. Статистический анализ.....	98
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	101
3.1. Результаты проспективного исследования.....	102
3.1.1. Результаты исследования полиморфизма генов провоспалительных цитокинов.....	102

3.1.2. Результаты изучения экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала.....	110
3.1.3. Оценка экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP в плаценте при преждевременных и своевременных родах.....	115
3.2. Результаты ретроспективного исследования.....	127
3.2.1. Изучение оптимальной тактики родоразрешения при преждевременных родах.....	135
3.2.1.1. Перинатальные исходы на сроках 34-36 недель 6 дней.....	136
3.2.1.2. Перинатальные исходы на сроках 31-33 недель 6 дней.....	137
3.2.1.3. Перинатальные исходы на сроках 28-30 недель 6 дней.....	138
3.3. Внедрение полученных результатов в практическое здравоохранение.....	141
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	152
4.1. Обсуждение результатов проспективного исследования.....	155
4.1.1. Обсуждение результатов изучения полиморфизма генов цитокинов.....	157
4.1.2. Обсуждение полученных результатов экспрессии toll-подобных рецепторов.....	164
4.1.3. Обсуждение результатов изучения апоптоза в плаценте.....	168
4.2. Обсуждение результатов ретроспективного исследования.....	172
4.2.1. Обсуждение перинатальных исходов преждевременных родов и мер по их улучшению.....	172
4.2.2. Обсуждение тактики родоразрешения при преждевременных родах.....	180
4.3. Обсуждение результатов внедрения разработанного алгоритма ведения беременности и родов у женщин группы риска преждевременных родов	183
ВЫВОДЫ.....	187
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	190
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	193
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	195

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Преждевременные роды (ПР) остаются одной из самых актуальных проблем современного акушерства [1-5]. Частота ПР в мире составляет около 11% с колебаниями от 5% в некоторых странах Европы до 18% в Африке [6].

Ежегодно в мире рождается около 15 миллионов недоношенных детей [1]. В РФ каждый год на свет появляется около 100 тысяч преждевременно рожденных [7].

ПР являются серьезной медико-социальной проблемой в связи с тем, что среди недоношенных новорожденных очень высока перинатальная смертность, которая на сроках до 28 недель беременности достигает 380‰, что в 156 раз выше, чем при доношенной беременности [8]. Но не только высокая перинатальная смертность делает ПР важной медико-социальной проблемой. Перинатальная и детская заболеваемость среди недоношенных также очень высоки. Так, около 50% детей, рожденных с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ), имеют тяжелую инвалидность, связанную с ДЦП, потерей слуха и/или зрения, нарушениями когнитивного развития [9; 10]. В последующем при обучении эти дети имеют серьезные трудности с освоением материала, что требует специализированного обучения [11-13]. Среди детей, рожденных с очень низкой массой тела (ОНМТ), отдаленные исходы несколько лучше, однако 36% из них имеют те или иные неврологические нарушения к 5 годам и нуждаются в специализированной медицинской помощи (логопед, психолог, психиатр) [14]. Даже у детей, рожденных на относительно благоприятных сроках гестации 33-36 недель, неонатальная заболеваемость в 7 раз выше, чем у доношенных детей (22% и 3% соответственно).

Согласно данным ВОЗ за последние 20 лет отмечается тенденция увеличения частоты ПР в мире. Осложнения ПР являются основной причиной смерти детей в возрасте до 5 лет; из-за них в 2015 г. умерло около 1 миллиона человек. С целью уменьшения числа ПР в мире, а также улучшения перинатальных и отдалённых

исходов ПР, в 2015 году ВОЗ разработало ряд рекомендаций для стран «О мерах по улучшению исходов преждевременных родов». В них говорится о необходимости стимулировать проведение исследований причин преждевременных родов, а также подходов к родоразрешению при ПР и их эффективности, регулярного обновления клинических руководств по ведению беременных с ПР, а также руководств по уходу за недоношенными детьми, кормления детей с низкой массой тела при рождении, лечения инфекций и респираторных заболеваний у недоношенных [15].

В настоящее время многое сделано для снижения частоты ПР. Выделены факторы риска, установлены диагностические критерии ПР, определены препараты, рекомендованные для проведения токолиза и профилактики респираторного дистресса синдрома (РДС) плода [16-18]. Однако подход к токолитической терапии и ведению ПР существенно отличаются в разных странах мира [16; 19-22]. Кроме того, большинство препаратов, рекомендованных для проведения токолиза, действуют уже на конечное звено патогенеза ПР – на маточные сокращения и потому, к сожалению, не всегда оказываются эффективными. Тактика ведения ПР также является дискуссионным вопросом. Среди акушеров-гинекологов нет единого мнения о том, какой метод родоразрешения оптимален при ПР – кесарево сечение или роды через естественные родовые пути. И у того, и у другого много сторонников, убежденных в своей правоте [23-26].

Основными причинами ПР являются преждевременное излитие околоплодных вод (20-30%), которое в большинстве своем связано с наличием инфекции в мочеполовой системе; тяжелыми состояниями матери и/или плода (20-30%), а также спонтанным началом родовой деятельности (40-50%) [17]. Именно спонтанные ПР представляют в настоящее время большой интерес для изучения. Изучение патогенеза спонтанных ПР, понимание возможных механизмов запуска преждевременной родовой деятельности позволит разработать предгравидарную подготовку женщины для избежания ПР, проводить профилактику ПР, в случае появления клиники ПР определить оптимальную тактику их ведения, выбирая патогенетически обоснованную терапию.

В настоящее время большинство исследователей считают, что преждевременные роды - это процесс воспалительной этиологии, так как при ПР в миометрии, околоплодных водах, шейке матки и пуповинной крови определяется высокая концентрация провоспалительных цитокинов и *TNF- α* [27-32]. Однако при спонтанных ПР, когда исключен инфекционный генез запуска воспалительного процесса в маточно-плацентарном комплексе, остаётся непонятным, что и в какой момент запускает процесс воспаления.

Поэтому целью нашего исследования было изучить возможные звенья патогенеза спонтанных ПР. Как уже говорилось выше, при спонтанных ПР в маточно-плацентарном комплексе выявляется высокая концентрация провоспалительных цитокинов. Цитокины являются полипептидами, а их синтез всегда начинается с транскрипции гена [33]. Гены могут мутировать и в результате их мутаций формируются полиморфизмы генов. В настоящее время известно о множестве полиморфизмов генов цитокинов, большинство из которых являются однонуклеотидными (англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) [34-36]. При различных патологических процессах воспалительной этиологии доказана роль полиморфизмов генов цитокинов, и в том числе при преждевременном прерывании беременности [34; 37-42]. Наличие полиморфизмов генов цитокинов приводит к их повышенной выработке во время беременности в маточно-плацентарном комплексе (МПК), что ведет к активной выработке простагландинов и началу родовой деятельности. И зная о том, что женщина является носителем таких полиморфизмов, возможно будет использовать препараты, снижающие продукцию цитокинов (например, нестероидные противовоспалительные препараты) заранее, до реализации активного воспалительного процесса в МПК и начала ПР. Поэтому одной из задач нашего исследования было изучение полиморфизма генов ряда цитокинов и их вклад в развитие ПР. Кроме того, одна и та же пациентка может быть носителем полиморфизма генов сразу нескольких цитокинов. Для нас представляло интерес изучение сочетания полиморфизмов генов нескольких цитокинов и его влияние на возникновение и течение ПР. Мы предполагали, что

сочетание полиморфизмов генов нескольких цитокинов у одной и той же пациентки может привести к повышенной продукции этих нескольких провоспалительных цитокинов. Это может быть причиной более активного воспалительного процесса в МПК, и как следствие, более раннего прерывания беременности и резистентности к токолитической терапии.

Также одним из возможных механизмов активной выработки провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе может быть повышенная экспрессия toll-подобных рецепторов (TLRs), роль которых в генезе ПР, вызванных инфекцией, уже не вызывает сомнений [43-45]. Toll-подобные рецепторы – это класс клеточных рецепторов, через которые активируется клеточный иммунный ответ [46]. Во время беременности большое количество TLRs экспрессируется в трофобласте, клетках слизистой цервикального канала, где они выполняют роль высокоспецифичного барьера, защищающего плод от инфекции. При действии лигандов на TLRs генерируется активационный сигнал, что в конечном итоге сопровождается выработкой провоспалительных цитокинов [47]. Поэтому одной из задач нашего исследования было оценить экспрессию toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала при спонтанных ПР, когда по данным клинико-лабораторного исследования будет исключен инфекционный генез ПР. Это необходимо для понимания патогенеза спонтанных ПР и патогенетического подхода к их лечению. Особый интерес в настоящее время представляет создание новых лекарственных препаратов, воздействующих на систему toll-подобных рецепторов. Подавление активности этих рецепторов с помощью лекарственных препаратов является новым направлением в лечении аллергии, аутоиммунной патологии, воспаления [45; 48-50].

При спонтанных ПР, когда исключен инфекционный фактор, остается открытым вопрос о том, что может являться пусковым моментом для активирования toll-подобных рецепторов. Поэтому нами была выдвинута гипотеза, что одним из возможных триггерных механизмов ПР может быть преждевременный апоптоз плаценты. Понимая, что с завершением беременности

плацента полностью завершает свое функционирование, у нас возникла идея изучить апоптоз в плаценте при своевременных и при преждевременных родах. Возможно, чрезмерная и/или преждевременная активизация процесса апоптоза в плаценте является триггером для запуска преждевременной родовой деятельности. Различные структуры, образующихся при повреждении тканей, такие как (фибронектин, фибриноген, ДНК, РНК, белки теплового шока, дефенсины и др.), могут являться лигандами для TLRs. И в результате активации последних, происходит активная выработка провоспалительных цитокинов и запуск процесса стерильного воспаления [51]. Изучение процесса апоптоза клеток плаценты во время беременности, при своевременных и преждевременных родах, поможет понять звенья патогенеза развития преждевременной родовой деятельности и воздействовать на это.

Таким образом, проведение исследований, направленных на понимание патогенеза спонтанных ПР, позволит разработать и обосновать алгоритм предгравидарной подготовки, профилактики ПР, ведения беременности у женщин группы риска ПР, а также оптимальной тактики родоразрешения при преждевременных родах с целью снижения перинатальной заболеваемости и смертности, а также отдаленных последствий при данной патологии.

Цель и задачи исследования

Целью настоящего исследования является разработка патогенетически обоснованного подхода к профилактике, ведению беременности и родоразрешению при спонтанных преждевременных родах на основании изучения механизмов их развития для снижения частоты ПР, улучшения перинатальных и отдаленных исходов ПР.

Для осуществления поставленной цели сформулированы следующие **задачи**:

1. Провести ретроспективное исследование историй беременности и родов пациенток с преждевременным прерыванием беременности для

выявления основных причин и перинатальных исходов преждевременных родов в зависимости от этиологии, срока и тактики родоразрешения;

2. Исследовать полиморфизмы генов цитокинов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra*, *IL-4* у пациенток со спонтанными преждевременными родами и выявить влияние этих полиморфизмов на течение беременности и сроки ее прерывания;
3. Изучить влияние ассоциации выявленных полиморфных маркеров генов цитокинов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra*, *IL-4* на исходы беременности;
4. Определить количественную экспрессию генов toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4 и TLR 9) клетками слизистой цервикального канала у женщин с угрожающими спонтанными ПР для их прогнозирования;
5. Определить патогенетическую и клиническую значимость выявленных изменений уровней экспрессии генов toll-подобных рецепторов клетками слизистой цервикального канала;
6. Исследовать апоптоз плаценты при преждевременных и своевременных родах на основании оценки экспрессии генов каспазы-3, каспазы-8 и ингибитора апоптоза XIAP клетками плаценты;
7. Определить патогенетическое и клиническое значение апоптоза плаценты как триггерного механизма спонтанных преждевременных родов;
8. На основании полученных данных о наличии полиморфизмов генов цитокинов, уровня экспрессии генов toll-подобных рецепторов клетками цервикального канала и активности апоптоза в плаценте при спонтанных преждевременных родах установить основные звенья патогенеза преждевременного развития родовой деятельности;
9. Основываясь на данных ретроспективного анализа перинатальных исходов ПР в зависимости от метода родоразрешения, определить оптимальную тактику ведения преждевременных родов на различных сроках гестации;

10. На основании полученных данных разработать патогенетически обоснованный алгоритм предгравидарной подготовки, профилактики и ведения беременности у женщин группы риска ПР;
11. Обосновать выбор токолитической терапии и рациональной тактики родоразрешения при спонтанных ПР с целью снижения частота преждевременных родов, особенно экстремально ранних и ранних ПР, снижения перинатальной заболеваемости и смертности и улучшения отдаленных исходов ПР.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение основных звеньев патогенеза спонтанных преждевременных родов для разработки алгоритма предгравидарной подготовки, профилактики, ведения беременности и тактики родоразрешения женщин группы риска ПР.

Изучены полиморфизмы генов цитокинов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra*, *IL-4* у пациенток со спонтанными преждевременными родами: определена патогенетическая роль этих полиморфизмов в генезе спонтанных ПР, их влияние на течение беременности и сроки ее прерывания. Впервые изучено влияние сочетания полиморфизмов генов цитокинов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra*, *IL-4* на течение беременности и сроки ее прерывания. Установлено, что полиморфизмы генов цитокинов *IL-1 β -3953C/T*, *IL-1Ra VNTR (интрон 2)* и *IL-4 VNTR (интрон 3)* являются факторами риска ПР. Сочетание полиморфизмов генов нескольких цитокинов статистически значимо повышает риск ПР, особенно ранних и экстремально ранних ПР.

Впервые изучена экспрессия ряда toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4 и TLR 9) эпителием шейки матки при спонтанных ПР и ее значимость в патогенезе преждевременных родов. Определено значение toll-подобных рецепторов в механизме активной выработки провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе при спонтанных ПР.

Впервые исследован апоптоз в плаценте во время беременности, в начале и в исходе преждевременных и своевременных родов на основании изучения экспрессии генов основных маркеров апоптоза (каспаза-8, каспаза-3 и XIAP). Полученные данные об апоптозе при спонтанных ПР позволили установить, что преждевременный активный апоптоз клеток плаценты является триггерным механизмом для преждевременной родовой деятельности, причиной активации toll-подобных рецепторов и механизмов повышенной продукции провоспалительных цитокинов и простагландинов в маточно-плацентарном комплексе при преждевременных родах.

Комплексное изучение звеньев патогенеза спонтанных ПР позволило разработать патогенетически обоснованный подход к предгравидарной подготовке, профилактике и ведению беременности у женщин группы риска ПР. Основываясь на данных о патогенезе ПР, обоснован выбор токологического препарата при спонтанных ПР.

На основании анализа перинатальных исходов преждевременных родов в зависимости от срока гестации и метода родоразрешения (роды через естественные родовые пути или родоразрешение путем операции кесарева сечения) определена оптимальная тактика родоразрешения при спонтанных преждевременных родах на разных сроках гестации с целью снижения перинатальной и детской заболеваемости и смертности, а также улучшения отдаленных результатов ПР.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное комплексное изучение спонтанных ПР с применением современных молекулярно-генетических методов исследования позволило установить основные звенья патогенеза данного осложнения беременности.

Определено значение полиморфизмов генов цитокинов, а также их сочетания в генезе спонтанных ПР. Выявлено, что полиморфизмы генов цитокинов *IL-1 β - 3953C/T*, *IL-1Ra VNTR (интрон 2)* и *IL-4 VNTR (интрон 3)* являются факторами риска ПР, а их сочетание приводит к очень ранним (до 26 недели) ПР. Установлено,

что одним из триггерных механизмов спонтанной родовой деятельности является преждевременный апоптоз клеток плаценты. Продукты распада активируют toll-подобные рецепторы маточно-плацентарного комплекса, повышенная экспрессия которых также была выявлена в исследовании. Данный комплекс изменения приводит к повышенной продукции провоспалительных цитокинов и простагландинов в МПК и реализации процесса «стерильного воспаления».

На основании проведенных исследований представлена новая концепция патогенеза спонтанных ПР, что явилось основой для разработки и внедрения патогенетически обоснованного алгоритма предгравидарной подготовки, профилактики и ведения беременности у женщин группы риска ПР, а также подхода к токолитической терапии и тактике родоразрешения при спонтанных ПР.

Оценка перинатальных исходов ПР на различных гестационных сроках и в зависимости от метода родоразрешения позволила определить оптимальный подход к родоразрешению при ПР на разных сроках беременности с целью снижения перинатальной заболеваемости и смертности.

Понимание основных звеньев патогенеза спонтанных преждевременных родов позволило разработать и внедрить в практическое здравоохранение алгоритма патогенетически обоснованной предгравидарной подготовки, профилактики и ведения беременности у женщин группы риска ПР, а также обосновать выбор токолитической терапии при спонтанных преждевременных родах и оптимальной тактики родоразрешения, что позволило снизить частоту ПР, особенно экстремально ранних и ранних, частоту перинатальной заболеваемости и смертности, а также улучшить отдаленные исходы ПР.

Внедрение данного алгоритма позволило снизить частоты преждевременных родов в 10,8 раз, экстремально ранних и ранних до 0%, перинатальную заболеваемость в 10,8 раз, перинатальную смертность сократить до 0%.

Результаты исследования и разработанные на их основании рекомендации по тактике ведения и родоразрешения при преждевременных родах внедрены в учебный процесс на кафедре акушерства, гинекологии и перинатологии Института Клинической Медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ

им И.М.Сеченова (заведующий кафедрой - академик РАН, д.м.н., профессор А.Н.Стрижаков) в виде лекций и учебно-методических пособий для студентов, интернов и клинических ординаторов, а также в практическую работу родильного дома ГБУЗ ГКБ имени С.С. Юдина г. Москвы (главный врач – к.м.н. О.В. Папышева).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке дизайна, определении целей и задач исследования, лично провел все случаи ведения беременных с угрожающими преждевременными родами в условиях стационара, 76% преждевременных родов и всех беременных, включенных в контрольную группу. Автором осуществлялись забор, подготовка, хранение биологического материала для проведения всех видов исследований. Статистическая обработка полученных данных проведена автором лично, анализ полученных результатов проведен самостоятельно.

Положения, выносимые на защиту

- Исследование полиморфизма генов цитокинов, экспрессии toll-подобных рецепторов, основных маркеров апоптоза (каспаза-8, каспаза-3 и XIAP) в плаценте, позволило изучить основные звенья патогенеза спонтанных преждевременных родов для разработки алгоритма ведения беременности у женщин с данным осложнением.
- Полиморфизм генов цитокина *IL-1 β -3953C/T*, *IL-1Ra VNTR (интрон 2)* и *IL-4 VNTR (интрон 3)*, являются факторами риска спонтанных преждевременных родов, а сочетание полиморфизмов генов нескольких цитокинов - факторам риска экстремально ранних и ранних ПР.

- Повышенная экспрессия генов TLR2 и TLR4 эпителием цервикального канала при спонтанных ПР при исключении инфекционного фактора свидетельствует о реализации «стерильного» воспаления, который является toll-опосредованным процессом и вероятно активируется воздействием на TLRs фрагментами, ассоциированный с повреждениями клеток (DAMPs).
- При спонтанных ПР выявлена высокая активность апоптоза в плаценте, проявляющаяся повышением экспрессии генов инициаторной каспазы-8 и эффекторной каспазы-3. Повышенная экспрессия гена ингибитора апоптоза XIAP является компенсаторной попыткой остановить преждевременно начавшийся процесс гибели клеток плаценты при ПР с целью дальнейшего пролонгирования беременности.
- Комплексная оценка основных патогенетических механизмов спонтанных ПР позволила разработать алгоритм патогенетически обоснованной предгравидарной подготовки, профилактики и ведения беременности у женщин группы риска ПР, а также обосновать выбор токолитической терапии при спонтанных преждевременных родах. Разработанный алгоритм позволяет снизить частоту преждевременных родов, особенно экстремально ранних и ранних, а также перинатальную заболеваемость и смертность при ПР.

Апробация результатов исследования

Материалы диссертации были представлены на:

- The 25th World Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (COGI), Vienna, Austria, Nov, 30, 2017 to Dec, 2, 2017;
- XI World Congress of Perinatal Medicine, Crocus Expo Congress Centre, Moscow, Russia, June 19-23, 2013;

- XXVI European congress of perinatal medicine, St. Petersburg, Russia, September 05-08, 2018;
- 17th World Congress of the Academy of Human Reproduction, Rome, Italy, March 15-18, 2017;
- VIII, IX, XI, XII, XIII, XIV International Congress on Reproductive Medicine, Москва, январь 2014, 2015, 2017, 2018, 2019, 2020;
- XXXI Международном конгрессе с курсом эндоскопии "Новые технологии в диагностике и лечении гинекологических заболеваний", Россия, г. Москва, 2018;
- XVI, XVII, XVIII, XIX, XX Всероссийских научно-образовательных форумах «Мать и дитя», Россия, г. Москва, сентябрь 2015, 2016, 2017, 2018, 2019 гг;
- XI, XII, XIII, XIV, XV Ежегодных Конгрессах Российской ассоциации специалистов перинатальной медицины (РАСПМ) «Современная перинатология: организация, технологии, качество», Россия, Москва, сентябрь 2016, 2017, 2018, 2019, 2020гг;
- Международной научно-практической конференции «Современное состояние и перспектива развития научной мысли», Россия, Волгоград, 23 февраля 2017г.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности - 14.01.01 акушерство и гинекология - наука о женском здоровье, медицинской помощи при беременности, родах и заболеваниях органов репродукции в сочетании с перинатологией (наукой о плоде и новорожденном в первую неделю жизни). Области исследования п.1. - физиологические и осложненные беременность, роды и послеродовой период у женщины; п.4 - разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложненного течения беременности и

родов, гинекологических заболеваний. Оптимизация диспансеризации беременных и гинекологических больных. Отрасль наук: медицинские науки.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 236 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиографический указатель включает 328 источников: 39 отечественных и 289 зарубежных. Текст иллюстрирован 20 таблицами и 33 рисунками.

Публикации по материалам исследования

По теме диссертации опубликовано 45 научных работ, отражающих содержание диссертации, из них 16 статей в журналах, входящих в международную базу цитирования Scopus и включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК Минобрнауки России.

Глава 1.

СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ ЭТИОПАТОГЕНЕЗА ДИАГНОСТИКА И ТАКТИКА ВЕДЕНИЯ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ (обзор литературы)

1.1. Медико-социальные аспекты преждевременных родов

Преждевременные роды (ПР) являются одной из основных проблем современного акушерства и связано это с тем, что ежегодно в мире рождается около 15 миллионов недоношенных детей [1-5]. Согласно определению ВОЗ, преждевременными называют роды, наступившие в сроки беременности от 22 до 36 недель и 6 дней, начиная с первого дня последней нормальной менструации при регулярном менструальном цикле, при этом масса тела плода составляет от 500 до 2500г.

Частота ПР в мире составляет около 11% с колебаниями от 5% в некоторых странах Европы до 18% в Африке [6]. Кроме того, около 2,5 млн повторных ПР происходит в мире ежегодно [52].

По данным ВОЗ странами с наибольшим количеством преждевременных родов являются:

Индия: 3 519 100

Китай: 1 172 300

Нигерия: 773 600

Пакистан: 748 100

Индонезия: 675 700

Соединенные Штаты Америки: 517 400

Бангладеш: 424 100

Филиппины: 348 900

Демократическая Республика Конго: 341 400

Бразилия: 279 300 [15].

В Российской Федерации ежегодно на свет появляется 100 тысяч преждевременно рожденных детей [7].

Согласно данным ВОЗ в последние 20 лет отмечается тенденция увеличения частоты ПР в мире. Осложнения преждевременных родов являются основной причиной смерти детей в возрасте до 5 лет, из-за них в 2015 г. умерло около 1 миллиона человек. С целью уменьшения числа ПР в мире, а также улучшения перинатальных и отдалённых исходов ПР, в 2015 году ВОЗ разработало ряд рекомендаций для стран «О мерах по улучшению исходов преждевременных родов». В них говорится о необходимости стимулировать проведение исследований причин преждевременных родов, а также подходов к родоразрешению при ПР и их эффективности, регулярного обновления клинических руководств по ведению беременных с ПР, а также руководств по уходу за недоношенными детьми, кормления детей с низкой массой тела при рождении, лечения инфекций и респираторных заболеваний у недоношенных. ВОЗ рекомендует использование глюкокортикоидов антенатально, антибиотиков при преждевременном излитии околоплодных вод, сульфата магния в качестве нейропротектора, метод выхаживания кенгуру (kangaroo mother care) [19].

В 2019 году ВОЗ и ЮНИСЕФ опубликовали отчет «Выживи и процветай: изменим уход за каждым маленьким и больным новорожденным» (Survive and thrive: transforming care for every small and sick newborn). В этом отчете подчеркивается, как страны могут улучшить помощь детям, рожденным слишком маленькими или слишком рано, в том числе за счет увеличения инвестиций, круглосуточного ухода за новорожденными и улучшения партнерских отношений с семьями [15].

Международная федерация гинекологии и акушерства (FIGO) много лет в своём составе имеет рабочую группу, которая занимается проблемами ПР: выделяет факторы риска ПР, разрабатывает критерии диагностики и тактики при данном осложнении беременности [53].

Согласно классификации, преждевременные роды делятся на:

- экстремально ранние – 22- 27 недель 6 дней

- ранние – 28-30 неделя и 6 дней
- преждевременные – 31-33 недели и 6 дней
- поздние преждевременные - 34 -36 недель и 6 дней [16].

Почти 70% ПР возникают или из-за преждевременно начавшейся родовой деятельности (40-50%) или из-за преждевременного излития околоплодных вод (20-30%). Оставшиеся 20-30% ПР являются ятрогенными в связи с тяжелыми состояниями матери и/или плода, в ситуациях, когда необходимо преждевременно прервать беременность из-за угрозы жизни матери и/или плода (например, преэклампсия тяжелой степени, кровотечение при предлежании плаценты, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тяжелая плацентарная недостаточность, осложнения многоплодной беременности) [17].

ПР являются одним из ключевых синдромов, входящих в так называемые «большие акушерские синдромы», наряду с преэклампсией, плацентарной недостаточностью. Общим для них является то, что они имеют множественную этиологию, длительный доклинический период, адаптивный характер, вовлечение плода и являются результатом сложных взаимодействий между геномом матери и плода и окружающей средой [54].

1.2. Перинатальные и отдаленные исходы преждевременных родов

ПР являются серьезной медико-социальной проблемой в связи с тем, что среди недоношенных новорожденных очень высока перинатальная смертность, которая на сроках до 28 недель беременности достигает 380‰, что в 156 раз выше, чем при доношенной беременности (Таблица 1) [55].

Таблица 1 - Частота перинатальной смертности в зависимости от гестационного возраста новорожденных

Гестационный срок	Частота перинатальной смертности
40 недель	1,75‰
37-39 недель	2,41‰
34-36 недель	7,23‰
32-33 недели	16,02‰
28-31 неделя	35,7‰
Менее 28 недель	374,74‰

Кроме того, ПР ассоциируются с рождением детей с экстремально низкой или очень низкой массой тела, а перинатальная смертность зависит и от массы ребенка при рождении и при массе ниже 500 г достигает 853‰ (Таблица 2) [55].

Таблица 2 - Частота перинатальной смертности в зависимости от массы ребенка при рождении

Масса новорожденного при рождении	Частота перинатальной смертности
Более 2500г	2,1‰
2000-2499г	9,9‰
1500-1999г	24,7‰
1250-1499г	39,9‰
1000-1249г	61,7‰
750-999г	124,6‰
500-749г	394,3‰
Менее 500г	853‰

Основными причинами смерти недоношенных детей являются бронхолегочная дисплазия, инфекция (менингит, сепсис и некротический энтероколит), повреждение головного мозга, в частности внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) [56; 57].

Но не только высокая перинатальная смертность делает ПР важной медико-социальной проблемой. Перинатальная и детская заболеваемость среди

недоношенных детей также очень высоки. Исследование, проведенное Национальным институтом детского здоровья (США) 8515 недоношенных новорожденных, рожденных с массой менее 1500г показало, что респираторный дистресс встречался у 93% этих детей, ретинопатия у 59%, бронхолегочная дисплазия у 42%, сепсис у 36% некротизирующий энтероколит у 11%, внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) у 16% [58].

Отдаленные результаты развития этих детей также были неблагоприятны. Так, около 50% детей, рожденных с экстремально низкой массой тела (ЭНМТ) (менее 1000г), при достижении возраста 18-24 месяцев имеют тяжелую инвалидность, связанную с ДЦП, потерей слуха, зрения, нарушениями когнитивного развития [59; 60]. Процент инвалидизации к 6-10 годам жизни у недоношенных детей с ЭНМТ достигает 46%. Эти дети имеют трудности с освоением материала и подчас требуют специализированного обучения [12; 13; 61-63].

Среди детей, рожденных с очень низкой массой тела (ОНМТ) (1000-1500г), отдаленные исходы несколько лучше, однако 36% из них имеют те или иные неврологические нарушения к 5 годам и нуждаются в специализированной медицинской помощи (логопед, психолог, психиатр). И даже недоношенные дети без тяжелых неврологических нарушений сложнее учатся в школе, чем дети, рожденные в срок [64].

Неонатальная заболеваемость среди недоношенных, рожденных на относительно благоприятных сроках 33-36 недель, в 7 раз выше (22% и 3%, соответственно), а неонатальная смертность в 3 раза выше (6,6% и 2,2%, соответственно), чем у доношенных детей [65; 66]. Продолжительность пребывания в стационаре после рождения у недоношенных в 4 раза дольше (8,8 и 2,2 дня, соответственно), и связано это с высокой частотой таких осложнений, как гипотермия, гипогликемия, апноэ, респираторные нарушения (респираторный дистресс синдром, преходящее тахипноэ новорожденного, пневмония и дыхательная недостаточность), гипербилирубинемия [67; 68]. В детском возрасте у них чаще встречаются инфекционные заболевания, патология дыхательной

системы, астма, неврологические и/или психические проблемы (детский церебральный паралич, нарушения зрения, слуха, поведенческие расстройства) в сравнении с доношенными детьми. В последующем эти дети испытывают сложности с обучением в школе [69].

В настоящее время большинством исследований отмечено увеличение выживаемости среди недоношенных детей. Так, популяционное исследование, проведенное во Франции (Etude épidémiologique sur les petits âges gestationnels) показало, что выживаемость недоношенных детей, родившихся на 25-26 неделе беременности, в период с 1997 по 2011 год увеличилась с 45,5% до 62,3%, а для тех, кто родился на сроке 27-31 недели - с 82,1% до 90,3% (Рисунок 1) [59].

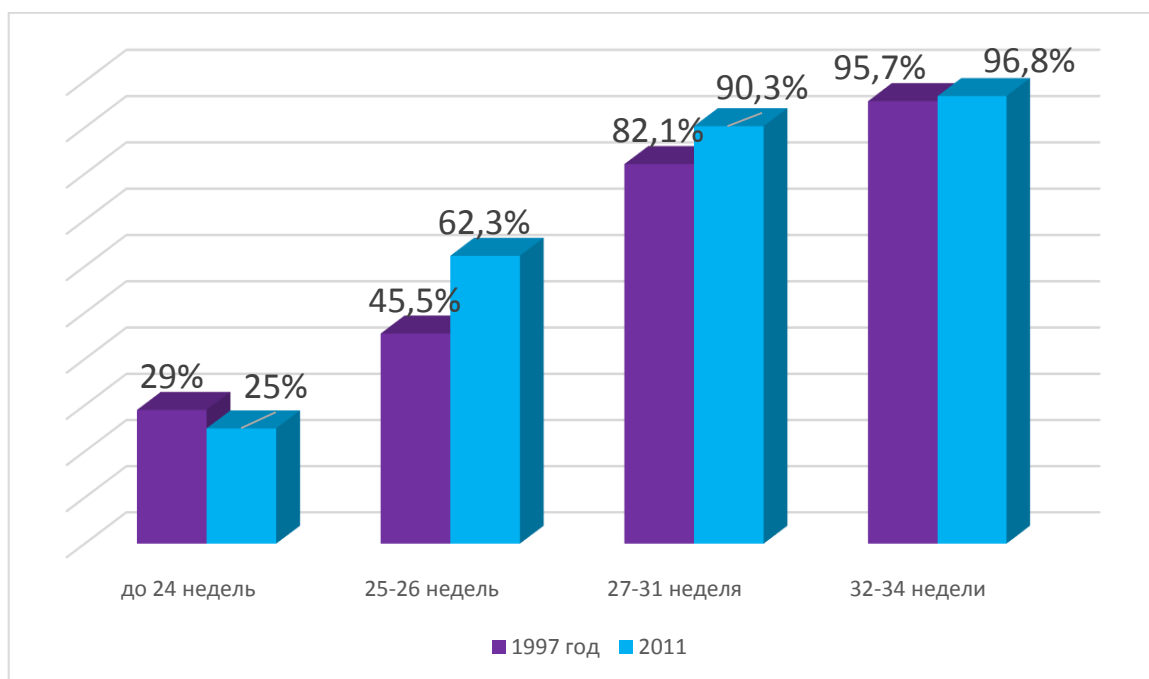


Рисунок 1 - Выживаемость недоношенных детей, согласно данным популяционного исследования во Франции (Etude épidémiologique sur les petits âges gestationnels)

В тоже время не было отмечено никакой разницы в выживаемости в двух группах: родившихся до 24 неделе беременности (29% и 25,8%, соответственно) и тех, кто родился на сроках 32-34 недели беременности (95,7% и 96,8%,

соответственно). Кроме того, в 2011 году среди родившихся на сроке 22-23 недели был только один выживший.

При этом все эксперты единодушны, что за последние годы наряду с увеличением выживаемости недоношенных детей отмечается и улучшение неврологических исходов у них [67; 69; 70]. Так, проведенный проспективный когортный анализ в Восточной Англии (Великобритания) отдаленных неврологических исходов у недоношенных детей, рожденных с массой менее 1500 г в период с 1993 по 2002 гг. показал, что показатели выживаемости увеличились с 75% в 1993 г. до 89% в 2002 г. Наблюдалась тенденция к увеличению выживаемости младенцев сроком менее 28 недель с 17% до 21%, а общая частота умеренной и тяжелой инвалидности значительно снизилась с 35% до 28% ($p < 0,01$). Отмечена тенденция к снижению числа младенцев с церебральным параличом (6% против 4%). Также уменьшилось количество младенцев со слепотой, гидроцефалией и нарушениями слуха [71].

I.Adams-Charman и соавт. в 2018 году провели ретроспективный анализ исходов развития ЦНС недоношенных детей гестационного возраста менее 27 недель, рожденных в период 2011-2015 гг. Было отмечено снижение на 43% частоты тяжелых форм детского церебрального паралича (ДЦП) у детей, рожденных до 28 недель беременности, но при этом возрастание легких форм ДЦП на 13%. Частота умеренных и тяжелых нарушений развития снизилась с 21% до 16% [72].

Улучшение неврологических исходов у недоношенных детей связываются в рядом мероприятий, в частности:

- антенатальным использованием кортикостероидов, что приводит к снижению перинатальной смертности, частоты ДЦП, сокращению продолжительности искусственной вентиляции легких и снижению риска тяжелых ВЖК [53,73,74];
- достижениями в области вентиляции новорожденных, включая использование режима cPAP и улучшенные стратегии механической вентиляции

(например, вентиляция с целевым объемом и синхронизированная вентиляция), привело к увеличению выживаемости и снижению заболеваемости недоношенных;

- использованием сурфактанта;
- антенатальным применением сульфата магния - клинические испытания показали, что недоношенные дети, матери которых получали сульфат магния, имели более низкий риск ДЦП и тяжелых двигательных нарушений [70].

Как оказалось, преждевременные роды накладывают отпечаток не только на здоровье недоношенных детей, но и их мам. В Швеции было проведено национальное когортное исследование, которое включило 2189477 истории женщин с одноплодной беременностью за период 1973-2015 гг. И было установлено, что у женщин с ПР до 33 недель повышен риск преждевременной смерти в первые 10 лет после ПР. Этот риск в 2 раза выше, чем у женщин, у которых произошли своевременные роды. Основными причинами смерти являются сердечно-сосудистые, онкологические и респираторные заболевания [75].

1.3. Факторы риска преждевременных родов

В настоящее время многое сделано для снижения частоты ПР. Выделены **факторы риска ПР**, к которым относятся:

1. отягощенный акушерско-гинекологический анамнез

- преждевременные роды в анамнезе

Риск преждевременных родов у женщин с ПР в анамнезе повышен в 5-6 раз. Рецидив ПР составляет от 15 до 30% после одних ПР и увеличивается при повторных ПР [76]. Есть данные о том, что если предыдущая беременность закончилась на сроке 23-27 недель, то в каждом четвертом случае последующая беременность не будет пролонгирована более 28 недель без своевременной коррекции [77]. Исследование C.V.Ananth и соавт. (2006) установило, что после потери беременности во II триместре риск преждевременного прерывания последующей беременности увеличивается в 10 раз. Кроме того, если женщина

была рождена недоношенной в сроке до 30 недель, то риск преждевременных родов у нее в 2,4 раз выше, чем в среднем в популяции [78,79].

- интергравидарный интервал менее 18 месяцев [80];
- искусственные аборты в анамнезе [81];
- возраст старше 35 лет

С увеличением возраста женщины увеличивается риск осложнений беременности, что может стать причиной для ее преждевременного прерывания [82];

- операции на шейке матки (конизация и др.) также повышают риск ПР за счет повышенного риска истмикоцервикальной недостаточности [16];
- пороки развития матки [16];
- миома матки [83].

2. генетические факторы

В настоящее время выделены локусы в хромосомах (EBF1, EEFSEC, AGTR2, WNT4, ADCY5 и RAP2C), отвечающие за продолжительность беременности. Изменения в локусах EBF1, EEFSEC и AGTR2 (в 5, 3 и X-хромосомах, соответственно) показали связь с преждевременным прерыванием беременности. Ряд исследований выявили, что женщины, родившиеся недоношенными, имеют умеренно повышенный риск ПР по сравнению с женщинами, родившимися в срок [17].

3. отягощенный соматический анамнез

Такие заболевания беременной как артериальная гипертензия, сахарный диабет, патология почек, ожирение могут привести к развитию тяжелых осложнений беременности (преэклампсия, плацентарная недостаточность и др.), что потребует преждевременного прерывания беременности ввиду угрозы жизни матери и\или плода [84].

4. вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ)

Беременности, наступившие в результате ВРТ, являются фактором риска ПР, ввиду большего числа различных осложнений [85];

5. многоплодная беременность

При развитии многоплодной беременности в 3,2 раза повышается риск ПР в сравнении с одноплодной [86,87].

6. инфекция

Большое число исследований показало высокую значимость наличия инфекции на развитие ПР. Бессимптомная бактериурия, пиелонефрит, периодонтит, инфекция мочеполовой системы, включая гемолитический стрептококк группы В, сифилис, бактериальный вагиноз, присутствие *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhea*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma species* и *Haemophilus influenzae* в шейке матки, в несколько раз (от 2 до 8) повышают риск ПР [88-92];

7. курение [93];

8. стресс [94];

9. мужской пол плода [95];

10. врожденные пороки развития плода

Одним из механизмов ПР при наличии врожденного порока у плода может быть развитие многоводия, которое может стать пусковым механизмом для ПР [96].

1.4. Звенья патогенеза преждевременных родов

Для понимания и решения любой медицинской проблемы необходимо изучить ее патогенетические аспекты. В настоящее время выделяют следующие звенья патогенеза ПР

1. активация гипоталамо-гипофизарной системы матери и/или плода;
2. преждевременные роды, вызванные осложнениями беременности (преэклампсия, плацентарная недостаточность и др.);
3. развитие воспалительной реакции в маточно-плацентарном комплексе инфекционной природы;
4. спонтанные преждевременные роды неясной этиологии (Рисунок 2) [97].

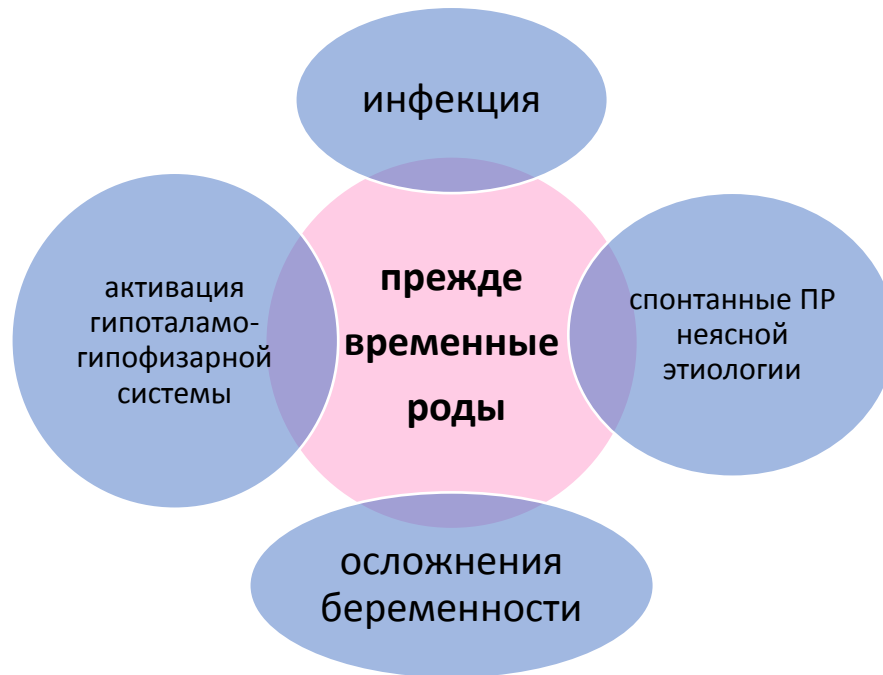


Рисунок 2 - Патогенетические звенья преждевременных родов

1.4.1. Активация гипоталамо-гипофизарной системы происходит в результате различных стрессовых воздействий. Повышенная тревожность, депрессия, стресс – все это ведет к повышенной выработке кортизола как матерью, так и плодом, и повышению уровня кортикотропин-рилизинг-гормона (КТРГ), который во время беременности вырабатывается не только в гипоталамусе, но и в плаценте, и в трофобласте [98]. При повышенной продукции КТРГ в маточно-плацентарном комплексе происходит повышение концентрации простагландинов Е и F2 α , и запускается механизм развития родовой деятельности [99]. Так, у женщин, страдающих депрессией, риск ПР в 2 раза выше, чем у здоровых беременных. Повышенный риск ПР отмечен среди женщин с высоким уровнем тревожности, а также после перенесенного психоэмоционального стресса [97].

1.4.2. Преждевременные роды, вызванные различными осложнениями беременности или хроническими заболеваниями матери

В этих ситуациях речь, как правило, идет о том, что преждевременное прерывание беременности является необходимостью для сохранения жизни матери

и\или плода (например, преэклампсия тяжелой степени, эклампсия, декомпенсированная плацентарная недостаточность, кровотечения при недоношенной беременности и т.д.).

Так, согласно исследованию EL Davies и соавт. (2016) вероятность преждевременных родов у женщин с преэклампсией была более чем в 4 раза выше, чем у женщин без ПЭ. Риск экстремально ранних ПР был в 5 раз выше, если у женщин была преэклампсия, а частота ПР до 35 недель у женщин с тяжелой ПР достигала 25% [100]. Раннее начало ПЭ ассоциировано с развитием ПН и ятрогенными ПР с целью спасения матери и\или плода [101].

Наличие у пациентки хронической артериальной гипертензии повышает у нее риск ПР в 2,7 раза [102,103]. При наличии хронических заболеваний почек риск ПР до 34 недели беременности увеличен в 5,7 раза [104].

В исследовании S.T.Maskin и соавт. (2018) частота ПР была заметно выше у женщин с сахарным диабетом: при наличии СД 1-го типа достигала 35,3%, СД 2-го типа - 21,8%, тогда как в контрольной группе составила лишь 6,1% ($p < 0,0001$) [105].

1.4.3. Роль инфекции в патогенезе преждевременных родов

Согласно данным литературы, многочисленные исследования в области эпидемиологии, микробиологии, акушерства и гинекологии показали прямую связь между наличием инфекции половой системы и преждевременными родами [2,3,4,16,17,19,20]. В 20 - 75% случаев ПР выявляются гистологические признаки хориоамнионита, в 30-60% случаев в посевах обнаруживаются различные возбудители [106,107].

Безусловно, основным инфекционным фактором риска ПР является наличие возбудителей в половой системе. Многочисленные исследования показали связь между ПР и наличием таких возбудителей в половых путях, как стрептококки группы В, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhea*, *Treponema*, *Trichomonas vaginalis*, виды *Ureaplasma* и *Haemophilus influenzae* [88-92,108-111]. Бактериальный вагиноз также является фактором риска ПР [112,113], при этом

наличие грибов рода *Candida* не является фактором риска развития ПР, что было показано в мета-анализе, проведенным Н.Ж. Schuster и соавт. в 2020 году [114]. Во время беременности преобладающей флорой влагалища является *Lactobacillus*. При низком содержании *Lactobacillus* могут начать преобладать *Ureaplasma* и/или *Gardnerella*, что может явиться триггером для ПР [115].

Во многих исследованиях описана корреляция между инфекцией мочевыводящих путей матери, особенно бессимптомной бактериурией, и неблагоприятными исходами беременности. Нелеченая бактериурия была связана с повышенным риском ПР, низкой массы тела при рождении и перинатальной смертности [87,116]. Так, у пациенток с бессимптомной бактериурией ПР встречаются в 2 раза чаще (13,3% против 7,6%; $p < 0,001$) [116,117]. Острый пиелонефрит во время беременности также повышает риск ПР [118].

Кроме того, в настоящее время многочисленные исследования доказали роль самых разных инфекционных факторов в генезе ПР, и, в частности, заболеваний пародонта [119]. Было предложено несколько гипотез, связывающих заболевания пародонта и преждевременные роды [120-123]. Флора пародонта, а это, как правило, такие возбудители как *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, может «заразить» фетоплацентарный комплекс и вызвать местное воспаление, либо воспалительные медиаторы пародонтального происхождения могут вызвать системное воспаление. Альтернативное, но не менее разумное объяснение заключается в том, что заболевания пародонта является маркером людей, которые имеют генетическую предрасположенность к усиленной местной или системной воспалительной реакции на стимул (например, бактерии), что приводит к двум отдельным неблагоприятным клиническим явлениям: пародонтиту и преждевременным родам. Такие люди могут также «гиперреагировать» на вагинальные бактерии повышенной выработкой цитокинов, что приводит к ПР и/или преждевременному излитию околоплодных вод.

Каким образом происходит прерывание беременности при наличии инфекции?

Патогенез ПР, связанных и индуцированных наличием инфекции, можно представить следующим образом (Рисунок 3).

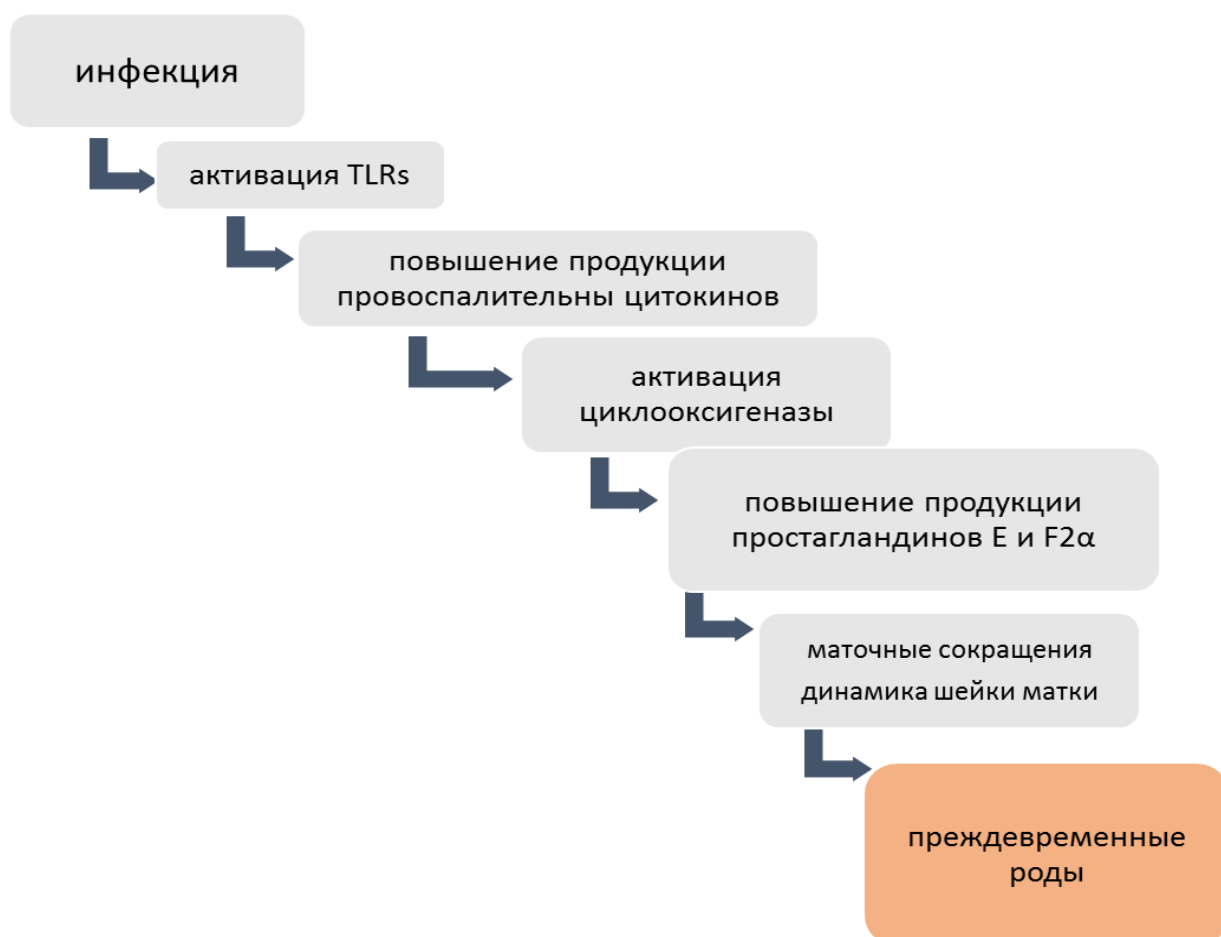


Рисунок 3 - Патогенез преждевременных родов, индуцированных инфекцией

При наличии инфекции в половой системе происходит связывание бактериальных и вирусных лигандов с toll-подобными рецепторами (TLRs) децидуальной ткани, амниона, хориона, шейки матки и это запускает воспалительный каскад [124]. Toll-подобные рецепторы (TLRs) являются рецепторами врожденного иммунитета и широко представлены на различных клетках организма. Речь о них пойдет ниже. Этот TLR-опосредованный ответ в конечном итоге характеризуется присутствием активированных нейтрофилов и, в

меньшей степени, активированных макрофагов и различных провоспалительных медиаторов, таких как *IL-1*, *IL-6* и *IL-8*; *TNF- α* , гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (G-CSF), колониестимулирующий фактор-2 (CSF-2) в маточно-плацентарном комплексе (МПК). Ключевыми начальными медиаторами этого ответа являются *IL-1 β* и *TNF- α* , которые усиливают продукцию простагландинов, индуцируя экспрессию циклооксигеназы-2 (COX-2) в амнионе и децидуальной оболочке, ингибируя при этом фермент, метаболизирующий простагландины - 15-гидроксипростагландиндегидрогеназу в хорионе [97,125,126]. Более того, *IL-1 β* и / или *TNF- α* напрямую усиливают экспрессию различных матричных металлопротеиназ в амнионе, хорионе, децидуальной оболочке и шейке матки, разрушая внеклеточный матрикс плодных оболочек и шейки матки [97, 127-129].

Матричные металлопротеиназы (ММП) представляют собой семейство цинк- и кальций-зависимых эндопептидаз, способных расщеплять компоненты внеклеточного матрикса соединительных тканей. Они играют важное значение в таких процессах как эмбриогенез, морфогенез, воспаление, заживление ран, злокачественные новообразования. Источником ММП являются фибробласты, макрофаги, нейтрофилы. По специфичности ММП делятся на коллагеназы (ММП-1,-8,-13), желатиназы (ММП-2 и -9), стромелизины (ММП-3и-10). При этом коллагеназы (ММП-1, -8, -13) расщепляют коллаген; стромелизины (ММП-3, -7, -10) расщепляют протеогликаны, фибронектин, коллаген IV, V; мишенью коллагеназ (ММП-2, -9) являются коллаген IV, V, эластин, протеогликаны и фибронектин [130].

Шейка матки на 85% состоит из экстрацеллюлярного матрикса (коллаген I, III и IV тип, гликозаминогликаны, протеогликаны, гиалурон, гликопротеины, эластин) и на 6-10% из мышечных волокон. Размягчение шейки матки во время беременности связано с уменьшением протеогликанов, что приводит к распаду пучков коллагеновых волокон и расслаблению, укорочению и дезорганизации волокон [131]. Процесс созревания шейки матки проявляется воспалительной

реакцией и сопровождается повышением уровня провоспалительных цитокинов и лейкоцитарной инфильтрацией тканей шейки матки [132]. I. Osman и соавт. (2006) установили, что в зрелой шейке матки концентрации провоспалительного цитокина *IL-8* в 11 раз выше, чем в незрелой [133]. Цитокины активируют клетки, секретирующие матриксные металлопротеиназы и происходит повышение MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8 и MMP-9 в шейке матки, нижнем маточном сегменте, амниотических оболочках и околоплодных водах во время родов [134,135]. Таким образом, матриксные металлопротеиназы изменяют структурный состав шейки матки, что приводит к ее размягчению, укорочению и раскрытию.

Важнейшее значение в генезе ПР играют простагландины. Синтез простагландинов происходит в цикле арахидоновой кислоты, где под действием ферментов циклооксигеназы происходит ее превращение в эндоперекиси – простагландины (Рисунок 4).

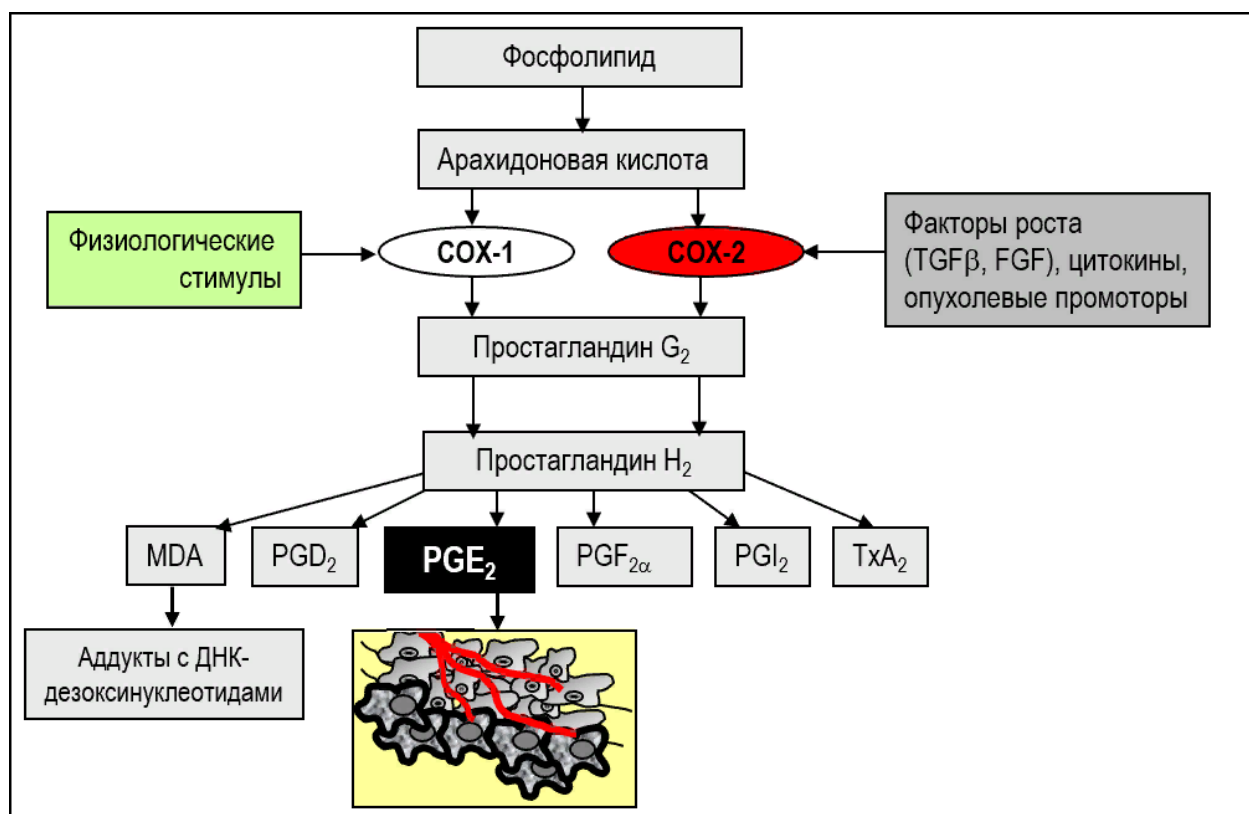


Рисунок 4 - Каскад арахидоновой кислоты

(https://indigal.ru/dlya_speczialistov/kniga_molekularnie_misheni/pictures/pic-7.png)

Циклооксигеназа-1 (COX-1) находится в шейке матки постоянно, а источником циклооксигеназа-2 (COX-2) являются клетки-медиаторы воспаления. Экспрессия этой формы фермента увеличивается цитокинами. Выработка COX-2 через активацию цикла арахидоновой кислоты повышает концентрацию простагландинов E₂ и F_{2α}. Простагландин E в свою очередь способствует «созреванию» шейки матки; простагландин F_{2α} стимулирует маточные сокращения (рис.4). Также при активации процесса воспаления отмечено возрастание количества окситоциновых рецепторов, что усиливает маточные сокращения [136,137].

Таким образом, инфекция в маточно-плацентарном комплексе через активацию toll-подобных рецепторов запускает процесс «созревания шейки матки» и маточных сокращений и происходят преждевременные роды.

Однако, в 30-50% случаев ПР причину преждевременного начала маточных сокращений в настоящее время установить не удастся и именно эти, так называемые спонтанные ПР, и являются предметом изучения многих исследователей в мире, поскольку понимание их патогенеза позволит в дальнейшем использовать не только симптоматическую терапию, как это происходит в настоящее время, а разработать патогенетический подход к терапии и возможной профилактике спонтанных ПР [97,138].

1.4.4. Спонтанные преждевременные роды

Спонтанные преждевременные роды также являются процессом воспалительной этиологии, поскольку даже при исключении инфекционного фактора выявлено значительное повышение концентрации провоспалительных цитокинов в околоплодных водах, матке, плаценте, пуповинной крови и у плода при спонтанных ПР [29-32, 139]. Однако не до конца понятно, почему это происходит. Именно поэтому в настоящее время многие ученые занимаются иммунологическими и молекулярно-генетическими исследованиями патогенеза спонтанных ПР.

Считается, что состояние иммунной системы во многом определяет исход беременности. В частности, показано, что повышение уровней провоспалительных цитокинов в плазме беременной предшествует прерыванию беременности [140].

Беременность – это процесс развития в матке полуаллогенного плода, который содержит антигены отца. В формирующейся системе мать-плацента-плод создается уникальная иммунологическая ситуация, позволяющая наполовину генетически чужеродной ткани плода «заселить» организм матери, не быть отторгнутым и развиваться в течение длительного срока.

Какие изменения происходят в иммунной системе женщины во время беременности?

1. синтиотиотрофобласт, образующий наружный слой ворсин плаценты, подвергается непосредственному воздействию материнской крови, но при этом не экспрессирует HLA-антигены 1 класса на своей поверхности и поэтому он «не виден» иммунной системе матери [47; 141-143];

2. в трофобласте происходит выработка активных веществ, которые активируют и стимулируют апоптоз Т-лимфоцитов матери (например, белок B7H1, IDO) [47; 144; 145];

3. клетки трофобласта вырабатывают регуляторные белки для системы комплимента (CD46, CD55, CD59) и это помогает защищать эмбриональные ткани от цитотоксичных материнских антител [47; 146];

4. в матке изменяется субпопуляция клеток иммунной системы: появляется большое количество децидуальных макрофагов с противовоспалительной активностью (M2 фенотип), которые в свою очередь секретируют иммуносупрессивные факторы, что снижает воспалительные реакции в системе мать-плацента-плод. При преждевременных родах, преэклампсии и плацентарной недостаточности, наоборот, наблюдается активация макрофагов [47; 147; 148];

5. прогестерон стимулирует выработку противовоспалительных цитокинов в клетках плаценты (например, *IL-10*); кроме того, он способен подавлять иммунный ответ матери и изменять баланс Th1\Th2-хелперов в сторону противовоспалительного состояния Th2 и блокировать синтез *TNF-α* [47; 149].

Следует заметить, что все эти изменения носят именно локальный характер и во время беременности отсутствует генерализованная иммунносупрессия материнского организма [47].

Многие иммунологи считают беременность противовоспалительным состоянием. А когда баланс сдвигается в провоспалительную сторону, происходит повышение выработки и концентрации цитокинов в маточно-плацентарном комплексе, тогда и происходят самопроизвольные выкидыши и другие осложнения беременности [150]. Так, повышение *IL-6*, *IL-1β* и *TNF-α* в шейечновагинальном секрете и в околоплодных водах ассоциируется с высоким риском ПР [27; 151].

Ведущим этиологическим фактором родов, как преждевременных, так и своевременных, считается развитие воспаления в маточно-плацентарном комплексе. В его наступлении большую роль играет выработка провоспалительных цитокинов, которые выявляются в цервикальной слизи, миометрии, плаценте, околоплодных водах, плазме крови беременных женщин и в пуповинной крови [28-32].

1.5. Цитокины в патогенезе преждевременных родов

1.5.1. Значение цитокинов во время беременности

Многочисленные исследования показали важнейшую роль цитокинов во время беременности. Баланс между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами имеет решающее значение для имплантации плода, подготовки плаценты и исхода беременности. Так, повышение

продукции провоспалительных цитокинов на начальных этапах беременности приводит к самопроизвольным выкидышам [29; 30; 32].

Большим количеством исследований доказана роль цитокинов в случаях ПР, ассоциированных с инфекцией. В этих ситуациях в маточно-плацентарном комплексе обнаруживается повышенная концентрация различных провоспалительных цитокинов [27-32; 124; 151].

В тоже время в исследовании J.M. Fettweis и соавт. (2019) в образцах крови, околоплодных вод или цервикально-вагинального лаважа у пациенток со спонтанными ПР было обнаружено значительное повышение концентрации *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *TNF- α* , *IL-17A*, интерферон- γ -индуцированный белок-10 в сравнении с пациентками со своевременными родами. Эти данные доказывают, что спонтанные ПР являются процессом воспалительной этиологии [152]. R.Romero и соавт. (2007) установили, что увеличение уровня провоспалительных цитокинов (*IL-1*, *IL-6*, *IL-8*, *TNF- α*) в околоплодных водах прямо пропорционально риску развития ПР, а J.Dowd и соавт. (2005) выявили значительное повышение концентрации *IL-8* в слизи цервикального канала у женщин, беременности которых в последующем закончились ПР. Кроме того, выявлено увеличение экспрессии провоспалительных цитокинов в легких, кишечнике, печени и головном мозге плода [153; 154].

Под действием провоспалительных цитокинов происходят изменения и в миометрии. По данным F. Hertelendy и соавт. (2002) *IL-1 β* и *TNF- α* стимулируют высвобождение арахидоновой кислоты, активируют метаболизм фосфолипидов и усиливают выработку простагландинов в миометрии [155]. Эти эффекты *IL-1 β* на клетки миометрия схожи с действием окситоцина, который совместно с простагландином E2 увеличивает уровень кальция в клетках миометрия, что является необходимым условием для сокращения матки.

В генезе ПР инфекционной природы наиболее известная роль таких цитокинов, как *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8* [97].

1.5.2. Фактор некроза опухоли ($TNF-\alpha$)

$TNF-\alpha$ является основным провоспалительным цитокином макрофагов, нейтрофилов и естественных киллеров (NK). При нормально протекающей беременности концентрация $TNF-\alpha$ в крови обычно очень низка, но при развитии инфекционных процессов, в частности урогенитальной инфекции, показатель $TNF-\alpha$ резко возрастает. По данным литературы определенный уровень $TNF-\alpha$ необходим для нормального развития беременности, так как на ранних сроках гестации он взаимодействует с рецепторами, экспрессируемыми на поверхности трофобласта, защищая его тем самым от действия клонов цитотоксических лимфоцитов матери. В сыворотке крови здоровых беременных практически не определялся $TNF-\alpha$, в то же время у беременных с урогенитальной инфекцией вирусного генеза концентрация $TNF-\alpha$ возрастает в десятки раз. Известно, что в физиологических концентрациях $TNF-\alpha$ угнетает репликацию вирусов герпеса, высокие концентрации этого цитокина могут усиливать воспаление и запускать механизмы активации апоптоза клеток трофобласта, вызывая тем самым отслойку плаценты и преждевременные роды [156,157]. Избыточная продукция $TNF-\alpha$ может негативно сказываться на развитии беременности. По данным В.М. Сидельниковой (2010) уровень $TNF-\alpha$ в крови женщин с угрожающими ПР в III триместре почти в 9 раз выше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью [30].

Также доказано, что $TNF-\alpha$ может вызывать апоптоз (физиологическую гибель клеток). Повышенный уровень $TNF-\alpha$ и активный апоптоз эпителиальных клеток амниона связаны и с преждевременным излитием околоплодных вод [158].

1.5.3. $IL-1\beta$ и антагонист рецептора $IL-1$ ($IL-1Ra$)

Провоспалительный цитокин $IL-1\beta$ и антагонист рецептора $IL-1$ ($IL-1Ra$) также играют значительную роль в развитии ПР. $IL-1\beta$ - многофункциональный цитокин с широким спектром действия и имеет схожие биологические эффекты с $TNF-\alpha$, вызывая активацию лейкоцитов и эндотелиальных клеток, комплемента,

синтез белков острой фазы воспаления [36]. *IL-1 β* действует сразу на несколько типов клеток, увеличивая продукцию циклооксигеназы-2 и простагландина E2 - наиболее эффективных агентов для раскрытия шейки матки. Антагонист рецептора *IL-1 (IL-1Ra)* регулирует экспрессию и функциональную активность *IL-1 β* , главного медиатора воспаления. Дисбаланс продукции *IL-1 β* и *IL-1RA* приводит к пролонгированию воспалительного ответа, что сопровождается поражением тканей и органов [31].

1.5.4. *IL-4*

Помимо провоспалительных цитокинов, увеличение продукции которых ассоциировано с развитием преждевременных родов, есть также цитокины, выполняющие “протективную функцию”. Среди них можно выделить *IL-4*, который является противовоспалительным цитокином. Повышенное содержание *IL-4* во время беременности обеспечивает иммуносупрессию матери по отношению к формирующемуся фетоплацентарному комплексу [29; 38; 159; 160]. *IL-4* может ограничивать синтез макрофагами провоспалительных цитокинов *IL-1 β* , *IL-6*, *IL-8*, *IL-12*, *TNF- α* , а также образование высокоактивных метаболитов кислорода, азота, усиливает дифференцировку в цитотоксические Th2-клетки, активирует макрофаги, индуцирует пролиферацию NK-клеток [161]. А угнетение провоспалительного звена обеспечивает прогрессирование беременности до доношенного срока.

Таким образом, роль цитокинов в генезе ПР в настоящее время не вызывает сомнений. Механизм повышенной выработки провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе понятен и связан с активацией toll-подобных рецепторов инфекционным агентов. Однако остается вопрос, почему при отсутствии инфекции мы также наблюдаем повышенную продукцию провоспалительных цитокинов в МПК? Одной из вероятных причин этой повышенной продукции цитокинов может быть генетически детерминированная

склонность к повышенной выработке провоспалительных цитокинов в результате полиморфизма их генов [150].

1.5.5. Полиморфизмы генов цитокинов в генезе преждевременных родов

Поскольку цитокины являются полипептидами, то их синтез всегда начинается с транскрипции гена. В настоящее время известно о большом числе возможных полиморфизмов генов цитокинов. Большинство этих полиморфизмов являются однонуклеотидными (англ. Single nucleotide polymorphism, SNP) – это отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме (или в другой сравниваемой последовательности) представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом [150].

Одним из самых известных подобных полиморфизмов SNP является мутация Лейден. Эта мутация характеризуется заменой нуклеотида гуанина на нуклеотид аденин в позиции 1691 в 1ой хромосоме CGA→CAA. И в результате вместо аргинина в факторе V синтезируется глутамин, что приводит в тромбофилии.

В настоящее время для каждого про- и противовоспалительного цитокина выявлены различные полиморфизмы (Таблица 3)[34].

Таблица 3 - Основные полиморфизмы генов ряда цитокинов

Цитокин	Основные полиморфизмы
<i>TNF-α</i>	-308G/A (rs1800629) -238G/A (rs361525) -863C/A (rs1800630)
<i>IL-6</i>	-174G/C -572G/C -597G/A -634C/G
<i>IL-1β</i>	-511C/T (rs16944) 3953 C/T (rs1143634) 3954 C/T (rs1143644) -31 (rs1143627)
<i>IL-1Ra</i>	VNTR (интрон 2)
<i>IL-4</i>	VNTR (интрон 3) -589 C/T

Так, при полиморфизме *TNF- α* -308G/A происходит замена нуклеотида гуанина (G) на аденин (A) в регуляторной области гена. И в результате в популяции встречаются люди с обычным нормальным генотипом GG, а также гетерозиготы (GA) и гомозиготы (AA) с патологическим генотипом.

При полиморфизме *IL-1 β* -3953 C/T в гене этого цитокина происходит замена цитозина (C) на тимин (T) в позиции 3953, обозначается как генетический маркер C(+3953)T. При этом, может быть нормальный генотип CC и патологические CT и TT.

IL-1Ra кодируется геном *IL-1RN*. Полиморфизм этого гена представляет из себя участок с варьирующим числом tandemных повторов VNTR (variable number tandem repeat) и локализован во втором интроне (интрон - участок ДНК, который является частью гена, но не содержит информации о последовательности аминокислот белка). Полиморфизм обозначается как *IL-1Ra* VNTR (интрон 2). Чаще встречающийся аллель гена *IL-1RN* содержит четыре tandemных повтора (4R) и потому нормальный генотип обозначается как 4R\4R. Наиболее значимым из мутантных вариантов является аллель *IL-1RN*, несущий два повтора (2R), при этом

гетерозиготная форма обозначается как 4R\2R, гомозигота - 2R\2R. Остальные варианты этого гена (3, 5 и 6 повторов) встречаются редко [162].

Полиморфизм гена *IL-4* также представляет из себя участок с варьирующим числом tandemных повторов (VNTR), локализованный в третьем интроне. Данный полиморфизм обозначается как *IL-4 VNTR (интрон 3)*. Чаще встречается 2 повтора (2R) и поэтому нормальный генотип 2R\2R. И есть 2 патологических генотипа - это гетерозигота 3R\2R и гомозигота 3R\3R [150].

При многих патологических процессах воспалительной этиологии доказана роль полиморфизмов генов про- и противовоспалительных цитокинов. Так, например, у пациентов с полиморфизмом гена *TNF-α* чаще встречаются такие заболевания, как ревматоидный артрит [163], хронический периодонтит [164]. Наличие варианта *TNF-α -308G/A* увеличивает риск развития бронхиальной астмы, псориаза, метаболического синдрома, сахарного диабета 1 типа, онкологических заболеваний, в том числе рака шейки матки на фоне носительства вируса папилломы человека (ВПЧ) онкогенных типов. Также данный вариант генотипа обуславливает худший ответ на стероидную терапию при болезни Крона и язвенном колите и худший ответ на блокаторы *TNF-α* при лечении ревматоидного артрита [165].

У лиц, гомо- или гетерозиготных по полиморфизму *IL-1β -3953C/T*, продуцируется, соответственно, в 4 и 2 раза большее количество этого цитокина, чем у лиц, гомозиготных по нормальному варианту этого гена [166]. Полиморфизмы гена *IL-1β (-511C/T, -3954 C/T, -3953 C/T)* оказывают существенное влияние на предрасположенность к таким заболеваниям как язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, atopическая бронхиальная астма, гнойный риносинусит, саркоидоз и идиопатический лёгочный фиброз, аденоидит [166].

Полиморфизм гена *IL-1Ra VNTR (интрон 2)* может быть маркером риска формирования иммуноопосредованных пороков сердца при ревматической болезни сердца [167]. Установлен вклад полиморфных вариантов генов *IL-4* в развитие бронхиальной астмы [168], рассеянного склероза [169].

У женщин с преждевременными родами также часто выявляются полиморфизмы различных генов цитокинов. Так, исследование Е. Моуга и соавт. (2011) показало, что различные полиморфизмы гена *TNF-α* связаны с высокой частотой ПР, а мета-анализ, проведенный J. Cui и соавт. (2015) выявили ассоциацию между полиморфизмами гена *IL-1Ra* и высокой частотой ПР у их носительниц [42; 170; 171]. Кроме того, известно, что полиморфизм гена *IL-4 VNTR* (интрон 3), в частности наличие аллеля 2R, повышает риск раннего самопроизвольного прерывания беременности [150].

Однако в настоящее время представляет интерес не столько выявление новых полиморфизмов генов цитокинов у женщин с ПР, сколько выявление комбинации полиморфизмов генов сразу нескольких цитокинов и влияние этих комбинаций на частоту и срок ПР. Вероятно, что одна и та же пациентка может быть носительницей полиморфизмов генов сразу нескольких цитокинов и это сочетание может приводить к повышенной продукции провоспалительных цитокинов во время беременности и как следствие более раннему началу ПР.

И зная, что женщина является носительницей данных полиморфизмов, возможно будет использовать препараты снижающих продукцию цитокинов (например, нестероидных противовоспалительных препаратов) заранее, до реализации активного воспалительного процесса в маточно-плацентарном комплексе и начала ПР.

Как уже было сказано выше, повышенная продукция цитокинов в маточно-плацентарном комплексе при наличии инфекционного агента происходит по причине активации toll-подобных рецепторов. Какова же роль этих рецепторов в генезе ПР?

1.6. Toll-подобные рецепторы и их роль в патогенезе преждевременных родов

1.6.1. Структура toll-подобных рецепторов

Toll-подобные рецепторы (TLRs) были открыты в 1985 году немецким биологом Кристианом Нюсляйн-Фольхардом, а за открытие их гена в 2011 году Жюль Хоффман был удостоен Нобелевской премии. TLRs впервые обнаружены у дрозофилы *Drosophila Toll* как продукт генов, ответственных за противогрибковую защиту, и от нее получили свое название. Они являются рецепторами врожденного иммунитета и широко представлены на различных клетках иммунной системы (моноцитах, дендритных клетках, лейкоцитах и др.), а также на многих клетках организма (фибробластах, эндотелии, эпителии, кардиомиоцитах и др.). По химической структуре это трансмембранные гликопротеины I типа. Структура всех TLRs аналогична. Все они имеют внеклеточный домен распознавания и связывания лиганда, который содержит богатые лейцином повторы. Все имеют один трансмембранный домен. Цитоплазматический (сигнальный) домен гомологичен рецептору интерлейкина-1 (*IL-1*) и называется toll / *IL-1* рецептором или TIR-доменом.

TLRs расположены на поверхности и в цитоплазматических гранулах различных клеток организма. Больше всего TLRs экспрессируют моноциты и макрофаги. Различные типы тканей могут экспрессировать один или несколько TLRs. Например, моноциты и макрофаги экспрессируют все TLRs, кроме TLR3. Миелоидные дендритные клетки экспрессируют TLR2, TLR3, TLR4, TLR5 и TLR8, тогда как плазматические дендритные клетки экспрессируют TLR7 и TLR9. TLR2; эпителиальные клетки кишечника экспрессируют TLR5, тогда как фибробласты и кератиноциты экспрессируют TLR3 на поверхности клеток [172-174]. В настоящее время у человека выделено 13 видов TLRs, однако их свойства изучены не до конца. Выявлено, что TLRs специфичны к основным группам патогенов, с которыми

контактируют многоклеточные организмы – бактерии, вирусы, грибы, простейшие [175].

1.6.2. Лиганды toll-подобных рецепторов

Для каждого toll-подобного рецептора определены его основные лиганды (Таблица 4) [172].

Таблица 4 - Toll-подобные рецепторы и их лиганды

Рецептор	Локализация рецептора	Лиганд(ы)	Локализация лиганда
TLR1	клеточная поверхность	многочисленные триациллипептиды	Бактерии
TLR2	клеточная поверхность	многочисленные гликолипиды	Бактерии
		липопротеины	Бактерии
		липopeптиды	Бактерии
		липoteйхоевая кислота	Бактерии
		пептидогликан	Грамположительные бактерии
		HSP70	Клетки хозяина
		зимозан	Грибы
		Прочие	-
TLR3	внутриклеточная	двухцепочечная РНК, поли I:C	Вирусы

TLR4	клеточная поверхность	липополисахарид	Грамотрицательные бактерии
		некоторые белки теплового шока	Бактерии и клетки хозяина
		фибриноген	Клетки хозяина
		гепарансульфатные фрагменты	Клетки хозяина
		гиалуроновая кислота	Клетки хозяина
		Прочие	
TLR5	клеточная поверхность	флагеллин	Бактерии
TLR6	клеточная поверхность	многочисленные диациллипептиды	Микоплазма
TLR7	внутриклеточная	имидазохинолин	Небольшие синтетические компоненты
		локсорибин (аналог гуанозина)	
		бропиримин	
		одноцепочечная РНК	-
TLR8	внутриклеточная	небольшие синтетические компоненты; одноцепочечная РНК	-
TLR9	внутриклеточная	неметилированные участки CpG ДНК	Бактерии
TLR10	клеточная поверхность	неизвестно	Неизвестно
TLR11	клеточная поверхность	Профилин	Уропатогенные бактерии
TLR12	неизвестно	неизвестно	-
TLR13	неизвестно	неизвестно	-

Лиганды для TLRs являются компонентами патогенных микробов. Так, рецепторы, расположенные на поверхности клеток (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5,

TLR6 и TLR10), распознают бактериальные компоненты (липополисахариды, липотейхоевые кислоты, флагеллин и др.). Это так называемые патоген-ассоциированные молекулярные структуры (PAMPs). Внутриклеточные рецепторы TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9 специфичны к нуклеиновым кислотам бактерий и вирусов.

В тоже время TLRs распознают не только экзогенные структуры, но и эндогенные молекулы, которые высвобождаются или вырабатываются при повреждении ткани и при воспалении - молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями (DAMPs). К ним относятся белки теплового шока, фибронектин, жирные кислоты, гем, митохондриальная ДНК, АТФ, мочевиная кислота, сульфат гепарина и другие [172-176].

Эти компоненты высвобождаются из поврежденных клеток, воздействуют на toll-подобные рецепторы, в результате чего происходит выброс цитокинов. Данный воспалительный процесс носит название «стерильное воспаление» [177,178].

1.6.3. Функционирование toll-подобных рецепторов

В результате распознавания лигандов toll-подобными рецепторами генерируется активационный сигнал, вырабатываются провоспалительные цитокины (*TNF-α*, интерлейкины) и реализуется процесс воспаления. Так, при взаимодействии компонентов *Mycobacterium tuberculosis* с TLR2 и/или TLR6 начинается повышенная продукция оксида азота, а также усиленный апоптоз макрофагов, что потенциально может ограничить распространение микробов, размножающихся внутри клетки [179,180]. Активация TLRs эпителиальных клеток может индуцировать выработку антимикробных пептидов (дефенсинов), которые обеспечивают защиту от широкого спектра патогенов. Активация TLRs на дендритных клетках приводит к активной продукции *IL-12* и активации молекул CD80 и CD86, которые направляют дифференцировку Т-клеток в антиген-специфические эффекторные Т-клетки Th1 [175]. Активация TLR3, TLR7, TLR8,

TLR9 приводит к продукции интерферонов типа 1, которые играют решающую роль в противовирусном врожденном иммунитете. Различные лиганды TLRs, воздействуя на свои специфические рецепторы, могут приводить к продукции разных цитокинов. Поэтому в зависимости от того, какая комбинация toll-подобных рецепторов характерна для типа клеток данной ткани, иммунный ответ в различных тканях будет отличаться [172].

1.6.4. TLRs-связанная терапия

Изучение toll-подобных рецепторов носит не только теоретический характер для понимания патогенеза тех или иных патологических состояний. Особый интерес в настоящее время представляет создание новых лекарственных препаратов, воздействующих на систему toll-подобных рецепторов. Подавление активности этих рецепторов с помощью лекарственных препаратов является новым направлением аллергологии, онкологии, аутоиммунной патологии, в лечении различных воспалительных процессов [172]. Так, агонисты TLR7 показали свою эффективность в терапии новообразований. Их использование замедляло рост злокачественных новообразований и подавляло репликацию некоторых вирусов. Однако точный механизм действия этих агентов остается неизвестным. Имиквимод - синтетический агонист TLR7, который оказался очень эффективным в качестве монотерапии базально-клеточной карциномы при местном применении. Он также используется при лечении актинического кератоза и остроконечных кондилом [172].

Isatoribine - еще один синтетический агонист TLR7, который используют в лечении гепатита С. В исследовании, проведенном Y. Horsmans и соавт. (2005), было показано, что ежедневные инъекции изаторибина снижали вирусную нагрузку в крови [181].

Агонисты TLRs используют в терапии ВИЧ инфекции [182], вирусных гепатитов [50; 183]. Ведутся исследования по использованию агонистов TLR4 в

терапии таких заболеваний как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, ишемический инсульт, черепно-мозговые травмы, рассеянный склероз, атрофия нескольких систем и болезнь Хантингтона [184].

В мире проводятся исследования, направленные на разработку новых неонатальных вакцин и повышение иммуногенности вакцин для детей раннего возраста путем включения комбинаций агониста TLR и адъюванта [185]. Методы лечения, основанные на регуляции активности TLR, имеют огромный потенциал и предполагают многообещающие результаты. Однако требуется проведение дальнейших исследований, прежде чем такие препараты будут применяться в общеклинической практике [186].

1.6.5. Роль toll-подобных рецепторов во время беременности

Роль toll-подобных рецепторов во время беременности изучена в основном в связи с обнаружением инфекции в маточно-плацентарном комплексе. При наличии инфекции в половой системе происходит связывание бактериальных лигандов с TLRs децидуальной ткани, амниона, хориона, шейки матки, и это запускает воспалительный каскад.

В своем исследовании О.А.Ганковская (2010) показала, что у беременных с преждевременными родами на фоне урогенитальной инфекции экспрессия генов TLR1, TLR2 и TLR4 клетками цервикального канала возрастала в 52,5, 40,7 и в 2,4 раза соответственно в сравнении с группой женщин с физиологически протекающей беременностью. Еще более выраженное увеличение экспрессии TLR1 и TLR2 наблюдалось при развитии внутриутробной инфекции и хориоамнионита [187].

О.В. Макаров и соавт. (2007) установил, что непосредственно перед родами возрастает экспрессия TLR2 и TLR4 в слизистой цервикального канала и плаценте [188]. Гиперэкспрессия генов TLRs сопровождается увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе, включая

околоплодные оболочки и воды [189-191]. В частности, при действии на TLR2 происходит повышение уровня *IL-6* и *IL-8*, на TLR4 – возрастает *TNF- α* , что позволяет обнаружить их высокие концентрации в крови беременной, в амниотической жидкости, плаценте и стенке матки. При активации TLR2 наблюдается увеличение количества TLR-положительных макрофагов в шейке матки и нижнем маточном сегменте [192], что подтверждает предположение, что ПР связаны с внутриматочным воспалительным процессом.

Таким образом, в настоящее время различными исследованиями подтверждена роль TLRs в патогенезе ПР, связанных с наличием инфекционного агента [193-195] и доказана роль повышенной выработки провоспалительных цитокинов и повышенной экспрессии TLR и при начале своевременных родов [196].

Поскольку роль TLRs в генезе ПР, связанных с наличием инфекции доказана и не вызывает сомнений, нам показалось целесообразным изучить экспрессию toll-подобных рецепторов при ПР при исключении инфекционного фактора в половой системе. Будет ли также повышена экспрессия TLRs, как и при наличии инфекции? Если да, то какие рецепторы вовлечены в процесс активации преждевременной родовой деятельности? И исходя из этого, можно будет думать и о лигандах, которые активируют именно эти toll-подобные рецепторы: откуда они берутся? Ответы на данные вопросы позволят лучше понять патогенез преждевременной родовой деятельности. А понимание патогенеза сделает возможным использование не только симптоматической, а именно патогенетической терапии и профилактики ПР.

Кроме того, при отсутствии инфекции остается открытым вопрос о том, что может являться пусковым моментом для начала преждевременной родовой деятельности. Поэтому нами была выдвинута гипотеза, что одним из возможных триггеров ПР может быть преждевременный апоптоз плаценты.

Понимая, что с завершением беременности и плацента полностью завершает свое функционирование, у нас возникла идея изучить апоптоз в плаценте при своевременных и при преждевременных родах. Возможно, чрезмерная и/или преждевременная активизация процесса апоптоза в плаценте является триггером для запуска преждевременной родовой деятельности.

1.7. Апоптоз плаценты и его значение в генезе преждевременных родов

1.7.1. Апоптоз и его регуляция

Исследования программируемой клеточной смерти ведутся с конца 1960-х годов. Термин «апоптоз» был впервые употреблён в 1972 году в работе британских учёных — Дж. Керра, Э. Уайли и А. Керри. Одними из первых к изучению генетики и молекулярных механизмов апоптоза приступили С. Бреннер, Дж. Салстон и Р. Хорвиц, все трое в 2002 году были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине за открытие в области генетической регуляции развития органов и за достижения в исследованиях программируемой клеточной смерти.

При нормальной жизнедеятельности организма происходит постоянная запрограммированная гибель клеток. Одним из механизмов клеточной гибели является апоптоз [197,198]. Исследовано значение апоптоза при таких физиологических процессах как инвазия трофобласта, ремоделирование спиральных артерий. Апоптоз происходит при различных патологических состояниях и приводит к гибели клеток, выживание которых нежелательно для организма, а также при старении [198]. Несвоевременный активный апоптоз может привести к развитию и/или прогрессированию различных патологических процессов, в том числе при беременности. В настоящее время известно об активном процессе апоптоза в трофобласте и плаценте при самопроизвольных выкидышах [199], преэклампсии [200], плацентарной недостаточности [201], при преждевременном излитии околоплодных вод [202,203]. Известно, что процессы

апоптоза ускоряются при наличии воспалительного процесса, в том числе при преждевременных родах, вызванных инфекцией [204].

Однако еще не было исследований апоптоза в плаценте при спонтанных ПР, когда инфекционная этиология исключена или не доказана.

Процесс апоптоза можно условно разделить на три фазы: сигнальную (индукторную), эффекторную и деградиционную (фаза экзекуции или деструкции). Существует внешний и внутренний пути активации апоптоза (рисунок 5) [205].

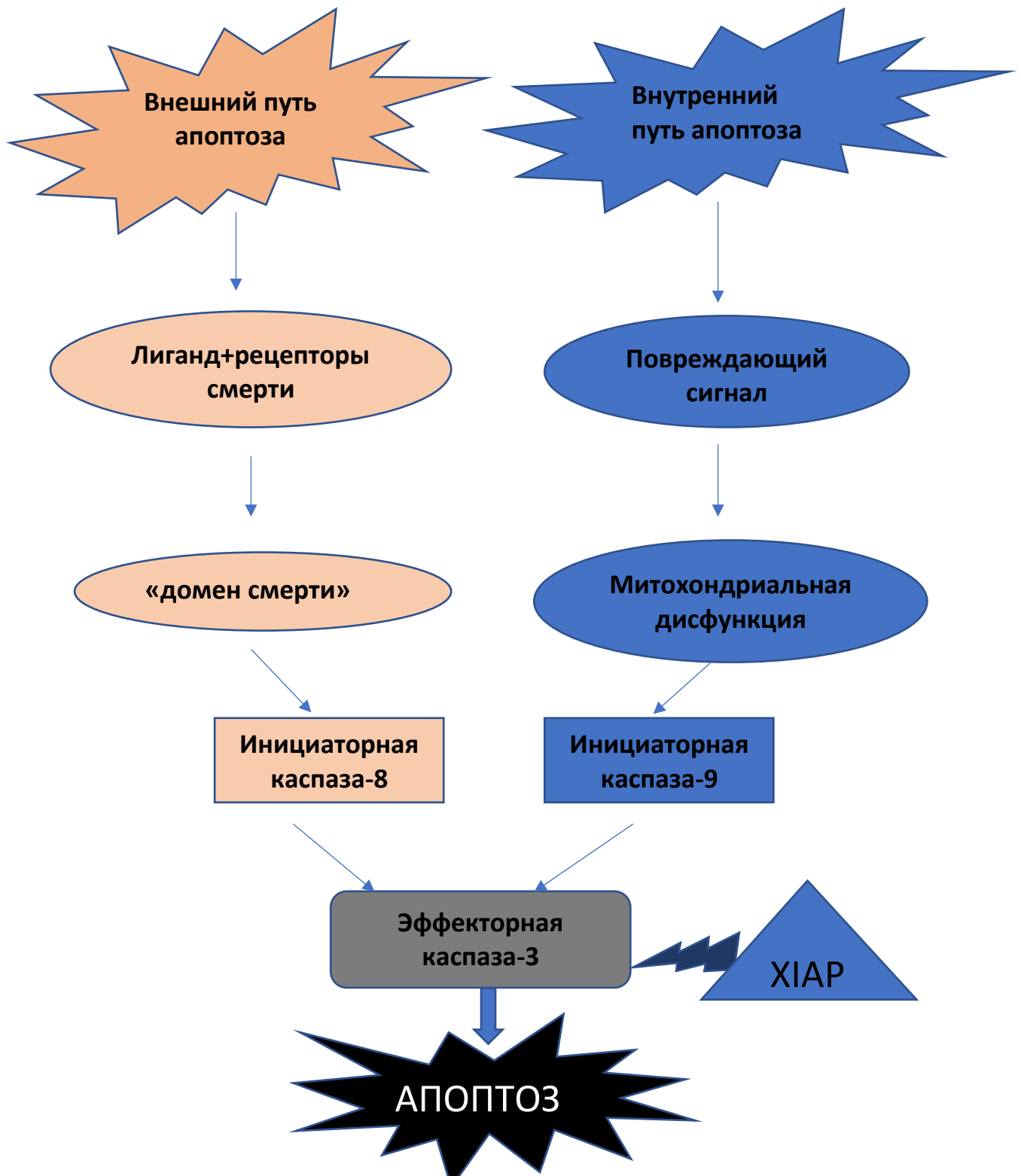


Рисунок 5 - Молекулярный механизм апоптоза

Внешний путь апоптоза запускается при связывании лиганда с рецепторами смерти, которых выделяют несколько видов TNF-R1, FAS (CD95), DR3, TRAIL-R1, TRAIL-R2 и др. Они являются трансмембранными белками и состоят из внеклеточной части и внутриклеточной части, которую называют «доменом смерти». Через ««домен смерти»» происходит активация инициаторных каспаз.

Внутренний путь апоптоза может быть запущен в ответ на повреждение ДНК, активацию онкогенов, избыток Ca^{2+} в клетке, отсутствие факторов роста (пептидный или стероидный гормон, стимулирующий рост и дифференцировку клетки), неправильно сложенные белки. Активация внутреннего пути приводит к повышению проницаемости наружной мембраны митохондрий. Из-за этого в цитоплазму выходят цитохром С и другие митохондриальные белки, которые активируют инициаторные каспазы.

Каспазы (англ. caspase; сокр. от англ. cysteine-dependent aspartate specific protease) — протеолитические ферменты, относящиеся к семейству цистеиновых протеаз, расщепляющие белки исключительно после аспартата. Каспазы присутствуют в клетке в неактивном состоянии в виде проферментов и активируются в процессе апоптоза. Выделяют 2 класса каспаз: инициаторные (каспазы-2,-8,-9 и -10) и эффекторные (каспаза-3,-5 и -7). Первые отвечают за начало апоптоза, вторые же регулируют расщепление клеточных компонентов. Активированная каспаза-8 способствует началу работы главной эффекторной каспазы-3. Оба пути апоптоза: и внешний и внутренний - сходятся на активации главной эффекторной каспазы-3, которая в свою очередь катализирует расщепление основных клеточных белков и конденсацию хроматина. Каспаза-3 также активирует ферменты ДНКазы, которые вызывают фрагментацию ДНК [205]. Поскольку активация каспаз приводит к необратимым последствиям, их

активность тщательно регулируется. В этом принимают участие ингибиторы белков апоптоза (inhibitors of apoptosis proteins, IAPs): кодируемый X-хромосомой IAP (XIAP) и клеточные ингибиторы апоптозных белков (cellular inhibitors of apoptosis protein; cIAP1,2). Эти белки ингибируют каспазы -3, -7, -9 [205; 206].

1.7.2. Значение апоптоза плаценты во время беременности

В настоящее время известно, что апоптоз клеток плаценты может быть индуцирован при активации toll-подобных рецепторов. Иммунологами высказывалась гипотеза TLR-опосредованного апоптоза: активация TLR2 через «домен смерти» (DD) приводит к последовательной активации инициаторных каспаз (каспаза-8) и эффекторных каспаз (каспаза-3). Активация же TLR4 на макрофагах приводит к выработке *TNF- α* , который в ткани плаценты через активацию его рецептора вызывает апоптоз клеток трофобласта [187; 189]. Гибель клеток плаценты в результате апоптоза может являться триггерным моментом для запуска воспалительного процесса и привлечения клеток-медиаторов воспаления, которые являются источниками провоспалительных цитокинов.

В исследовании C.W.Redman и I.L.Sargent (2001) было показано, что при усиленном апоптозе клеток трофобласта поступление в кровоток матери его обломков вызывает избыточный воспалительный ответ. Развивается так называемое «стерильное» воспаление [207]. Стерильное воспаление возникает при отсутствии микроорганизмов в ответ на повреждение тканей и сопровождается появлением DAMPs (damage-associated molecular patterns) – различных структур, образующихся при повреждении тканей. Многие DAMPs представляют собой ядерные или цитозольные белки, которые, высвобождаясь за пределы клетки после повреждения тканей, переходят из восстановительной среды в окислительную, что приводит к их функциональной денатурации [177; 208]. К DAMPs относятся фибронектин, фибриноген, ДНК, РНК, белки теплового шока, дефенсины и др. DAMPs распознаются toll-подобными рецепторами и в результате активации TLRs

происходит активная выработка провоспалительных цитокинов и запуск процесса стерильного воспаления [177].

Поскольку при ПР доказана роль воспаления в маточно-плацентарном комплексе, даже при исключении инфекции, то апоптоз при ПР может быть индуцирован или через TNF- α или Fas/Fas ligand. Именно поэтому мы решили изучить внешний путь апоптоза и в качестве инициаторной каспазы выбрали каспазу-8. Оба пути апоптоза сходятся на эффекторной каспазе-3, которую мы также выбрали для изучения. В качестве ингибитора апоптоза нами был выбран XIAP, который является универсальным ингибитором апоптоза на уровне каспазы-3.

Таким образом, целью нашего исследования явилось изучение экспрессии инициаторной каспазы-8, эффекторной каспазы-3 и ингибитора апоптоза XIAP в плаценте при преждевременных и своевременных родах.

Изучение патогенеза ПР в настоящее время представляет большой интерес для ученых всего мира. Изучение патогенеза ПР и понимание его механизмов позволит дифференцированного подходить к профилактике ПР, ведению беременности и выбору токолитической терапии.

1.8. Современные подходы к диагностике и ведению преждевременных родов

1.8.1. Диагностика преждевременных родов

Согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ основными диагностическими критериями ПР являются регулярные схватки (не менее 4 каждые 20 минут) и динамические изменения шейки матки (укорочение и сглаживание) [16]. Кроме того, ряд авторов рекомендуют в качестве критерия ПР считать укорочение шейки матки менее 20 мм по данным трансвагинального УЗИ

или длина шейки матки от 20 до < 30 мм на трансвагинальном УЗИ и положительном фибронектиновом тесте [18].

С целью возможного прогнозирования ПР в настоящее время возможно использование следующих методов:

- Определение длины шейки матки по данным ультразвуковой цервикометрии;
- Тест на определение фосфорилированного протеина-1 в цервикальном секрете (Актим-партус);
- Тест на определение плацентарного альфа-микроглобулина-1 (ПАМГ-1) (AmniSure).
- Выявление фибронектина в шеечно-вагинальном секрете с 24 до 35 недели [16,18].

Фосфорилированный протеин-1, связывающий инсулиноподобный фактор роста (ф-ПСИФР-1), производится децидуальными клетками. При отслаивании околоплодных оболочек от стенки матки в результате маточных сокращений происходит высвобождение фосфорилированного ПСИФР-1, который обнаруживается в шеечно-вагинальном секрете. Обнаружение ф-ПСИФР-1 является потенциальным маркером повышенного риска преждевременных родов [209].

Плацентарный альфа-микроглобулин-1 (ПАМГ-1) относится к классу низкомолекулярных белков, связывающих инсулиноподобные факторы роста. Во время беременности ПАМГ-1 синтезируется преимущественно децидуальной тканью и является индикатором функции материнской части плаценты. В околоплодных водах в I триместре беременности концентрация этого белка в 100-1000 раз выше, чем в сыворотке крови беременных. Максимальных значений концентрация ПАМГ-1 в амниотической жидкости достигает в 20-24 недель беременности и к 35 неделе снижается в 15 раз. ПАМГ-1 является важным биомаркером для выявления преждевременного разрыва плодных оболочек. На его определении основан тест AmniSure. Плацентарный микроглобулин был выбран в

качестве маркера разрыва оболочек благодаря своим уникальным характеристикам: высокой концентрации в околоплодных водах, низкому уровню в крови и исключительно низкому уровню в секрете влагалища и шейки матки при целых околоплодных оболочках. Поэтому наличие ПАМГ-1 в шеечно-вагинальном секрете говорит о том, что амниотическая жидкость там тоже присутствует, а значит, произошло излитие околоплодных вод [18].

Фибронектин — это белок, который входит в состав матрикса, диффузно распространенного между амниотическими оболочками и стенкой матки. Фибронектин способствует адгезии оболочек к стенке матки. При физиологической беременности фибронектин существует в форме фибрилл, находится в экстрацеллюлярном матриксе и не должен присутствовать в шеечно-вагинальном секрете. При отслаивании плодных оболочек от стенки матки в результате маточных сокращений происходит нарушением связи между амниотической оболочкой и стенкой матки. Высвобождается фибронектин, который затем попадает в шеечно-вагинальный секрет, что является основанием для его использования в качестве маркера для прогнозирования спонтанных преждевременных родов [18]. Однако в РФ данный диагностический тест в настоящее время не зарегистрирован.

Тактика ведения беременных с диагнозом ПР зависит от срока гестации, клинической картины, целостности плодного пузыря, состояния матери и плода.

При развитии родовой деятельности при сроке гестации 24-34 недели показана госпитализация пациентки в стационар III уровня и проведения следующей терапии:

- Профилактика РДС плода
- Токолиз
- Антибиотикопрофилактика
- Магнезиальная терапия [16].

1.8.2. Профилактика РДС плода

Согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ по ведению преждевременных родов рекомендуется проведение профилактики РДС плода кортикостероидными препаратами при установлении диагноза угрожающих ПР с 24 недель до 34 недель 0 дней. Кроме того, необходимо проводить профилактику РДС в следующих клинических случаях: преждевременный разрыв плодных оболочек; клинические признаки преждевременных родов в 24-34 полные (34 недель 0 дней) недели; беременным, нуждающимся в досрочном родоразрешении из-за осложнений беременности или декомпенсации экстрагенитальных заболеваний (гипертензивные состояния, СЗРП, предлежание плаценты, сахарный диабет, гломерулонефрит и т.д.). Курсовая доза адреностероидов составляет 24 мг. Возможно использование следующих схем введения: 2 дозы бетаметазона в/м по 12 мг с интервалом 24 часов; или 4 дозы дексаметазона в/м по 6 мг с интервалом 12 часов; или 3 дозы дексаметазона в/м по 8 мг через 8 часов. Повторные курсы глюкокортикоидов по сравнению с однократным курсом не приводят к снижению заболеваемости новорожденных и не рекомендуются к применению [16].

1.8.3. Токолитическая терапия

Целью токолитической терапии является пролонгирование беременности минимум на 48 часов, для проведения профилактики РДС плода, магнелиальной терапии и перевода беременной в стационар 3й группы (перинатальный центр) для оказания медицинской помощи [16,210].

Токолиз противопоказан в следующих ситуациях:

- внутриутробная гибель плода;
- аномалии развития плода несовместимые с жизнью;
- критическое состояние плода;
- преэклампсия тяжелой степени или эклампсия, тяжелая экстрагенитальная патология матери;
- кровотечение у матери с нестабильной гемодинамикой;

- преждевременная отслойка нормально или низко расположенной плаценты;
- хориоамнионит;
- преждевременный разрыв плодных оболочек при сроке беременности более 32 недель;
- несостоятельность рубца на матке;
- раскрытие маточного зева более 4 см;
- медицинские противопоказания к применению токолитического препарата.

В случае развития преждевременной родовой деятельности в акушерской практике для подавления сократительной активности миометрия нашли применение следующие препараты:

- β_2 -адреномиметики (гексопреналин)
- блокаторы рецепторов окситоцина (атозибан)
- блокаторы кальциевых каналов (нифедипин)
- Магния сульфат
- Индометацин
- Донаторы NO (нитроглицерин) [16].

Наиболее популярным токолитиком среди акушером-гинекологов в нашей стране является β -адреномиметик гексопреналин. Механизм миорелаксирующего действия на миометрий связан с действием на β_2 -адренорецепторы. Активируя аденилатциклазу и увеличивая уровень цАМФ, он снижает тем самым концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} . Кроме того, за счет активации протеинкиназы происходит инактивация миозинкиназы и подавляется сократительная активность миометрия.

Согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ рекомендовано 3 схемы введения гексопреналина: острый, массивный и длительный токолиз.

- ✓ острый токолиз: болюсное введение 10 мкг (1 ампула по 2 мл) препарата, разведенного в 10 мл изотонического раствора, в течение 5-10 минут с последующей инфузией со скоростью 0,3 мкг/мин;

- ✓ массивный токолиз: введение гексопреналина начинают с 0,01 мг (1 ампула по 2 мл) с последующей инфузией со скоростью 0,0003 мг в минуту;
- ✓ длительный токолиз: гексопреналин назначают в виде длительной капельной инфузии со скоростью 0,000075 мг в минуту.

При использовании β 2-адреномиметиков необходимы:

- контроль ЧСС матери каждые 15 минут;
- контроль АД матери каждые 15 минут;
- контроль уровня глюкозы крови каждые 4 часа;
- контроль объема вводимой жидкости и диуреза;
- аускультация легких каждые 4 часа;
- контроль за состоянием плода и сократительной активностью матки

[16].

Антагонисты окситоциновых рецепторов являются принципиально новым классом токолитических препаратов, они блокируют окситоциновые рецепторы, способствуют снижению тонуса миометрия и уменьшению сократимости матки. Кроме того, препараты этой группы угнетают эффекты вазопрессина путем связывания с его рецепторами, но при этом не оказывает влияния на сердечно-сосудистую систему. В эту группу входит препарат **атозибан** (трактоцил).

Атозибан — это синтетический пептид, являющийся конкурентным антагонистом человеческого окситоцина на уровне рецепторов. В случае развития преждевременных родов у женщины атозибан в рекомендованных дозах подавляет сокращения матки. Расслабление матки начинается сразу после введения атозибана, в течение 10 минут сократительная активность миометрия значительно снижается, поддерживая стабильный функциональный покой матки (≤ 4 сокращений в час) в течение 12 ч.

Препарат вводится в три этапа внутривенно после постановки диагноза "преждевременные роды":

- 1) болюс- в течение 1 мин вводят в начальной дозе 6.75 мг (0,9мл);

2) насыщение - инфузия в дозе 300 мкг/мин (скорость введения 24 мл/ч, доза атозибана 18 мг/ч) в течение 3 ч;

3) продолжительная инфузия - атозибан в дозе 100 мкг/мин (скорость введения 8 мл/ч, доза атозибана 6 мг/ч) вводится в течение 45 часов.

Общая продолжительность лечения не должна превышать 48 ч. Максимальная доза атозибана на весь курс составляет 330 мг [211].

Среди блокаторов кальциевых каналов в настоящее время в качестве токолитика рекомендовано использование **нифедипина**. Однако в РФ данный препарат не зарегистрирован как токолитик и для его использования необходимо письменное информированное согласие пациентки [16].

Сульфат магния до настоящего времени остается одним из наиболее популярных средств для снижения сократительной активности миометрия в мире. В настоящее время нет данных, объясняющих действие сульфата магния на сократительную активность матки, несмотря на более чем 40-летнюю историю использования его в акушерской практике. Многочисленные исследования использования магнезии для лечения преждевременных родов не выявило преимуществ этого препарата в сравнении с другими, но и не показало его неэффективность [212].

Ионы магния, конкурируя с ионами внутриклеточного кальция, способствуют гиперполяризации мембраны клетки и подавляют активность легкоцепочечной миозин-киназы. Несмотря на это, сульфат магния не обладает явным токолитическим эффектом, и использование его в качестве токолитика вызывает сомнения [16].

В 2017 г. опубликованы результаты мета-анализа, посвященного оценке нейропротективных возможностей магния сульфата, назначаемого при угрожающих или начавшихся ПР. Результаты свидетельствуют: использование магния сульфата привело к снижению частоты ДЦП и неонатальной смертности [213]. Поэтому в настоящее время в терапии ПР рекомендуется использование

сульфата магния в качестве нейропротектора. Рекомендуется вводить 4 г сухого вещества в течение 20 минут с последующей инфузией по 1 г сухого вещества в час. Максимальная доза 24 г сухого вещества [16].

Индометацин - препарат из группы нестероидных противовоспалительных препаратов. Его фармакологическое действие связано с ингибированием циклооксигеназ (COX-1 и COX-2) в цикле арахидоновой кислоты, за счет чего снижается синтез простагландинов, простациклинов и тромбоксана. Таким образом, он оказывает противовоспалительное, анальгезирующее и антиагрегантное действия.

В качестве токолитического препарата индометацин рекомендован к применению в сроках гестации 24-32 недели по следующей схеме: сначала 50-100 мг перорально или ректально, затем по 25 мг каждые 4-6 часов, не более 48 часов [16].

Донатор NO – **нитроглицерин**, может оказывать токолитическое действие, за счет подавления легкоцепочечной миозин-киназы [214]. Поэтому нитроглицерин также возможно использовать в качестве токолитика. Однако нет убедительных данных, подтверждающих его эффективность, но нет и данных, опровергающих это. Нитроглицерин можно использовать трансдермально в виде пластыря (10 мг на кожу живота и при сохраняющейся клинике преждевременных родов через час добавить еще 10 мг) [215] или внутривенно со скоростью 20 мкг\мин [216]. Однако препараты данной группы не нашли применения в качестве токолитиков.

В разных странах мира подход к токолизу существенно отличается (Таблица 5). Это, вероятно, связано с отсутствием высокоэффективного препарата или эффективной схемы лечения ПР.

ВОЗ не рекомендует проводить токолиз при ПР, ограничиваясь использованием профилактики респираторного дистресса плода [19]. По мнению ВОЗ ни одна группа препаратов (β -адреномиметики, блокаторы кальциевых

каналов, блокаторы окситоциновых рецепторов, ингибиторы циклооксигеназы) не показала доказанного эффекта в сравнении с плацебо. В тоже время ВОЗ приводит данные ряда исследований, которые говорят о том, что β -адреномиметики и блокаторы кальциевых каналов позволяют пролонгировать беременность на 48 часов и даже на 7 и более дней у женщин с угрожающими ПР, а блокаторы окситоциновых рецепторов показывают высокую эффективность на сроке до 28 недель. Данные по ингибиторам циклооксигеназы противоречивы, а донаторы NO и прогестерон не показали эффективности при развитии ПР.

Таблица 5 - Рекомендуемые препараты для токолиза

Страна\организация	Рекомендуемый препарат для токолиза
ВОЗ	Не рекомендует токолиз
Европейская ассоциация перинатальной медицины	гексопреналин атозибан нифедипин
Американская коллегия акушеров-гинекологов	гексопреналин нифедипин индометацин
Клинические рекомендации Минздрава РФ	гексопреналин атозибан нифедипин
Ведущий клинический ресурс, основанный на базе доказательной медицины UpToDate	индометацин нифедипин атозибан

Согласно рекомендациям ВОЗ, если же врач считает нужным провести токолиз, то препаратом выбора является нифедипин: начальная доза 10-30 мг и затем 10-20 мг каждые 4-8 часов в течение 48 часов. Использование магния сульфата рекомендовано в случае начавших преждевременных родов на сроке до 32 недель для снижения частоты ДЦП у детей (в\венно 4 г в течение 20 минут и затем 1 г в час или 4 г в течение 30 минут и затем по 2 г в час) [217].

Европейская ассоциация перинатальной медицины в качестве препаратов первой линии для токолиза рассматривает β -адреномиметики (гексопреналин).

Также рекомендовано использование блокатора окситоциновых рецепторов (атозибан), блокатора кальциевых каналов (нифедипин). Ингибиторы циклооксигеназы (индометацин, аспирин) отнесены к группе с ограниченной эффективностью, а сульфат магния – с недоказанной эффективностью [218]. Однако рекомендовано использование сульфата магния для снижения частоты ВЖК.

В США токолиз не рекомендован [219]. Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) даже отказалось одобрить использование атозибана для токолиза из-за опасений о безопасности препарата при использовании во время беременности менее 28 недель беременности, поскольку проведенный мета-анализ в 2014 году показал неэффективность атозибана в сравнении с плацебо - не было снижения частоты ПР на всех сроках гестации [220]. Однако Американская коллегия акушеров-гинекологов говорит о необходимости применения сульфата магния при ПР для снижения частоты ВЖК у недоношенных детей, а также рассматривает сульфат магния в качестве возможного препарата для токолиза [221].

Ведущий клинический ресурс UpToDate, основанный на базе доказательной медицины, считает, что наиболее эффективным токолитиком является индометацин [22]. В метаанализе двух рандомизированных исследований 2015 года, в котором индометацин сравнивался с плацебо и с β -адреномиметиками для лечения ПР, использование индометацина снижало риск родов в течение 48 часов после начала токолиза [222]. При этом не было отмечено увеличения неблагоприятных исходов у новорожденных. При использовании индометацина основными опасениями врачей являются преждевременное сужение артериального протока у плода и маловодие. В метаанализе 2015 года, включающем 27 исследований, не было выявлено статистических различий в частоте РДС, закрытия артериального протока, неонатальной смертности, неонатального сепсиса, бронхолегочной дисплазии или ВЖК у новорожденных, чьи матери получали индометацин в сравнении с контрольной группой плацебо [223]. Преждевременное

сужение или закрытие артериального протока может привести к легочной гипертензии у новорожденного, а также к регургитации трикуспидального клапана у плода и новорожденного из-за увеличения постнагрузки на правый желудочек. В литературе сообщалось о нескольких случаях преждевременного сужения Боталлова протока в тех случаях, когда продолжительность использования индометацина превышала 48 часов [223; 224]. Однако это осложнение не наблюдалось у плодов, получавших более короткий курс токолиза индометацином [225-227]. Сужение протока зависит как от срока гестации, так и от продолжительности воздействия. Наиболее часто это осложнение встречается после 31-32 недель [22]. Поэтому индометацин не рекомендуется после 32 недель беременности. До 32 недель возможно проведение эхокардиографического обследования плода, если продолжительность терапии индометацином превышает 48 часов. Сонографические признаки сужения протока включают трикуспидальную регургитацию, дисфункцию правого желудочка [22,228]. Применение индометацина после 20 недель беременности снижает продукцию мочи плода и, в свою очередь, объем околоплодных вод, что потенциально приводит к маловодию [22,229,230]. Наибольший риск маловодия возникает при использовании индометацина более 48 часов. Однако объем околоплодных вод обычно приходит в норму в течение 24-48 часов после отмены препарата [22; 231-233].

Таким образом, в настоящее время в разных странах мира подход к токолизу радикально отличается, что требует дальнейшего изучения данного вопроса и вероятно даже поиска новых, более эффективных препаратов для подавления преждевременно начавшейся родовой деятельности. Согласно клиническим рекомендациям и протоколам токолиз любыми wybranными препаратами рекомендуются применять на сроках 24-34 недели беременности в течение 48 часов, что связано с необходимостью транспортировки пациентки в стационар III уровня для оказания полного объема помощи недоношенному ребенку [16].

Однако всеми экспертами подчеркивается тот факт, что чем выше гестационный возраст недоношенного ребенка, тем лучше перинатальные и отдаленные исходы его развития [234]. Поэтому необходимо задуматься о возможности пролонгирования беременности при ПР, и в том числе проведение токолитической терапии, не только в течение 48 часов для транспортировки и реализации эффекта профилактики РДС плода глюкокортикоидами, но и на более длительное время.

И поэтому проблема преждевременных родов не только в предотвращении их, но и в возможности пролонгирования беременности до максимально возможного срока.

Как уже говорилось выше, ВОЗ и Американская коллегия акушеров-гинекологов не рекомендуют проведение токолиза, объясняя это отсутствием высокоэффективных препаратов, способных затормозить и/или остановить преждевременно начавшуюся родовую деятельность. Действительно, данные литературы крайне противоречивы, когда речь заходит об эффективности того или иного токолитика [22; 217-219; 234]. Поскольку, ПР являются многофакторной проблемой, то одной из причин неэффективности токолиза может быть тот факт, что в своем большинстве препараты, рекомендованные для токолиза, действуют уже на конечное звено ПР – непосредственно на матку через β -адренорецепторы (гексопреналин), окситоциновые рецепторы (атозибан), Ca^{2+} -каналы (нифедипин, сульфат магния). И лишь индометацин воздействует на более раннее звено патогенеза ПР, подавляет синтез циклооксигеназ и препятствует выработке простагландинов (Рисунок 6).



Рисунок 6 - Патогенез ПР и рекомендованные токолитики

Поэтому детальное понимание всех звеньев патогенеза ПР, возможно, поможет поиску препаратов, действующих заблаговременно, до появления активных маточных сокращений, что сделает токолиз более эффективным.

Кроме того, одной из причин неэффективности токолиза может быть наличие инфекции в маточно-плацентарном комплексе. Согласно данным литературы в 20 - 75% случаев ПР выявляются гистологические признаки хориоамнионита, в 30-60% случаев в посевах обнаруживаются различные возбудители [235-238]. Инфекционный агент стимулирует toll-подобные рецепторы и запускает процесс воспаления, в исходе которого отмечается повышенная продукция провоспалительных цитокинов, простагландинов (E и F2α) и происходит преждевременное прерывание беременности. Поэтому вопрос о назначении антибиотикопрофилактики и антибиотикотерапии при ПР является очень актуальным.

1.8.4. Антибиотикопрофилактика и антибиотикотерапия при преждевременных родах

Необходимость применения антибиотиков для профилактики ПР также вызывает дискуссии. Клиническими рекомендациями по ведению

преждевременных родов Минздрава РФ антибиотикопрофилактика может быть использована при бессимптомной бактериурии, выявлении β -гемолитического стрептококка, сифилисе и гонорее. Рекомендован скрининг и лечение бактериального вагиноза и хламидийной инфекции. При этом не рекомендован рутинный скрининг на патогенную и условно-патогенную флору нижних отделов половых путей беременных. Однако указывается на положительный опыт пролонгирования беременности при включении антибактериальной терапии при лейкоцитозе, выявлении высокой колонизации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в посевах из влагалища и шейки матки [16].

Согласно данным литературы, многочисленные исследования в области эпидемиологии, микробиологии, акушерства и гинекологии показали прямую связи между наличием инфекции половой системы и ПР. Доказана связь ПР с наличием таких возбудителей как *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhea*, *Trichomonas vaginalis*, *Ureaplasma*, *Haemophilus influenzae* [239-247]. При этом данные о применении антибактериальных препаратов для лечения выявленной инфекции противоречивы. Ряд исследователей сообщали о снижении частоты ПР при рутинном скрининге и лечении инфекции в начале 2 триместра, а другие не показали никакого эффекта от рутинного применения антибиотиков, что, вероятно, может быть связано с неправильным использованием антибактериальных препаратов и/или со сложностями выявления таких «привередливых» возбудителей как *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* [17].

Данные о необходимости применения антибактериальной терапии при бактериальном вагинозе также крайне противоречивы. Бактериальный вагиноз повышает риск ПР в 2,16 раза [248]. Однако в настоящее время нет исследований, которые бы убедительно показали необходимость применения антибиотиков при нарушении флоры влагалища. Метаанализ 8 исследований, проведенный в 2015 году, показал, что профилактическое применение АБ препаратов во 2 и/или 3 триместре у беременных с ПР в анамнезе и бактериальным вагинозом снижало риск ПР при настоящей беременности [249]. Беременным с симптомами бактериального вагиноза рекомендовано применение любой из следующих схем лечения:

- метронидазол 500 мг перорально 2 раза в день в течение 7 дней
- метронидазол 250 мг внутрь 3 раза в день в течение 7 дней
- клиндамицин 300 мг перорально 2 раза в день в течение 7 дней [250].

Некоторые клиницисты избегают применения метронидазола в первом триместре беременности, поскольку он проникает через плаценту и, следовательно, может быть потенциально тератогенным для плода. Однако метаанализ не выявил никакой связи между применением метронидазола в течение первого триместра беременности и врожденными дефектами плода [251]. Кроме того, в настоящее время доказано, что женщины с полиморфизмом генов цитокинов (в частности *TNF-α*) имеют более выраженный воспалительный иммунный ответ на различные инфекционные стимулы, такие как бактериальный вагиноз. А усиленная продукция цитокинов у них многократно повышает риск ПР [252].

В тоже время Американская коллегия акушеров и гинекологов (ACOG) и Общества акушеров-гинекологов Канады не рекомендуют проводить рутинный скрининг и лечение всех беременных с бессимптомным бактериальным вагинозом для предотвращения ПР, считая, что для таких рекомендаций проведенных исследований недостаточно [253; 254].

Таким образом, подход к антибиотикотерапии и антибиотикопрофилактике ПР также неоднозначен и требует проведения дальнейших исследований и доработки.

В случае, когда токолиз оказывается неэффективен и остановить преждевременную родовую деятельность не представляется возможным, возникает следующий дискуссионный вопрос – выбор оптимальной тактики родоразрешения при ПР [23].

1.9. Акушерская тактика при преждевременных родах

В настоящее время среди акушеров-гинекологов нет единого мнения о том, какой метод родоразрешения предпочтителен для недоношенных детей. И у родоразрешения путем операции кесарева сечения и у родов через естественные родовые пути есть сторонники и противники (Рисунок 7) [23].

Утверждения о том, что кесарево сечение при ПР позволит снизить риск гибели плода или новорожденного, а также риск родовой травмы, были встречены утверждениями о том, что такая тактика увеличивает риск серьезных осложнений как для матери, так и для недоношенного ребенка.



Рисунок 7 - Преимущества разных методов родоразрешения при преждевременных родах

Те акушеры-гинекологи, которые считают, что родоразрешение путем операции кесарева сечения (КС) при ПР является оптимальным, говорят о том, что КС является бережным методом рождения для недоношенного ребенка. Это уменьшает риск и частоту внутрижелудочковых кровоизлияний (ВЖК) у недоношенных детей и тем самым снижается перинатальная заболеваемость и смертность и улучшаются отдаленные прогнозы (снижение частоты ДЦП, когнитивных, психических проблем) [255]. В случае необходимости родоразрешения путем операции кесарева сечения недоношенный плод оптимально извлекать в целом плодном пузыре, что позволяет минимизировать риск травмы головы недоношенного новорожденного и снизить частоту ВЖК [256].

ВЖК является одной из причин неонатальной смертности среди недоношенных детей. Смертность детей с внутрижелудочковыми кровоизлияниями напрямую зависит от его степени. Так, при ВЖК I степени смертность детей составляет 4%, II степени - 10%, III степени – 18%, а при IV степени достигает 40% [257]. В последующем, у детей, перенесших ВЖК III или IV степени, выявляются серьезные когнитивные и моторные нарушения (ДЦП), а также ряд психиатрических проблем (депрессия, маниакально-депрессивный психоз) в подростковом возрасте. У большинства из них выявляется снижение интеллектуальных функций, 76% из них нуждаются в специализированном обучении, так как имеют серьезные трудности с чтением, письмом и математикой [70].

В случае синдрома задержки роста плода при недоношенной беременности в 26-31 недели родоразрешение путем операции КС увеличивает выживаемость новорожденных [25; 258; 259]. То же самое наблюдается при сочетании тазового предлежания и ПР: Gravenhorst и соавт. (1993) обнаружил тенденцию к снижению уровня неонатальной смертности у недоношенных (до 32 недель) или очень маловесных (менее 1500 г) детей с тазовым предлежанием, рожденных путем кесарева сечения, по сравнению с естественными родами [260].

С другой стороны, те специалисты, которые говорят о необходимости ведения преждевременных родов через естественные родовые пути приводят следующие аргументы: у рожденных через естественные родовые пути недоношенных детей ниже частота респираторных проблем, и они реже нуждаются в проведении ИВЛ [23,261,262]. Кесарево сечение связано с повышенным риском РДС плода, потому что для созревания легких у новорожденных необходимы гормональные и физиологические изменения, связанные с родами [23,261,262]. При развитии РДС недоношенных новорожденных часто переводят на искусственную вентиляцию легких, а именно проведение искусственной вентиляции легких и связанная с ней гипоперфузия мозга на фоне падения напряжения углекислого газа является одной из причин ВЖК у недоношенных [263].

Кроме того, кесарево сечение, как любое оперативное вмешательство, это повышенный риск гнойно-септических и тромбоэмболических осложнений. Инфекционные осложнения (эндометрит, послеродовой сепсис), тромбоз и тромбоэмболия легочной артерии, кровотечения действительно чаще происходят после кесарева сечения [264; 265]. Однако многие из этих осложнений могут быть следствием основных показаний к экстренному родоразрешению путем операции КС.

В глобальном исследовании материнской и перинатальной заболеваемости и смертности ВОЗ в 2005 г. отмечено повышение риска материнской смертности после КС по сравнению с естественными родами в 3-5 раз, риск гистерэктомии - в 2 раза [266]. Кроме того, выполнение КС при недоношенном сроке беременности в несформированном нижнем сегменте матки повышает риск кровотечения и формирования в последующем несостоятельного рубца на матке, риск предлежания и вставания плаценты при последующей беременности [266; 267].

В ряде исследований перинатальных исходов преждевременных родов не было показано их улучшения после родоразрешения путем КС в сравнении с родами через естественные родовые пути [26]. В анализе, проведенном Z.Alfirevic и соавт. в 2013 году, частота родовой травмы новорожденных, асфиксии при рождении, церебральной ишемии, РДС и перинатальной смертности не отличалась в обеих группах [23]. В исследовании BJ Wylie и соавт. (2008) не было выявлено достоверного улучшения перинатальных исходов в случае родоразрешения путем операции КС для недоношенных детей с ЭНМТ и ОНМТ (до 1500 г) [268].

В тоже время исследование A. Humberg и соавт. (2017) показало, что для недоношенных новорожденных до 30 недель гестации оптимальным методом родоразрешения является родоразрешение путем операции кесарева сечения. Именно данный вид родов снижает частоту ВЖК. После 30 недель гестации не было выявлено статистически значимых различий перинатальных исходах после КС и вагинальных родов [269]. Таким образом, среди акушеров-гинекологов нет единого взгляда на тактику родоразрешения при ПР. Европейская ассоциация перинатальной медицины, несмотря на рекомендации по ведению ПР,

подчёркивает, что в настоящее время нет убедительных и однозначных подходов к ведению ПР, что требует дальнейшего изучения данной проблемы [270].

1.10. Профилактика преждевременных родов

В настоящее время согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ беременным группы высокого риска ПР для профилактики ПР рекомендовано использование:

1. препараты прогестерона вагинально
2. наложение швов на шейку матки при ее укорочении менее 25 мм [16].

Европейская ассоциация перинатальной медицины, кроме того, рекомендует использовать аспирин при высоком риске ПР [271].

1.10.1. Значение прогестерона для профилактики преждевременных родов

Прогестерон является основным гормоном беременности и его выработка желтым телом, а затем плацентой, имеет решающее значение для поддержания и пролонгирования беременности. Механизм его действия до конца не ясен, однако доказано расслабляющее действие на миометрий, а также противовоспалительный эффект и подавление апоптоза клеток трофобласта [272; 273].

Подавляющие данные нескольких метаанализов свидетельствуют о том, что назначение прогестерона во время беременности снижает частоту спонтанных преждевременных родов у женщин с ПР в анамнезе, а также у женщин с короткой шейкой матки по данным УЗИ (менее 25 мм) [274-276]. Кроме того, у детей, чьи матери получали прогестерон во время беременности, перинатальная заболеваемость была ниже, а частота развития некротического энтероколита, ВЖК и РДС значительно снизились. Также не было никаких доказательств вирилизации женского потомства, что является одной из теоретических проблем этой терапии [277-279].

Однако в 2016 году в журнале *Lancet* были опубликованы результаты исследования J.E. Norman и соавт., где изучались результаты применения 200 мг прогестерона ежедневно с 22-24 до 34 недель беременности у 1228 женщин с ПР в анамнезе или при укорочении шейки матки менее 25 мм по данным УЗИ или при положительном фибронектиновом тесте. Данное исследование установило, что прогестерон не оказывал существенного влияния на снижение частоты ПР и не улучшал перинатальных исходов [280]. Однако несмотря на противоречивые результаты различных исследований, у пациенток с угрожающими спонтанными ПР прогестерон остается препаратом выбора для всех акушеров-гинекологов в мире.

Такие противоречивые данные могут быть связаны с разными формами и дозами препаратов прогестерона. Исследования *In vitro* и на животных показывают, что тип прогестина, доза, способ доставки и концентрация в плазме крови (которая варьируется у пациентов, получающих прогестерон) существенно влияют на эффективность [281-283]. Кроме того, у женщин с кровянистыми выделениями, наличием гонореи или хламидиоза эффективность терапии прогестероном низка [284; 285].

Существует натуральный или микронизированный прогестерон и синтетические аналоги (гестагены) натурального прогестерона (дидрогестерон, гидроксипрогестерона капроата). Также существуют разные формы выпуска препаратов прогестерона: капсулы для перорального и интравагинального использования (утрожестан), таблетированная форма (дюфастон), ампулы 12,5% раствора гидроксипрогестерона капроата в масле.

Натуральный или микронизированный прогестерон – это препарат по химической формуле на 100% идентичный эндогенному прогестерону. Микронизация дает возможность уменьшить размеры кристаллов вещества, что повышает его биодоступность за счет более быстрого всасывания, проникновения в кровотоки и растворимости.

Натуральный прогестерон обычно вводится вагинально. Преимущество вагинального прогестерона заключается в его высокой биодоступности в матке,

поскольку воздействие на матку происходит до первого прохождения через печень. Он имеет мало системных побочных эффектов, но раздражение влагалища может вызывать беспокойство, так как препарат необходимо вводить ежедневно. Рекомендованные дозы от 90 до 400 мг ежедневно.

Ряд исследований показал, что использование именно вагинальных форм препаратов прогестерона тормозит созревание шейки матки, в отличие от других форм введения [286, 287]. Рекомендовано начинать применение препаратов прогестерона при появлении клинических симптомов угрожающих ПР. У женщин с ПР в анамнезе начинать прогестероновую поддержку рекомендовано не позднее 16-20 недель беременности и продолжать до 36 недель и 6 дней [287].

1.10.2. Тактика при укорочении шейки матки

Укорочение шейки матки является одним из первых шагов, которые приводят к родам. Причина укорочения шейки матки во время беременности до конца не ясна. Это может быть связано с истмикоцервикальной недостаточностью, появлением спонтанных преждевременных маточных сокращений, наличием инфекции и развитием воспалительного процесса [288; 289]. Укорочение шейки матки < 25мм до 24 недель гестации является важным предиктором последующих спонтанных ПР [222]. Поскольку изменения в шейке матки начинаются с области внутреннего зева, то именно поэтому основным методом выявления укорочения шейки матки является УЗИ [290].

Согласно клиническим рекомендациям РФ об укорочении шейки матки следует говорить, когда ее длина менее 25 мм по данным трансвагинальной цервикометрии [16]. Американская коллегия акушеров-гинекологов в качестве диагностического критерия у женщин без анамнеза ПР использует критерий ≤ 20 мм, а у женщин с предшествующими самопроизвольными ПР - менее 25 мм на сроке до 34 недель беременности [254]. Следует отметить, что диагноз короткой шейки матки обычно ставится только беременным женщинам. Измерения длины шейки матки у небеременных женщин не являются достоверными для прогнозирования спонтанных преждевременных родов [17; 254; 291; 292].

Также в мире нет единого мнения о необходимости проведении рутинного скрининга длины шейки матки. Так, в США Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM) рекомендует рутинное трансвагинальное ультразвуковое исследование длины шейки матки в период от 16 до 24 недель беременности только для женщин с предшествующими спонтанными ПР в анамнезе [292]. Для женщин с неотягощённым анамнезом скрининг считается целесообразен, однако не рекомендовано его рутинное проведение.

Международная федерация гинекологии и акушерства (FIGO) рекомендует ультразвуковой скрининг длины шейки матки всем беременным на сроках 19-24 недели [293].

Согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ рутинная трансвагинальная цервикометрия целесообразна у всех женщин при УЗИ во II триместре. А у женщин группы риска ИЦН рекомендовано неоднократное трансвагинальное УЗИ (1 раз в 1-2 недели) в период с 15 по 24 неделю. Критериями постановки диагноза ИЦН является укорочение шейки матки менее 25 мм и/или дилатация цервикального канала более 10 мм на всем протяжении [16].

При выявлении укорочения шейки матки рекомендованы следующие шаги:

- ✓ бактериологическое исследование мочи, шейки матки и влагалища и последующая терапия при выявлении возбудителей
- ✓ прогестерон интравагинально
- ✓ наложение швов на шейку матки (серкляж)
- ✓ установка акушерского pessaria [16].

Постельный режим не рекомендуется женщинам с короткой шейкой матки. Он не улучшает прогноз течения беременности [294-296], однако увеличивает риск тромбоэмболических осложнений и может фактически увеличить риск преждевременных родов [294-300].

Таким образом, большинство мировых исследований склоняет к тому, что при укорочении шейки матки наиболее эффективным методом коррекции ИЦН является наложение швов на шейку матки до 24 недель беременности [292; 293;

301]. При диагностике укорочения шейки матки после 24 недель показана терапия препаратами прогестерона.

1.10.3. Использование аспирина для профилактики преждевременных родов

Существует гипотеза о том, что использование аспирина при больших акушерских синдромах снижает вероятность воспаления и ишемии в маточно-плацентарном комплексе, что приводит к снижению частоты ПР, ПЭ и ПН [18; 271; 302].

В мире было проведено несколько исследований оценки эффективности применения аспирина для профилактики преждевременных родов. 303.

S.Roberge и K.Nicolaides и соавт. в 2013 году провели мета-анализ, который показал, что назначение небольших доз аспирина (50-150 мг ежедневно) женщинам группы риска в сроках до 16 недель беременности приводит к значительному снижению частота ПР и ПЭ [303]. М. Andrikopoulou и соавт. (2018) показали, что использование 60 мг аспирина с 13-25 недель беременности снижает риск ПР до 34 недель гестации [304]. Результаты исследования большой группы ученых под руководством М.К. Hoffman, опубликованные в 2020 году в журнале Lancet, показали, что назначения аспирина в дозе 81 мг, начиная с 6-14 недель беременности и до срока 36 недель 6 дней или до родоразрешения, привело к статистически значимому снижению частота ПР до 34 недель и к снижению перинатальной смертности [305].

В исследовании L.Visser и соавт. (2017) была доказана эффективность аспирина у пациенток с ПР в анамнезе. Рекомендовано использовать аспирин в дозе 80 мг 1 раза в день начиная с 8-16 недель и до 36 недель 6 дней. Согласно проведенному исследованию отмечено снижение частоты ПР с 36% до 23% [306].

Таким образом, аспирин предотвращает сразу 2 причины ПР: спонтанную родовую деятельность и ПР, вызванные осложнениями беременности (преэклампсия, плацентарная недостаточность) и тем самым снижает частоту ПР и улучшает материнские и перинатальные исходы.

Говоря о проблеме преждевременных родов, нельзя не сказать о тактике ведения последующей беременности у женщин с ПР в анамнезе.

1.11. Ведение беременности и родов у женщин с преждевременными родами в анамнезе

В настоящее время в мире нет больших исследований, посвященных ведению беременности и родов у женщин, перенесших ПР. Ведущий клинический ресурс UpToDate попытался систематизировать те небольшие исследования, посвященные проблеме последующей беременности у женщин с ПР в анамнезе [307]. Согласно их результатам, все пациентки с повышенным риском ПР в сроке 24-33 недели 6 дней должны получить терапию глюкокортикоидами антенатально (24 мг дексаметазона или бетаметазона внутримышечно по схеме) в сроках повышенного риска ПР, то есть в те гестационные сроки, на которых прерывалась предыдущая беременность.

Терапию прогестероном не рекомендуется начинать до появления симптомов угрожающих ПР (боли в нижних отделах живота, укорочение шейки матки по данным цервикометрии). Однако при появлении клиники угрожающих ПР необходимо начать использование препаратов прогестерона и продолжить до 36 недели.

Вопрос о целесообразности госпитализации и ее продолжительности должен решаться индивидуально, учитывая клинические симптомы, состояние шейки матки, анамнез, состояние беременной и плода. После выписки рекомендован еженедельный контроль за состоянием пациентки либо при визите ко врачу, либо по телефону. При этом принимаются во внимание жалобы, состояние пациентки, при посещении врача – проведение цервикометрии. При отрицательной динамике со стороны шейки матки возможно превентивное назначение глюкокортикоидов для профилактики РДС плода.

Ряд исследований доказал серьезный вред от назначения постельного режима пациенткам с ПР в анамнезе, за счёт повышения у них частоты тромбэмболических осложнений [294-300]. Относительно физической активности рекомендовано ограничение подъема тяжестей (не более 9 кг), отмена силовых тренировок. Режим работы не должен быть более 40 часов в неделю, без ночных смен, без длительного стояния (более 4 часов). Также рекомендован половой покой. Поездки на автомобиле, поезде или даже самолетом значительно увеличивают риск ПР.

Использование поддерживающей токолитической терапии (таблетированные формы или помпа) для предотвращения возможных клинических симптомов ПР не показали своей эффективности. Нет убедительных доказательств пользы профилактической антибиотикотерапии для женщин ПР в анамнезе и с целым плодным пузырём, и без признаков инфекции. В систематическом обзоре и метаанализе рандомизированных исследований 2007 года назначение профилактической антибактериальной терапии женщинам с высоким риском ПР не приводило к снижению частоты ПР [308; 309]. Однако Европейская ассоциация перинатальной медицины считает необходимым и обоснованным проводить курс антибиотикопрофилактики у женщин с ПР доказанной инфекционной природы до 20 недель гестации, а также проводить бактериологическое исследование шейки матки, влагалища и мочи всем беременным с ПР в анамнезе. При выявлении инфекции – проводить антибиотикотерапию клиндамицином, метронидазолом [20].

Использование пессария при укорочении шейки матки у женщин с ПР в анамнезе в сравнении с рутинным ведением беременности у данных пациенток показало тенденцию к сокращению спонтанных ПР до 34 недель (с 13,7% до 10,7%; RR 0,78; 95% CI 0,45–1,38) и статистически значимое сокращение спонтанных преждевременных родов до 37 недель (с 25,1% до 14,7%; RR 0,58; 95%CI 0,38–0,90) и преждевременного излития вод (с 8,0% до 2,3%; RR 0,28; 95%CI 0,09–0,84);

однако неонатальная заболеваемость и смертность были одинаковыми в обеих группах [310].

Таким образом, у женщин с ПР в анамнезе согласно обобщённым данным UpToDate рекомендована следующая схема ведения последующей беременности:

- антенатальная терапия глюкокортикоидами с сроках 24-34 недели беременности при повышении риска преждевременных родов;
- использование препаратов прогестерона при угрожающих ПР или при укорочении шейки матки по данным цервикометрии;
- амбулаторное наблюдение данных пациенток 1 раз в неделю при удовлетворительном состоянии пациентки, удовлетворительных показателях состояния плода и отсутствии осложнений беременности;
- цервикометрия 1 раз в неделю для наблюдения за состоянием шейки матки;
- ограничение физической нагрузки;
- половой покой, постельный режим, поддерживающий прием токолитиков, рутинная антибиотикопрофилактика не рекомендованы [307].

Заключение

Преждевременные роды остаются одной из важнейших медико-социальных проблем мира в связи с рождением большого числа недоношенных детей, высокой перинатальной заболеваемостью и смертностью среди них, а также тяжелыми отдалёнными последствиями недоношенности. И несмотря на то, что многое сделано и продолжает делаться в мире для предотвращения ПР, в настоящее время не хватает главного – понимания патогенеза ПР. Мы до сих пор не можем ответить на вопрос: что и как запускает спонтанные ПР? Почему происходит преждевременное начало маточных сокращений? А именно ответ на этот вопрос позволит изменить наш подход к профилактике и терапии ПР: использовать не симптоматический, а именно патогенетически обоснованный подход к данной проблеме. Кроме того, понимание патогенеза ПР позволит более эффективно

проводить профилактику ПР, особенно группе риска и у женщин с ПР в анамнезе. ВОЗ в своей стратегии снижения частоты ПР поставила именно проведение исследований патогенеза ПР на первое место.

Таким образом, исследования патогенеза ПР являются одними из самых актуальных в мире акушерства и гинекологии. Уже доказана воспалительная этиология ПР: в МПК выявляет высокая концентрация провоспалительных цитокинов (*TNF- α* , интерлейкинов). Этот патогенез понятен при наличии инфекционного фактора. Однако до 50% ПР – это так называемые спонтанные ПР, этиология которых пока остается неизвестной. Именно они и являются в настоящее время предметом повышенного интереса и изучения учеными в мире.

В нашей работе будут обобщены уже имеющиеся данные о преждевременных родах. Мы изучим важные вопросы, касающиеся этиологии патогенеза ПР и тактики их ведения. Данные исследования позволят обосновать подходы к профилактике, выбору токолитической терапии и методу родоразрешения при ПР, что позволит снизить их частоту, особенно экстремально ранних и ранних ПР, улучшить перинатальные и отдаленные исходы ПР.

Глава 2.

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БЕРЕМЕННЫХ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Дизайн исследования

Дизайн исследования представлен на Рисунке 8. Данное исследование состоит из проспективной и ретроспективной частей.



Рисунок 8 - Дизайн исследования

Целью проспективного исследования было изучение возможных звеньев патогенеза преждевременных родов, которые приводят к повышенной продукции провоспалительных цитокинов и простагландинов в маточно-плацентарном комплексе. Оно включало:

- исследование полиморфизма генов ряда цитокинов;
- оценка экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала;
- изучение апоптоза плаценты на основании экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP при преждевременных и своевременных родах.

Общими критериями исключения из проспективного исследования были пациентки с:

- ✓ сроком гестации менее 22 недель и 37 недель и более.
- ✓ инфекциями;
- ✓ хориоамнионитом;
- ✓ преждевременным излитием околоплодных вод;
- ✓ безводным промежутком более 12 часов;
- ✓ тяжелой соматической патологией и хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации;
- ✓ сахарным диабетом;
- ✓ миомой матки и\или пороками развития матки;
- ✓ беременностью, наступившей в результате вспомогательных репродуктивных технологий;
- ✓ многоплодной беременностью;
- ✓ преэклампсией и ее осложнениями (эклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, HELLP-синдром и др.);
- ✓ плацентарной недостаточностью;
- ✓ предлежанием плаценты;
- ✓ хромосомными аномалиями и врожденными пороками развития плода;

Для отбора пациенток в основные группы проспективного исследования были использованы следующие критерии. На первом этапе были выбраны пациентки с клиникой угрожающих ПР на сроке беременности 22-36 недель. Диагноз угрожающих ПР формировался в соответствии с «Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем» X пересмотра (МКБ-10) и был установлен на основании жалоб пациенток на тянущие боли в нижних отделах живота и подтвержден повышенным тонусом матки и укорочением шейки матки менее 25 мм по данным цервикометрии.

Далее у всех пациенток был исключен инфекционный генез угрожающих ПР на основании данных анамнеза (острые инфекционные заболевания или обострение хронических инфекционных заболеваний в время беременности) и микробиологического исследования содержимого цервикального канала, мазка из влагалища и мочи. На этом этапе у 72,2% женщин была выявлена инфекция в мочеполовой системе, и они были исключены из исследования. Также мы исследовали уровень провоспалительных цитокинов (TNF- α и IL-6) в шеечно-вагинальном секрете. У ряда пациенток были выявлены провоспалительные цитокины в цервикальном секрете без выявления бактериального или вирусного агента. Эти пациентки также были исключены из исследования. Таким образом, в проспективное исследование вошли только пациентки с клиникой ПР с исключенным инфекционным фактором в мочеполовой системе, что позволяет отнести их к спонтанным ПР.

Исследование полиморфизма генов провоспалительных цитокинов было проведено у 66 беременных с угрожающими ПР на сроке 23-36 недели, у которых беременность закончилась ПР, несмотря на проводимую терапию, направленную на пролонгирование беременности. В контрольную группу вошли 42 женщины с неосложненными своевременными родами (Рисунок 9).

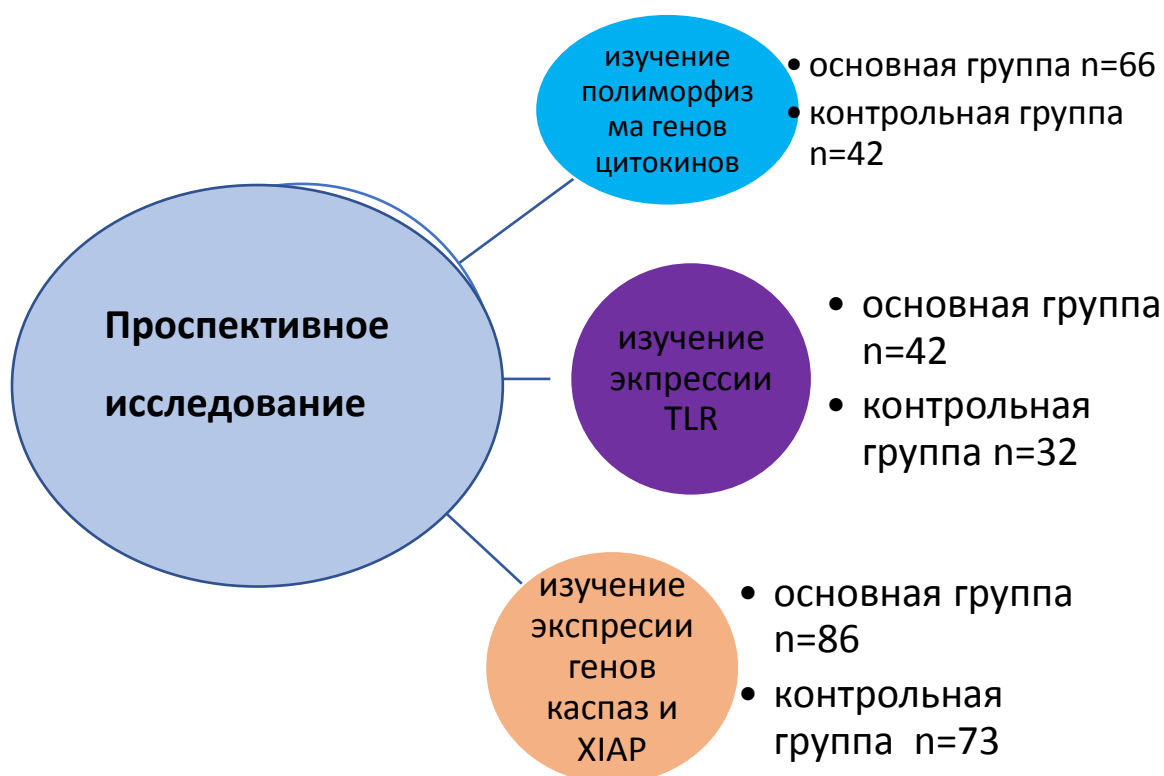


Рисунок 9 - Группы пациенток проспективного исследования

Для оценки экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала нами были выбраны 42 пациентки с клиникой угрожающих спонтанных ПР на сроке 22-34 недель. Контрольную группу составили 32 женщины с неосложненным течением беременности.

С целью изучения апоптоза плаценты были изучены плаценты 159 пациенток: у 86 из них произошли ПР и у 73 - своевременные неосложненные роды. Мы оценивали экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP в плаценте при спонтанных преждевременных и своевременных родах,

У всех пациенток получено информированное согласие на участие в исследовании.

С целью анализа перинатальных исходов и определения оптимальной тактики родоразрешения при ПР проведено ретроспективное исследование 764 историй одноплодных беременностей и родов, закончившихся ПР на сроке 22-36

недель и 6 дней в родильном доме ГKB имени С.С.Юдина (бывшая ГKB №7) г. Москвы в период 2012-2017 гг.

2.2. Клиническая характеристика женщин исследуемых групп

2.2.1. Ретроспективное исследование

Ретроспективное исследование проводилось на основании анализа данных историй беременности и родов 764 пациенток родильном доме ГБУЗ ГKB имени С.С.Юдина (бывшая ГKB №7) г. Москвы в период 2012-2017 гг.. У всех пациенток было головное предлежание плода, одноплодная беременность, которая закончилась преждевременными родами на сроке 22-36 недель и 6 дней.

Данные соматического анамнеза 764 пациенток ретроспективного исследования представлены в Таблице 6.

Таблица 6 - Особенности соматического анамнеза пациенток с ПР

Особенности	Частота% (n)
возраст	29,9 (4,6)
отягощенный соматический анамнез	49,5%(378)
артериальная гипертензия	2,9% (22)
варикозная болезнь	4,7% (36)
генетическая тромбофилия	2,4% (18)
тромбозы в анамнезе	1,1% (8)
миопия	9,9% (76)
заболевания легких (пневмония, бронхит, туберкулез, саркоидоз)	1,8% (14)
нарушения жирового обмена	9,4% (72)
сахарный диабет	0,8% (6)
инфекционные заболевания в анамнезе (тонзиллит, отит пиелонефрит, цистит, гайморит, холецистит, менингит и др.)	24,9% (190)
курение	7,98% (61)
наркомания	2,1% (16)
необследованные	18,6% (142)

Средний возраст пациенток с ПР составил 29,9 лет с колебаниями от 16 до 45 лет. У каждой второй пациентки (49,5%) в анамнезе выявлено наличие какого-либо хронического заболевания, а у каждой четвертой (24,9%) – хроническая патология инфекционной природы (хронический пиелонефрит, цистит, тонзиллит, гайморит, отит и др.). При этом каждая пятая беременная (18,6%) не наблюдалась в женской консультации.

Таблица 7 - Особенности акушерско-гинекологического анамнеза пациенток ретроспективного исследования

Особенности анамнеза	Частота% (n)
Паритет	
первородящие	49,7% (380)
повторнородящие	50,3% (384)
ОАГА	66,8% (510)
искусственные прерывания беременности	34,3% (262)
самопроизвольные прерывания беременности до 12 недель	13,4% (102)
неразвивающаяся беременность	8,6% (66)
преждевременные роды	3,1% (24)
рубец на матке	1,8% (14)
инфекции половой системы	25,9% (198)
миома матки	6,5% (50)
бесплодие	2,9% (22)
беременность после ВРТ	3,9% (30)

Различий в частоте перво- и повторнородящих выявлено не было (49,74% и 50,26%; $p > 0,05$) (Таблица 7). При анализе акушерско-гинекологического анамнеза пациенток с ПР, представленного в Таблице 7, было обнаружено, что у 66,8% он был отягощен. У половины пациенток (47,7%) в анамнезе были искусственные и/или самопроизвольные прерывания беременности. У каждой четвертой (25,9%) были обнаружены и пролечены различные инфекции половой системы. Преждевременные роды в анамнезе были только у 3,1% женщин.

Таблица 8 - Особенности течения беременности у пациенток ретроспективного исследования

Осложнения беременности	Частота% (n)
угроза прерывания беременности	25,7% (196)
истмикоцервикальная недостаточность	2,6% (2)
отеки, индуцированные беременностью	5,2% (4)
преэклампсия	17,5% (134)
плацентарная недостаточность	12,3% (94)
анемия	4,2% (32)
многоводие	1,3% (10)
маловодие	2,1% (16)
гестационный пиелонефрит	1,6% (12)
гестационный сахарный диабет	1,3% (10)
внутрипеченочный холестаз	1,6% (12)
преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты	9,7% (74)
преждевременное излитие околоплодных вод	32,3% (247)
инфекция шейки матки	39,4% (301)

Из особенностей течения настоящей беременности обращает на себя внимание, что у каждой четвертой пациентки беременность осложнялась угрозой ее прерывания (25,7%) (табл.7). При этом лишь у 2,6% беременных выявлена истмикоцервикальная недостаточность и произведена ее коррекция путем установки акушерского pessaria или операции наложения швов на шейку матки. У 17,5% пациенток беременность осложнилась преэклампсией умеренной и тяжелой степени, плацентарная недостаточность отмечена у 12,3% женщин. Самым частым осложнением беременности было преждевременное излитие околоплодных вод (32,4%). При этом длительность безводного промежутка колебалась от нескольких часов до 7 дней. Всем пациенткам с ПР при поступлении в стационар проводилось бактериологическое исследование цервикального канала. По результатам его у 39,4% женщин выявлена инфекция в шейке матки. Основными возбудителями были E.faecalis, E.coli, St.coagulase negative, K.pneumoniae.

Согласно данным ретроспективного исследования наиболее часто ПР происходили на сроках 34-37 недель беременности - 45,3% (Рисунок 10).

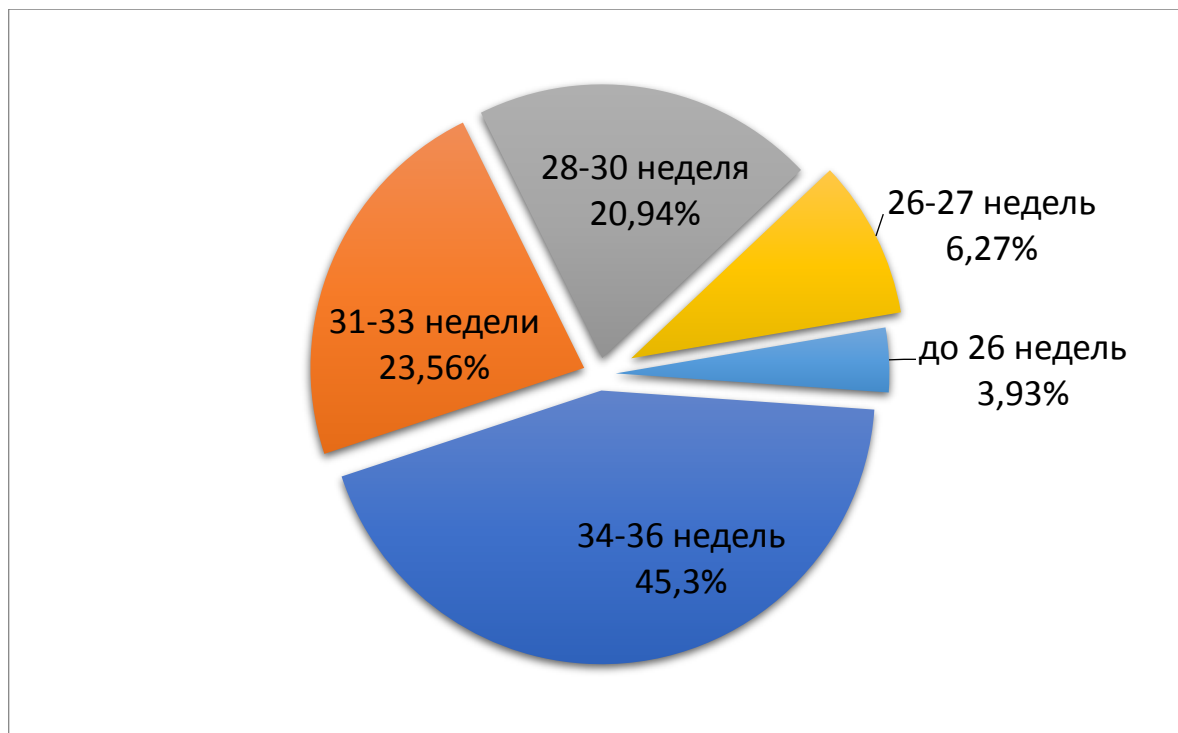


Рисунок 10 - Частота ПР по данным ретроспективного исследования в зависимости от гестационного срока

На сроке до 26 недель гестации произошло лишь 3,93% из общего числа ПР. Частота экстремально ранних ПР (до 28 недель) составила 10,2%, ранних (28-30 недель и 6 дней) – 20,94%, ПР (31-33 недели и 6 дней) – 23,56%.

Основными причинами ПР явились тяжелые осложнения беременности (33,5%; n=256), инфекция (32,5%, n=248) и преждевременное спонтанное развитие регулярной родовой деятельности при отсутствии инфекционного фактора (34,0%; n=260), (Рисунок 11).

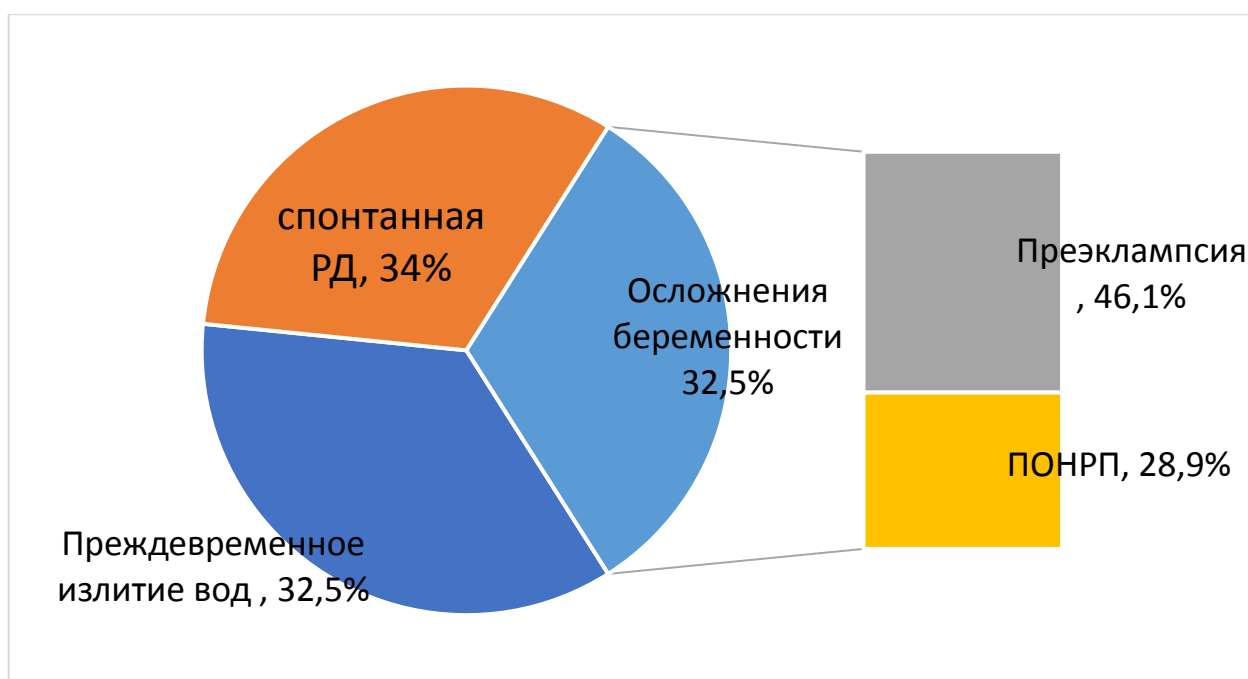


Рисунок 11 - Причины развития ПР по данным ретроспективного исследования

При наличии инфекции в 70,6% случаев (n=175) происходило преждевременное излитие околоплодных вод, в остальных случаях (29,1%; n=73) - преждевременное начало родовой деятельности.

Частота оперативного родоразрешения при ПР составила 52,4%. Показаниями к операции кесарева сечения были преэклампсия тяжелой степени (28,5%), преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (18,5%), тяжелая плацентарная недостаточность (13,5%), преждевременное излитие вод при наличии рубца на матке (13,5%) и тазовом предлежании плода (9,0%), тяжелая соматическая патология беременной (6,0%), кровотечение при предлежании плаценты (4,0%). У 47,6% женщин ПР произошли через естественные родовые пути. Частота слабости родовой деятельности в родах составила 3,3%.

При анализе перинатальных исходов ПР нами не было выявлено гендерных различий в перинатальных исходах: частота рождения мальчиков и девочек составила 50,3% и 49,7% соответственно (Таблица 9).

Таблица 9 - Перинатальные исходы преждевременных родов ретроспективного исследования

Осложнения	Частота % (n)
ЭНМТ	6,3% (48)
ОНМТ	13,9% (106)
гипоксия при рождении - всего	73,3% (560)
гипоксия тяжелая	5,2% (40)
гипоксия умеренная	13,6% (104)
гипоксия легкая	54,5% (416)
РДС	47,0% (359)
ИВЛ	20,7% (158)
СРАР	26,3% (201)
пневмония	34,0% (260)
церебральная ишемия	74,3% (568)
синдром возбуждения	44,9% (343)
синдром угнетения	55,1% (421)
ВЖК всего	6,8% (52)
из них:	из них:
1 степени	11,5% (6)
2 степени	46,2% (24)
3 степени	30,8% (16)
4 степени	11,5% (6)
ВУИ	23,8% (182)
госпитализация в ПРИТ	77,5% (592)
минимальный койко-день	3
максимальный койко-день	85
средний койко-день	17,5 дней
умерших	6,5% (50)
перинатальная заболеваемость	950,3‰
перинатальная смертность	60,21‰

Лишь 4,97% новорожденных были здоровыми: все они были рождены на сроке 36-37 недель и были выписаны из стационара на 5-7 сутки.

Экстремально низкая масса тела (ЭНМТ) отмечена в 6,3% наблюдений. Сроки гестации этих новорожденных колебались от 23 до 30 недель. Очень низкая масса тела при рождении наблюдалась у 13,9% детей, рожденных на сроках 27-36 недель. Четверть детей родились без признаков гипоксии (26,7%) при сроке 33-37 недель беременности. Однако в последующем 42,2% из них потребовалось

наблюдение и лечение в условиях палаты реанимации и интенсивной терапии с последующим переводом на второй этап выхаживания. У половины новорожденных был РДС (47,0%), что потребовало проведения ИВЛ ил СРАР. Частота пневмонии и внутриутробного инфицирования при этом составили 34,0% и 23,8% соответственно.

Церебральная ишемия отмечена у 74,3% новорожденных, при этом у 86,3% из них среднетяжелые, а у 5,71% - тяжелые поражения ЦНС. Частота ВЖК составила 6,81%, из них половина 3 и 4 степени.

77,5% недоношенных детей нуждались в наблюдении и лечении в отделении реанимации и интенсивной терапии, и последующем переводе на 2 этап выхаживания. Средний койко-день недоношенного новорожденного был 17,5 суток с колебаниями от 3 до 85 дней.

Перинатальная смертность составила 60,21%, ранние неонатальные потери - 45,21%.

Наибольшая частота перинатальных потерь пришлась на срок до 28 недель гестации – 69,6% (Рисунок 12).



Рисунок 12 - Распределение перинатальных потерь при ПР в зависимости от гестационного срока

Основными причинами перинатальной смертности явились недоношенность (30,4%), внутрижелудочковые кровоизлияния 2-4 степени (21,7%), внутриутробная инфекция (13,0%), пороки развития плода (8,7%).

2.2.2. Проспективное исследование

Проспективное исследование проводилось в 3 этапа и состояло из изучения полиморфизма генов цитокинов, исследования экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала и изучения апоптоза плаценты при спонтанных преждевременных и своевременных родах. Исследование полиморфизма генов провоспалительных цитокинов было проведено у 66 беременных с угрожающими ПР на сроке 23-36 недели, у которых беременность закончилась ПР, несмотря на проводимую терапию, направленную на пролонгирование беременности. В контрольную группу вошли 42 женщины с

неосложненными своевременными родами. Для оценки экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала нами были выбраны 42 пациентки с клиникой угрожающих ПР на сроке 22-34 недель. Контрольную группу составили 32 женщины с неосложненным течением беременности. С целью изучения апоптоза плаценты были изучены плаценты 159 пациенток: у 86 из них произошли ПР и у 73 - своевременные неосложненные роды.

Таким образом, в группу проспективного исследования были включены 194 пациенток с преждевременными родами и 147 женщин с неосложненными своевременными родами.

Особенности анамнеза женщин проспективного исследования представлены в Таблице 10.

Таблица 10 - Особенности анамнеза пациенток проспективного исследования

	Основная группа (n=194)	Контрольная группа (n=147)	Достоверность
Возраст	27,3 (2,5)	28,2 (2,3)	$p > 0,05$
Средний гестационный срок на момент проведения исследования	27,8 (3,1)	28,95 (2,9)	$p > 0,05$
Первородящая	65,5% (127)	66,7% (98)	$p > 0,05$
Повторнородящая	34,5% (67)	33,3% (49)	$p > 0,05$
Отягощенный соматический анамнез	46,4% (90)	12,9% (19)	$p < 0,05$
Искусственные и\или самопроизвольные прерывания беременности в анамнезе	35,1% (68)	10,9% (16)	$p < 0,05$
ПР в анамнезе	14,4% (28)	0%	$p < 0,05$
Инфекционные заболевания в анамнезе	71,6% (139)	21,8% (32)	$p < 0,001$
Инфекции, передающиеся половым путем в анамнезе	36,1% (70)	12,2% (18)	$p < 0,05$

Различий в возрасте и среднем гестационном сроке исследования в группах не было. В обеих группах преобладали первородящие пациентки. Отягощенный

соматический и акушерско-гинекологический анамнез достоверно чаще был у пациенток с преждевременными родами. Кроме того, ПР в анамнезе были только у пациенток основной группы. Инфекционные заболевания (хронический пиелонефрит, цистит, тонзиллит, гайморит, отит и др.) (71,6% и 21,8%; $p < 0,001$) и инфекции, передаваемые половым путем, статистически значимо чаще встречались в анамнезе у пациенток с ПР (36,1% и 12,2%; $p < 0,05$).

Наибольшее количество ПР проспективного исследования также пришлось на срок 34-36 недель и 6 дней, а частота экстремально ранних ПР составила 15,5% (Рисунок 13).

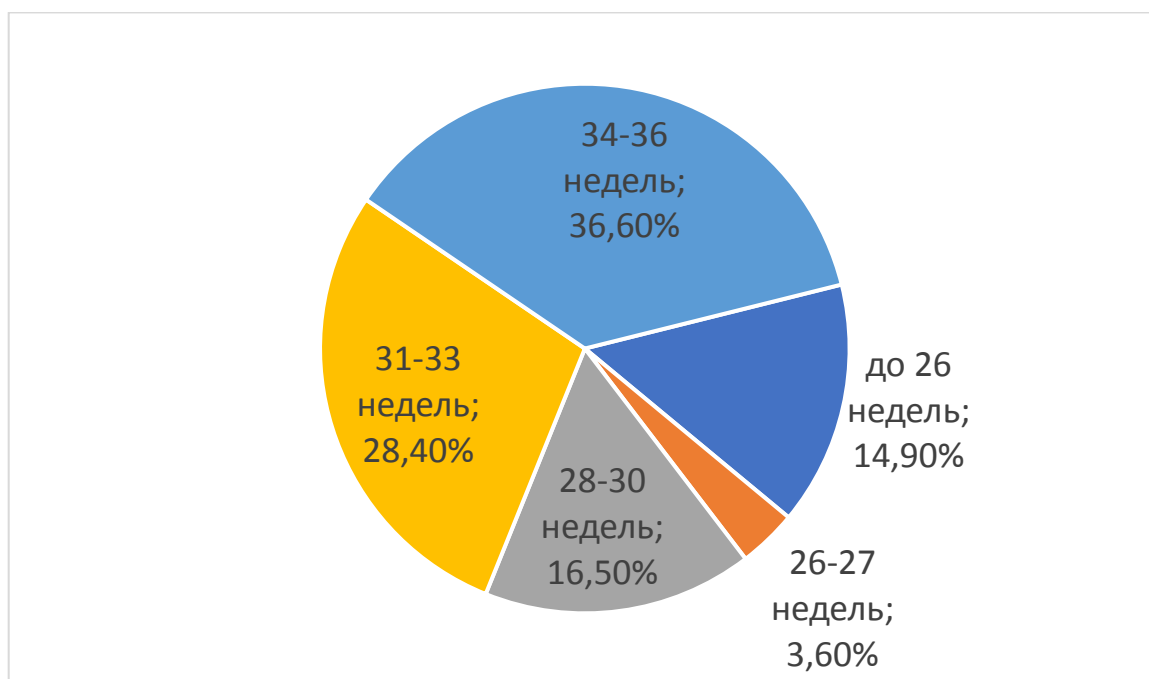


Рисунок 13 - Частота ПР проспективного исследования в зависимости от гестационного срока

Поскольку данная группа ПР проспективного исследования была сформирована после тщательного отбора пациенток и исключения почти 72,2% пациенток из исследования по причине наличия инфекционного фактора в мочеполовой системе, то эта группа несколько неточно отражает истинное

распределение частоты ПР на разных гестационных сроках, а также материнские и перинатальные исходы ПР.

2.3. Методы исследования

Лабораторные исследования выполнены в лабораториях ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (директор института - член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор О. А. Свитич)

2.3.1. Изучение полиморфизма генов провоспалительных цитокинов

В качестве потенциальных предикторов ПР был изучен полиморфизм 4 генов цитокинов, которые наследуются по аутосомно-доминантному типу: *TNF- α* - 308G/A, *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2), *IL-4 VNTR* (интрон 3). Исследование проводили путем взятия соскоба со слизистой щеки, после чего выделяли геномную ДНК с помощью фенол-хлороформной экстракции [311].

Полиморфные варианты гена *TNF- α* -308G/A и гена *IL-1 β* -3953C/T определяли с помощью ПЦР с последующей обработкой продукта амплификации эндонуклеазой рестрикции (ПДРФ-анализ) и электрофореза полученных фрагментов. Реакцию проводили на амплификаторе Eppendorf MasterCycler (Eppendorff). Анализ продуктов гидролиза проводили в 7% ПААГ, гель окрашивали бромистым этидием с визуализацией ДНК УФ-светом, затем фотографировали с помощью цифровой видеокамеры Vatec (Япония).

Синтез *IL-1Ra* происходит за счет экспрессии гена *IL-1RN*. Полиморфные варианты генов *IL-1RN VNTR* (интрон 2) и *IL-4 VNTR* (интрон 3) определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). В результате амплификации детектировали фрагменты ДНК различного размера. Анализ продуктов амплификации проводили в 6% ПААГ, гель окрашивали бромистым этидием с

визуализацией ДНК УФ-светом, затем фотографировали с помощью цифровой видеокамеры Vatec (Япония).

2.3.2. Исследование toll-подобных рецепторов

Для исследования экспрессии генов toll-подобных рецепторов клетками эпителия цервикального канала после удаления слизи соскобы слизистой шейки матки собирались цитощеткой тип D модель 1 в отдельные стерильные эппендорфы. Из эпителиальных клеток на первом этапе выделяли РНК методом аффинной сорбции на частицах силикагеля с помощью набора «АмплиПрайм РИБО - сорб» компании ИнтерЛабСервис (РФ) строго в соответствии с протоколом. Далее проводилась реакция обратной транскрипции с помощью «Набора реагентов для проведения обратной транскрипции» (Синтол, РФ) строго в соответствии с протоколом. Праймеры для последовательностей исследуемых мРНК были подобраны с помощью программы Vector NTI 8,0 и синтезированы фирмой Синтол. Праймеры и зонды для ПЦР-РВ были смоделированы в компьютерной программе Vector NTI 8,0 в соответствии с последовательностями мРНК исследуемых генов (последовательности мРНК были взяты в базе GenBank) и синтезированы в фирме «Синтол» (РФ). Для проведения ПЦР был использован «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I» (Синтол, РФ) строго в соответствии с протоколом. После приготовления реакционных смесей пробирки помещали в амплификатор для ПЦР-РВ ДТ-96 (ДНК - технология, РФ). Режим реакции - 40 циклов (95 °C 20 минут, 60 °C 40 минут).

Определение цитокинов *IL-6* и *TNF-α* в слизи цервикального канала производилось с помощью иммуноферментных наборов (по соответствующим приложенным регламентам) для количественного определения *IL-6* и *TNF-α*: Human IL-6 Platinum ELISA и Human TNF alpha Platinum ELISA компании Thermo Fisher Scientific (США).

2.3.3. Оценка маркеров апоптоза плаценты

Для исследования экспрессии генов каспазы-3 (*CAS3*), каспазы-8 (*CAS8*) и *XIAP* в клетках трофобласта была использована плацента после родов через естественные родовые пути и путём операции кесарева сечения. Все образцы в количестве 159 были собраны сразу после рождения. Ткань плаценты транспортировалась в среде RPMI-1640 с глутамином (ПанЭко) с добавлением 100 мкг/мл гентамицина в течение 1 часа при температуре от 0 до +4°C. Далее производились гомогенизация ткани с небольшим добавлением лизирующего раствора и выделение РНК методом аффинной сорбции на частицах силикагеля с помощью набора «АмплиПрайм РИБО - сорб» компании ИнтерЛабСервис (РФ) строго в соответствии с протоколом.

На следующем этапе проводилась реакция обратной транскрипции с помощью «Набора реагентов для проведения обратной транскрипции» (Синтол, РФ) строго в соответствии с протоколом. Праймеры и зонды для ПЦР-РВ были смоделированы в компьютерной программе Vector NTI 8,0 в соответствии с последовательностями мРНК исследуемых генов (последовательности мРНК были взяты в базе GenBank) и синтезированы в фирме «Синтол» (РФ). Для проведения ПЦР был использован «Набор реагентов для проведения ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I» (Синтол, РФ) строго в соответствии с протоколом. Непосредственно реакцию ПЦР-РВ проводили на приборе ДТ-96 (ДНК - технология, РФ), режим реакции 95°C - 5 мин; 40 циклов (95 °C 20 сек, 61 °C 40 сек). Для расчета относительного показателя количества копий исследуемого гена (относительно экспрессии гена домашнего хозяйства GAP) использовали приборное обеспечение прибора.

2.4. Статистический анализ

Применяли компьютерные статистические программы BioStat и SPSS Statistics, а также программу Excel.

Для количественных данных, имеющих нормальное распределение, были рассчитаны среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD), которые представлены в формате M(SD).

Качественные показатели представлены в абсолютных (n) и/или в относительных (%) величинах. Для анализа качественных показателей использовали критерий χ^2 с поправкой Йетса и точный критерий Фишера. Основой статистической обработки данных был χ^2 – анализ четырехпольных таблиц распределения в основной и контрольной группах. Помимо достоверности различия частот, вычисляли отношение рисков (RR), с расчетом 95% доверительного интервала (95%CI).

Экспрессию генов TLRs оценивали в относительных единицах (OE). Для каждого образца получали значение логарифма числа копий исследуемого гена и числа копий гена β -актина для нормировки результатов. Количество копий определяемого гена в дальнейшем пересчитывалось относительно 1 млн. копий гена β -актина. OE – это отношение количества копий по исследуемому гену (в нашем случае TLR2, TLR4 и TLR 9) к количеству копий по гену «домашнего хозяйства» (гену β -актина). При описании показателей использовали медианы (Me) и квартили Q1 и Q3 в формате Me (Q1;Q3). Для оценки статистической достоверности различий экспрессии генов в исследуемых группах использовали непараметрический критерий Манна – Уитни.

Экспрессию генов каспаз и XIAP оценивали в относительных единицах (OE). Для каждого образца получали значение логарифма числа копий исследуемого гена и числа копий гена «домашнего хозяйства» GAPDH для нормировки результатов. Количество копий определяемого гена в дальнейшем пересчитывалось относительно 1 млн. копий гена «домашнего хозяйства» GAPDH. OE – это отношение количества копий по исследуемому гену (в нашем случае каспазы-3,-8 и XIAP) к количеству копий по гену «домашнего хозяйства» GAPDH. При описании показателей использовали медианы (Me) и квартили Q1 и Q3 в формате Me (Q1;Q3). Для оценки статистической достоверности различий экспрессии генов

в исследуемых группах использовали непараметрический критерий Манна – Уитни.

Статистически значимым считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Глава 3.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Наше исследование состояло из проспективной и ретроспективной частей. Целью проспективного исследования была попытка выяснить возможные звенья патогенеза ПР. Поскольку уже доказан воспалительный генез спонтанных ПР: выявлена высокая концентрация провоспалительных цитокинов в МПК при ПР, то целью нашего исследования было выявить предшествующие этому возможные звенья патогенеза ПР. Принимая во внимание тот факт, что повышенная продукция провоспалительных цитокинов может происходить по причине генетической склонности организма женщины к их повышенной выработке, одной из целей нашего исследования было изучение полиморфизма генов ряда провоспалительных и противовоспалительных цитокинов у женщин с угрожающими ПР.

Также повышенная продукция провоспалительных цитокинов может быть результатом активации toll-подобных рецепторов. В связи с этим следующей частью нашего проспективного исследования стало изучение экспрессии генов TLRs эпителием шейки матки у женщин с угрожающими спонтанными ПР.

Toll-подобные рецепторы могут быть активированы не только экзогенными структурами - компонентами патогенных микробов, но и эндогенными молекулами, которые высвобождаются или вырабатываются при повреждении ткани и при воспалении (белки теплового шока, фибронектин, жирные кислоты, гем, митохондриальная ДНК и другие) [172-176]. Поэтому нами было выдвинуто предположение, что одной из возможных причин появления этих лигандов TLRs в маточно-плацентарном комплексе могут быть продукты распада клеток плаценты в результате их преждевременной гибели (преждевременного апоптоза). В связи с этим нами была изучена экспрессия генов каспаз и ингибитора апоптоза в плацентах после своевременных и преждевременных родов.

Таким образом, проспективное исследование состояло из 3х частей:

- исследование полиморфизма генов ряда цитокинов;
- оценка экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала;
- изучение апоптоза плаценты на основании экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP при преждевременных и своевременных родах.

Ретроспективная часть нашего исследования была посвящена изучению оптимальной тактики ведения ПР с целью улучшения перинатальных и отдаленных исходов. В связи с этим нами проведено ретроспективное исследование перинатальных исходов ПР в зависимости от методов родоразрешения: роды через естественные родовые пути или родоразрешение путем операции кесарева сечения.

3.1. Результаты проспективного исследования

Проведенное нами проспективное исследование ставило перед собой задачу попытаться найти причину и звенья патогенеза спонтанных ПР.

Проспективное исследование включало:

- исследование полиморфизма генов ряда цитокинов;
- оценку экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала;
- изучение апоптоза плаценты на основании экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP при преждевременных и своевременных родах.

3.1.1. Результаты исследования полиморфизма генов провоспалительных цитокинов

Многочисленными исследованиями доказано, что при спонтанных ПР выявляется высокая концентрация провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе. И если при ПР, ассоциированных с инфекцией, патогенез

появления цитокинов в МПК понятен, то при спонтанных ПР причина их высокой концентрации вызывает вопросы. Одной из возможных причин повышенной продукции провоспалительных цитокинов при спонтанных ПР может быть полиморфизм их генов, в результате чего при беременности происходит их повышенная выработка. Для нашего исследования мы выбрали для изучения полиморфизмы 3х провоспалительных и 1го противовоспалительного цитокина, которые являются одними из важнейших в генезе ПР.

Целью данного исследования стал поиск ассоциации полиморфных маркеров в генах цитокинов *IL-1 β* , *TNF- α* , *IL-1Ra*, *IL-4* с угрозой развития ПР.

С целью изучения полиморфизма генов цитокинов нами были выбраны следующие цитокины: *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra* и *IL-4*, из которых *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra* являются провоспалительным, а *IL-4* – противовоспалительным.

Для каждого из этих цитокинов в настоящее время известно о нескольких полиморфизмах (Таблица 3). Нами были изучены следующие полиморфизмы генов данных цитокинов: *TNF- α* -308G/A, *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (*интрон 2*), *IL-4 VNTR* (*интрон3*) поскольку роль данных полиморфизмов доказана в генезе различных заболеваний воспалительной природы.

Данное исследование было проведено у женщин с преждевременными родами. Контрольную группу составили женщины с неосложненными своевременными родами.

Всем беременным проводили клинико-лабораторное обследование: сбор анамнеза, общее клиническое и специальное акушерское обследование, УЗИ с цервикометрией; бактериологическое исследование шейки матки, влагалища, посев мочи; оценку функционального состояния плода и характера сократительной активности матки по данным УЗИ и КТГ исследований.

Критериями включения в исследование были:

- ✓ одноплодная беременность
- ✓ срок родоразрешения 22-36 недель 6 дней

Критериями исключения из исследования были пациентки с:

- ✓ сроком гестации менее 22 недель и 37 недель и более;
- ✓ инфекцией мочеполовой системы;
- ✓ преждевременным излитием околоплодных вод;
- ✓ безводным промежутком более 12 часов;
- ✓ хориоамнионитом;
- ✓ кровянистыми выделениями из половых путей;
- ✓ тяжелой соматической патологией и хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации;
- ✓ сахарным диабетом;
- ✓ миомой матки и\или пороками развития матки;
- ✓ беременностью, наступившей в результате вспомогательных репродуктивных технологий;
- ✓ многоплодной беременностью;
- ✓ преэклампсией и ее осложнениями (эклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, HELLP-синдром и др.);
- ✓ плацентарной недостаточностью;
- ✓ предлежанием плаценты;
- ✓ хромосомными аномалиями и врожденными пороками развития плода.

Основную группу составили 66 женщин с ПР на сроке 23-36 недель. В контрольную группу вошли 42 женщины с неосложненными своевременными родами.

При изучении гена *TNF- α* -308G/A, где провоспалительным доминантным аллелем является аллель А, в нашем исследовании не было пациенток с генотипом АА (Таблица 11).

Таблица 11 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *TNF-α* -308G/A

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	Критерий Фишера	RR	95%CI
Аллель А	12 (18,2%)	2 (4,8%)	$p > 0,05$	1,492	[1,133;1966]
Аллель G	54 (81,8%)	40 (95,2%)	$p > 0,05$	0,67	[0,509;0,883]
Генотип GA	12 (18,2%)	2 (4,8%)	$p > 0,05$	1,492	[1,133; 1,966]
Генотип GG	54 (81,8%)	40 (95,2%)	$p > 0,05$	0,67	[0,509;0,883]
Генотип AA	0 (0,0%)	0 (0,0%)	-	-	-

Провоспалительный генотип GA был в 18,2% наблюдений в основной группе и в 4,8% в группе сравнения ($p > 0,05$; RR=1,492; 95%CI=1,133-1,966), что было в 3,8 раза чаще. Однако, данные результаты не были статистически значимы. У женщин с наличием провоспалительного аллеля А преждевременные роды произошли на сроке 26-30 недель. Среди пациенток со своевременными родами практически у всех (95,2%) был выявлен гомозиготный нормальный генотип GG ($p > 0,05$; RR=0,670; 95%CI=0,509-0,883) (Таблица 11).

Также нами была проведена оценка распределения частоты аллелей гена цитокина *IL-1β* -3953C/T, где доминантный аллель Т был выявлен у женщин с ПР в 7,6 раз чаще, чем в группе сравнения (36,4% и 4,2%; $p < 0,01$; RR=1,802; 95%CI=1,420-2,288). Генотип ТТ выявлен только у женщин с преждевременными родами в 9,1% наблюдений ($p < 0,01$), при этом у всех них произошли роды на сроке до 26 недель гестации (Таблица 12).

Гетерозиготная форма СТ выявлена у 27,3% женщин с ПР и только у 4,8% - со своевременными, что было в 5,7 раз чаще и статистически значимо ($p < 0,01$; RR=1,65; 95%CI=1,298-2,098).

Таблица 12 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *IL-1 β* -3953C/T

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	Критерий Фишера	RR	95% CI
Аллель Т	24 (36,4%)	2 (4,8%)	$p < 0,01$	1,802	[1,420; 2,288]
Аллель С	42 (63,6%)	40 (95,2%)	$p < 0,01$	0,555	[0,437; 0,704]
Генотип ТТ	6 (9,1%)	0 (0,0%)	$p < 0,01$	1,7	[1,445; 2,0]
Генотип СТ	18 (27,3%)	2 (4,8%)	$p < 0,01$	1,650	[1,298; 2,098]
Генотип СС	42 (63,6%)	40 (95,2%)	$p < 0,01$	0,555	[0,437; 0,704]

У носительниц гетерозиготы СТ роды происходили на сроках 27-32 недели. Генотип СС был у 95,2% женщин со своевременными родами и 63,6% - с преждевременными родами на сроках 33-36 недель ($p < 0,01$; $RR=0,555$; $95\%CI=0,437-0,704$) (Таблица 12).

Исследование полиморфизма гена антагониста рецептора интерлейкина 1 (*IL-1Ra VNTR* (интрон 2) показало, что провоспалительный доминантный аллель 2R в 1,5 раза чаще был выявлен у женщин с преждевременными родами: 63,6% и 42,8%, соответственно ($p < 0,05$; $RR=1,400$; $95\%CI=1,009-1,943$) (Таблица 13).

При этом провоспалительный генотип 2R/2R обнаружен только у женщин с ПР в 9,1% наблюдений ($p < 0,05$; $RR=1,714$; $95\%CI=1,445-2,00$). У них беременность завершилась на сроках до 26 недель. Генотип 2R/4R также чаще выявлен у женщин с ПР: 54,5% и 42,9%, соответственно ($p > 0,05$). При гетерозиготной форме 2R/4R преждевременные роды происходили на сроках 27-31 неделя. Нормальный генотип 4R/4R в 1,57 раз чаще выявлен у пациенток со своевременными родами (57,1% и 36,4%; $p < 0,05$; $RR=0,714$; $95\%CI=0,515-0,991$).

Таблица 13 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *IL-1Ra VNTR* (интрон 2)

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	Критерий Фишера	RR	95% CI
Аллель 2R	42 (63,6%)	18 (42,8%)	$p < 0,05$	1,400	1,009-1,943
Аллель 4R	24 (36,4%)	24 (57,2%)	$p < 0,05$	0,714	0,515-0,991
Генотип 2R/2R	6 (9,1%)	0 (0,0%)	$p < 0,05$	1,700	1,445-2,00
Генотип 2R/4R	36 (54,5%)	18 (42,9%)	$p > 0,05$	1,200	0,885-1,627
Генотип 4R/4R	24 (36,4%)	24 (57,1%)	$p < 0,05$	0,714	0,515-0,991

При молекулярно-генетическом анализе частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера гена противовоспалительного цитокина *IL-4 VNTR* (интрон 3), где аллель 2R является доминантным противовоспалительным, выявлено, что этот аллель в 2 раза реже встречался у женщин с преждевременным прерыванием беременности (36,4 % и 71,4%, соответственно) ($p < 0,01$; $RR=0,571$; $95\%CI=0,411-0,795$) и данное отличие было статистически значимым (Таблица 14).

Таблица 14 - Распределение частот аллелей и генотипов полиморфного маркера гена *IL-4 VNTR* (интрон 3)

Показатель	Основная группа	Группа сравнения	Критерий Фишера	RR	95% CI
Аллель 2R	24 (36,4%)	30 (71,4%)	$p < 0,01$	0,571	0,411-0,795
Аллель 3R	42 (63,6%)	12 (28,6%)	$p < 0,01$	1,750	1,257-2,435
Генотип 2R/2R	6 (9,1%)	6 (14,3%)	$p < 0,01$	0,800	0,445-1,438
Генотип 2R/3R	18 (27,3%)	24 (57,1%)	$p < 0,01$	0,589	0,403-0,861
Генотип 3R/3R	42 (63,6%)	12 (28,6%)	$p < 0,01$	1,750	1,257-2,435

Генотип 2R/2R в 1,6 раза реже (9,1% и 14,3%; $p < 0,01$; $RR=0,8$; $95\%CI=0,445-1,438$), а генотип 2R/3R в 2,1 раза реже (27,3% и 57,1%; $p < 0,01$; $RR=0,589$; $95\%CI=0,403-0,861$) выявлен у женщин с преждевременными родами. В тоже время провоспалительный генотип 3R/3R в 2 раза чаще встречался у женщин с

преждевременными родами (63,6% и 28,6%; $p < 0,01$; $RR=1,750$; $95\%CI=1,257-2,435$). У женщин с генотипом 3R/3R преждевременные роды произошли на сроке 24-30 недель, а с генотипами 2R\3R и 2R/2R – после 32 недель гестации.

Таким образом, провоспалительный гомозиготный генотип 3R/3R цитокина *IL-4 VNTR (интрон 3)* можно считать фактором риска ПР.

В результате нашего исследования нами было установлено, что для пациенток с ПР характерно наличие полиморфизма ряда цитокинов, что приводит к их повышенной выработке и способствует преждевременному прерыванию беременности. Кроме того, мы выдвинули предположение, что одна и та же пациентка может быть носителем сразу нескольких полиморфизмов генов цитокинов, что может приводить к более активному воспалительному процессу в МПК и более раннему прерыванию беременности. В связи с этим нами произведено изучение сочетания нескольких провоспалительных генотипов исследуемых цитокинов и исходов беременностей (Таблица 15).

В ходе данного исследования было установлено, что только у 18,2% женщин с ПР были нормальные генотипы по изучаемым цитокинами. У них роды происходили после 30 недель. При этом среди женщин со своевременными родами таких было почти половина (42,9%). Данные различия в группах были статистически значимы (18,2% и 42,9%; $p < 0,01$).

Частота выявления одного провоспалительного аллеля не отличалась в обеих группах, а наличие двух провоспалительных аллелей в 1,6 раз чаще отмечено у пациенток с ПР (22,7% и 14,2%; $p > 0,05$). Преждевременные роды у них произошли на сроке 30-32 недели.

Сочетание трех и четырех провоспалительных аллелей цитокинов выявлено только у пациенток с ПР, и общая частота этих пациенток составила в нашем исследовании 27,3%. Данное отличие от группы своевременных родов было статистически значимым. При этом у всех носительниц 3 или 4 провоспалительных генотипов роды происходили до 26 недель гестации.

Таблица 15 - Распределение сочетаний провоспалительных генотипов и исходов беременности

Сочетание провоспалительных генотипов	Основная группа	Группа сравнения	Сроки ПР (недели)	Критерий Фишера	RR	95% CI
Нет провоспалительных аллелей	12(18,2%)	18(42,9%)	30-36	$p < 0,01$	0,578	0,364 - 0,918
Провоспалительный аллель 1 цитокина	21(31,8%)	18(42,9%)	30-32	$p > 0,05$	0,826	0,589-1,157
Провоспалительный аллель 2х цитокинов	15(22,7%)	6(14,2%)	28-34	$p > 0,05$	1,218	0,882-1,683
Провоспалительный аллель 3х цитокинов	6(9,1%)	-	23-25	$p < 0,05$	1,700	1,445-2,000
Провоспалительный аллель 4х цитокинов	12(18,2%)	-	24-26	$p < 0,01$	1,778	1,490-2,121

В нашем исследовании генотип GA гена *TNF- α* -308G/A всегда сочетался с наличием провоспалительных генотипов цитокинов *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2) и *IL-4 VNTR* (интрон 3). То есть при наличии генотипа GA выявлялись еще 3 мутации генов других изучаемых нами цитокинов. Результатом этой генетической комбинации были экстремально ранние преждевременные роды (до 26 недель). Также показано, что генотип TT гена *IL-1 β* -3953C/T всегда сочетался с присутствием провоспалительных генотипов цитокинов *IL-1Ra VNTR* (интрон 2) и *IL-4 VNTR* (интрон 3), то есть у пациентки были выявлены мутации 3х цитокинов. Исходом этой генетической комбинации также были экстремально ранние ПР.

Гетерозиготная форма СТ гена *IL-1 β* -3953C/T в 66,7% наблюдений сочеталась с провоспалительным генотипом *TNF- α* -308G/A и *IL-1Ra VNTR* (интрон 2). Исходами этой комбинации были экстремально ранние ПР. Если же гетерозигота СТ гена *IL-1 β* -3953C/T обнаруживалась одна, без сопутствующих мутаций других цитокинов, то у этих женщин ПР происходили позже, на сроке 32-33 недели. То есть сочетание нескольких провоспалительных генотипов изучаемых нами цитокинов приводило к более раннему прерыванию беременности, чем наличие изолированной мутации.

Таким образом, проведенное нами исследование оценки аллельных вариантов генов цитокинов показало, что для пациенток с ПР характерно наличие полиморфизмов генов цитокинов, что приводит к их повышенной выработке и преждевременному прерыванию беременности. Кроме того, пациентка может быть носителем сразу нескольких полиморфизмов и это является крайне неблагоприятным фактором для вынашивания беременности ввиду генетически детерминированной склонности к повышенной выработке провоспалительных цитокинов. В нашем исследовании такое сочетание трех и/или четырех провоспалительных генотипов выявлено только у женщин с очень ранними преждевременными родами, что подтверждает предположение, что сочетание нескольких провоспалительных генотипов является крайне неблагоприятным фактором для пролонгирования беременности.

3.1.2. Результаты изучения экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала

Преждевременные роды являются процессом воспалительного генеза, даже без присутствия инфекционного фактора [29-32,139]. Поэтому в настоящее время большое значение придается изучению роли факторов врожденного иммунитета в генезе ПР и, в частности, роли toll-подобных рецепторов. Доказана повышенная экспрессия их генов клетками цервикального канала при ПР в случае наличия

инфекционного фактора. В результате активации TLRs лигандами бактерий и вирусов происходит запуск воспалительной реакции, что сопровождается повышенной продукцией провоспалительных цитокинов, простагландинов, что в конечном итоге приводит к маточным сокращениями, укорочению и раскрытию шейки матки.

Однако нет исследований роли TLRs при спонтанных ПР, когда инфекционный генез исключен. Поскольку при спонтанных ПР выявляются высокие концентрации провоспалительных цитокинов в МПК, то одной из причин их повышенной продукции может быть активация TLRs.

Целью проведенного нами исследования явилась установка возможного патогенетического механизма спонтанных ПР посредством активации TLRs. Для этого нами была изучена экспрессия генов рецепторов TLR2, TLR4 и TLR9 эпителиальными клетками цервикального канала при спонтанных ПР. Такой выбор изучаемых рецепторов был обусловлен следующими факторами. TLR2 и TLR4 являются одними из наиболее изученных TLRs, расположенными на поверхности клетки. Их повышенная экспрессия выявлена при ПР, ассоциированных с инфекцией. Основными лигандами TLR2 и TLR4 являются не только части бактерий и грибов (многочисленные гликолипиды, липопротеины, липопептиды, липотейхоевая кислота, пептидогликан, зимозан), а также компоненты клеток «хозяина», такие как белки теплового шока, фибриноген, гепарансульфатные фрагменты, гиалуроновая кислота. Именно поэтому мы остановились на изучении экспрессии генов этих рецепторов.

Из внутриклеточных TLRs наиболее изученным является TLR9, анализ экспрессии которого также был включен в наше исследование.

Для исследования на первом этапе нами была выбрана 151 пациентка с одноплодной беременностью, сроком гестации 24-34 недели и с клинической картиной угрожающих преждевременных родов: жалобы на тянущие боли в нижних отделах живота, повышенный тонус матки и укорочение шейки матки менее 25 мм по данным цервикометрии. Для исключения инфекционного генеза ПР

всем пациенткам произведено микробиологическое исследование содержимого цервикального канала, влагалищного мазка и мочи. На этом этапе из исследования были исключены 109 (72,2%) пациенток, у которых была выявлена инфекция в мочеполовой системе.

Общими критериями исключения из проспективного исследования были пациентки с:

- ✓ сроком гестации менее 22 недель и 37 недель и более;
- ✓ инфекциями;
- ✓ хориоамнионитом;
- ✓ преждевременным излитием околоплодных вод;
- ✓ безводным промежутком более 12 часов;
- ✓ тяжелой соматической патологией и хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации;
- ✓ сахарным диабетом;
- ✓ миомой матки и/или пороками развития матки;
- ✓ беременностью, наступившей в результате вспомогательных репродуктивных технологий;
- ✓ многоплодной беременностью;
- ✓ преэклампсией и ее осложнениями;
- ✓ плацентарной недостаточностью;
- ✓ предлежанием плаценты;
- ✓ хромосомными аномалиями и врожденными пороками развития плода.

В конечном итоге в исследование вошли 42 пациентки с клиникой угрожающих ПР на сроке 22-34 недель. Контрольную группу составили 32 женщины с неосложненным течением беременности.

Полученные результаты экспрессии TLRs клетками цервикального канала представлены на Рисунке 14.

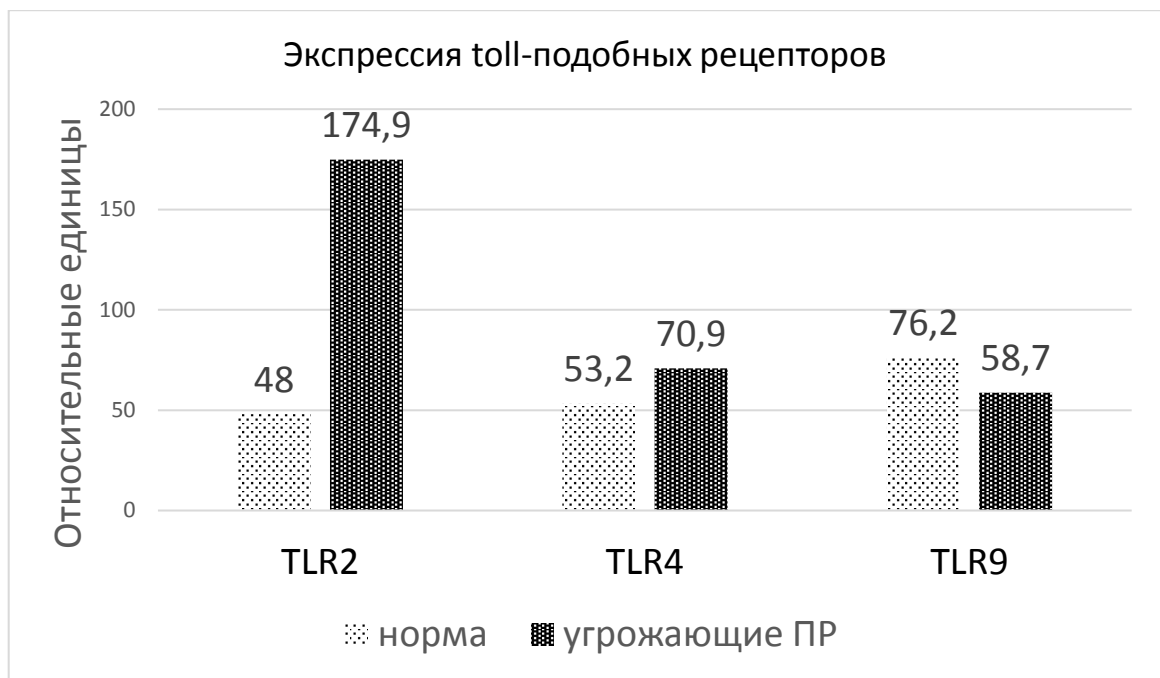


Рисунок 14 - Экспрессия TLRs клетками цервикального канала при угрожающих ПР и нормально протекающей беременности

Нами было обнаружено, что у женщин с нормальным течением беременности уровень экспрессии TLR2 и TLR4 практически одинаков (48 и 53,2; $p > 0,05$). При этом уровень экспрессии TLR9 в 1,6 раза выше, чем экспрессия TLR2 (76,2 и 48; $p > 0,05$) и 1,43 раза выше, чем экспрессия TLR4 (53,2 и 76,2; $p > 0,05$). Однако данные результаты не являются статистически значимыми.

При угрожающих ПР мы наблюдали повышение экспрессии генов обоих рецепторов, расположенных на поверхности клеток. Так, экспрессия TLR2 при ПР возрастала в 3,65 раза по сравнению с контрольной группой (174,9 и 48,0; $p < 0,05$). Экспрессия TLR4 также была увеличена в 1,33 раза в группе с угрозой ПР (70,9 и 53,2; $p > 0,05$). При угрожающих ПР экспрессия TLR2 была в 2,5 раза выше, чем TLR4 (174,9 и 70,9; $p < 0,05$), и эта разница была статистически значимой.

Изменение экспрессии генов внутриклеточного рецептора TLR9 имело несколько другую динамику. Во время нормально протекающей беременности его экспрессия была сопоставима и даже несколько выше экспрессии поверхностных рецепторов TLR2 и TLR4. А при угрожающих ПР мы увидели некоторое

понижением экспрессии TLR9 в сравнении с нормальной беременностью: она была в 1,6 раза ниже у женщин с угрозой ПР по сравнению с контрольной группой (58,7 и 76,2; $p > 0,05$), хотя это снижение не являлось статистически значимым. При угрожающих ПР экспрессия TLR9 была в 3 раза ниже, чем экспрессия генов TLR2 (58,7 и 174,9; $p < 0,05$), что было статистически значимо. Экспрессия генов TLR4 при угрожающих ПР тоже была выше экспрессии TLR9 (70,9 и 58,7; $p > 0,05$), однако эти различия были статистически не значимы.

Таким образом, проведенное нами исследования экспрессии генов TLR2, TLR4 и TLR9 при нормально протекающей беременности и при угрожающих ПР показало следующее. Во время нормально протекающей беременности мы наблюдали преобладание экспрессии генов внутриклеточного рецептора TLR9, однако это преобладание не было статистически значимым. При угрожающих ПР было отмечено повышение экспрессии генов поверхностных рецепторов, в особенности TLR2, и некоторое снижение экспрессии TLR9 эпителием цервикального канала. Поскольку TLR2 и TLR4 являются рецепторами, расположенными на поверхности клеток, то повышение экспрессии их генов при угрожающих ПР говорит о том, что воздействие на них происходит извне, после чего происходит их активация. Активация TLRs является патогенетическим звеном воспалительного процесса и в конечном итоге приводит к повышенной продукции провоспалительных цитокинов. Лигандами TLR2 и TLR4 могут быть как патоген-ассоциированные молекулярные фрагменты молекул (PAMPs) бактерий и вирусов, так и молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями (DAMPs). Поскольку одним из основных критериев исключения из нашего исследования была инфекция, и особенно инфекция в мочеполовой системе, то у пациенток нашего исследования отсутствовали инфекционные агенты в цервикальном канале. На основании полученной высокой экспрессии генов TLR2 и TLR4 при исключении инфекционного воздействия можно сделать вывод, что в данной ситуации при спонтанных угрожающих ПР имело место так называемое «стерильное воспаление» - то есть воспалительный процесс, активируемый воздействием на TLRs фрагментами, ассоциированными с повреждениями клеток

(DAMPs). Поэтому следующий возникающий вопрос был о том, что может вызывать повреждение клеток и высвобождение из них лигандов для TLRs. Одним из возможных механизмов разрушения клеток может быть их запрограммированная гибель клеток - апоптоз. А в случае преждевременных родов - их преждевременный апоптоз.

Преждевременные роды входят в понятие больших акушерских синдромов, к которым также относятся преэклампсия и плацентарная недостаточность. Объединяет эти синдромы то, что все они возникают во время беременности и связаны с патологией плаценты. В связи с этим у нас возникла мысль, что именно преждевременный апоптоз клеток плаценты, их гибель, распад и высвобождения из них DAMPs может быть тем важным патогенетическим моментом, который и запускает процесс активации toll-подобных рецепторов, возникновение «стерильного воспаления», повышения продукции цитокинов, простагландинов и преждевременное прерывание беременности. Поэтому следующей частью нашего исследования было изучение апоптоза в плаценте при преждевременных и своевременных родах.

3.1.3. Оценка экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP в плаценте при преждевременных и своевременных родах

При нормальной жизнедеятельности организма происходит постоянная запрограммированная гибель клеток, одним из механизмов которой является апоптоз [197,198]. Значение апоптоза изучено при таких физиологических процессах, как инвазия трофобласта, ремоделирование спиральных артерий. При этом преждевременный апоптоз клеток трофобласта и плаценты выявлен при самопроизвольных выкидышах, преэклампсии, плацентарной недостаточности, при преждевременном излитии околоплодных вод [198-203]. Известно, что процессы апоптоза ускоряются при наличии воспалительного процесса, в том числе при преждевременных родах, вызванных инфекцией [204]. Однако еще не

было исследований апоптоза в плаценте при спонтанных ПР, когда инфекционная этиология исключена или не доказана.

В предыдущей части нашего исследования нами выявлено что при спонтанных преждевременных родах происходит повышение экспрессии toll-подобных рецепторов. Однако остается непонятным, что ее активирует. Поскольку при завершении беременности плацента перестает функционировать и происходит апоптоз ее клеток, то нами выдвинуто предположение, что при ПР может происходить преждевременный апоптоз клеток плаценты и продукты распада плацентарных клеток могут являться теми фрагментами, ассоциированными с повреждениями клеток (DAMPs), которые активируют TLRs и запускают процесс воспаления в МПК.

С целью изучения апоптоза в плаценте при преждевременных и своевременных родах нами были изучены плаценты 159 пациенток: 86 из них после ПР на сроках 26-34 недель и 73 – после своевременных родов.

Плаценты были получены после родов через естественные родовые пути и после операции кесарева сечения. Таким образом, было сформировано 4 группы для исследования (Рисунок 15):

1 группа - плаценты после своевременных плановых оперативных родов (n=41). Изучение данных плацент позволило оценить апоптоз во время беременности;

2 группа – плаценты после экстренных преждевременных оперативных родов (n=42) – изменения в этих плацентах позволили нам оценить апоптоз в начале ПР;

3 группа - плаценты после преждевременных родов через естественные родовые пути (n=44);

4 группа – плаценты после своевременных родов через естественные родовые пути (n=32).

В плацентах после родов через естественные родовые пути мы изучали апоптоз при завершении беременности.

преждевременные роды	своевременные роды
• 42 -экстренное кесарево сечение • 44 - естественные роды	• 41 - плановое кесарево сечение • 32 - естественные роды

Рисунок 15 - Дизайн исследования апоптоза плаценты

Критериями исключения из этого исследования были пациентки с:

- ✓ сроком гестации менее 22 недель и 37 недель и более;
- ✓ инфекциями;
- ✓ хориоамнионитом;
- ✓ преждевременным излитием околоплодных вод;
- ✓ безводным промежутком более 12 часов;
- ✓ тяжелой соматической патологией и хроническими заболеваниями в стадии декомпенсации;
- ✓ сахарным диабетом;
- ✓ миомой матки и\или пороками развития матки;
- ✓ беременностью, наступившей в результате вспомогательных репродуктивных технологий;
- ✓ многоплодной беременностью;
- ✓ преэклампсией и ее осложнениями (эклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, HELLP-синдром и др.);

- ✓ плацентарной недостаточностью;
- ✓ предлежанием плаценты;
- ✓ хромосомными аномалиями и врожденными пороками развития плода.

Для исследования апоптоза мы выбрали главную эффекторную каспазу-3 и ее инициаторную каспазу-8, а также ингибитор *XIAP*. Изучение экспрессии генов каспазы-3 (*CAS3*) и каспазы-8 (*CAS8*), а также ингибитора белка апоптоза *XIAP* в плаценте при преждевременных и своевременных родах позволит установить роль активаторов и ингибитора апоптоза в генезе родовой деятельности, как своевременной, так и преждевременной.

При изучении экспрессии генов инициаторной каспазы-8, эффекторной каспазы-3 и ингибитора апоптоза *XIAP* в плаценте при преждевременных и своевременных родах нами были получены следующие результаты. Во время беременности мы выявили в плаценте низкую экспрессию генов обеих каспаз (161 и 241) и относительно них высокую экспрессию *XIAP* (328) (Рисунок 16).

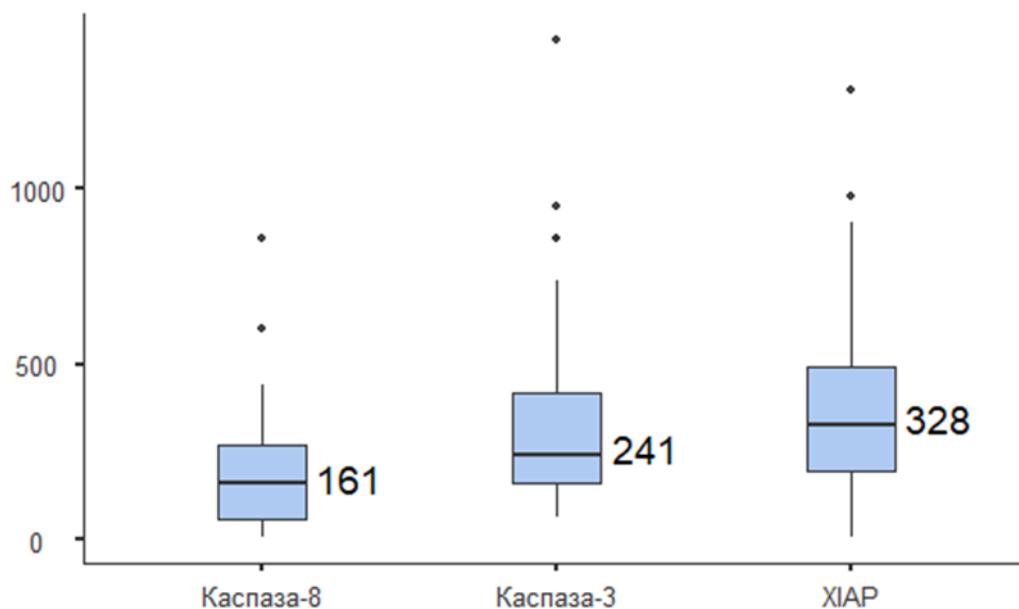


Рисунок 16 - Экспрессия генов каспаз и XIAP во время беременности

При начале преждевременной родовой деятельности нами отмечено статистически значимое повышение экспрессии генов каспазы-8: в сравнении с беременностью экспрессия каспазы-8 возрастает более чем в 10 раз (161 и 1728; $p < 0,01$) (Рисунок 17). Экспрессия эффекторной каспазы также возрастает в 2,5 раза (261 и 650; $p < 0,01$), а экспрессия XIAP – в 3 раза (328 и 1000; $p < 0,01$).

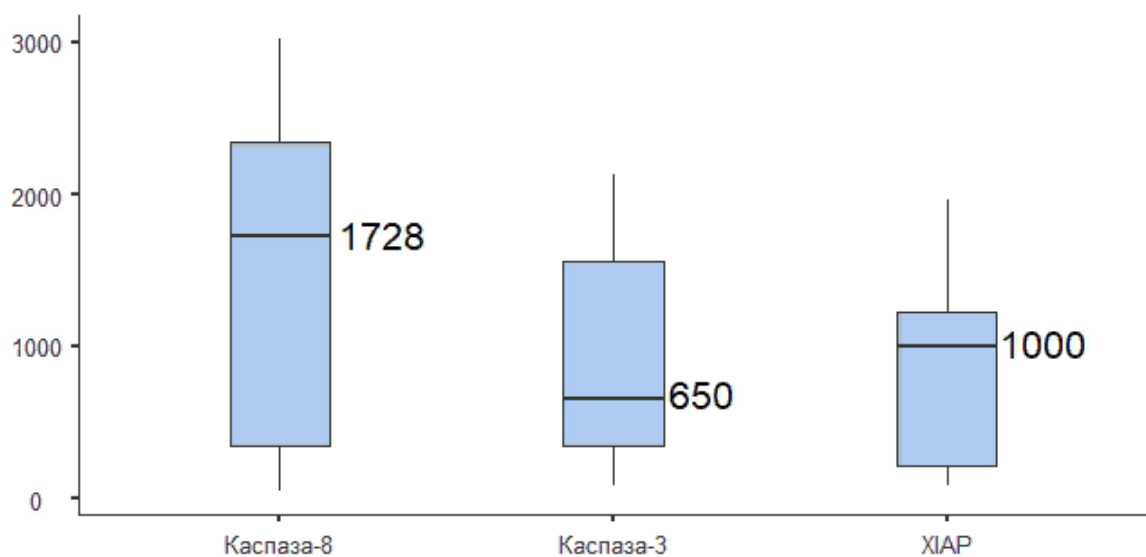


Рисунок 17 - Экспрессия генов каспаз и XIAP в начале преждевременных родов

К концу ПР уровень экспрессии инициаторной каспазы-8 снижается в 8 раз (с 1728 до 219; $p < 0,01$) по сравнению с началом ПР и становится сопоставимой с уровнем во время беременности (219 и 161; $p > 0,05$) (Рисунок 18).

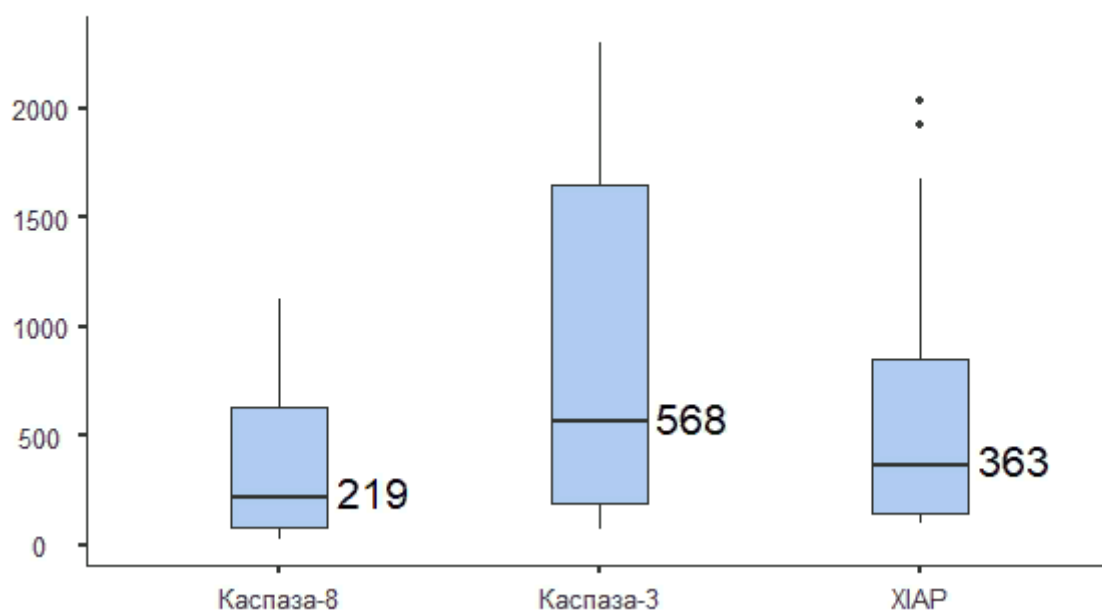


Рисунок 18 - Экспрессия генов каспаз и XIAP в конце преждевременных родов

Экспрессионный профиль эффекторной каспазы-3 отличается от профиля инициаторной каспазы. Экспрессия каспазы-3 и в начале, и в конце ПР остается на одинаковом уровне (650 и 568; $p > 0,05$), при этом ее экспрессия в 2,5 раза выше, чем во время беременности (650 и 261; $p < 0,01$). Экспрессия XIAP в исходе ПР снижается в 2,75 раза в сравнении с началом ПР и достигает уровня экспрессии, сопоставимой с экспрессией во время беременности (363 и 328; $p > 0,05$).

В исходе своевременных родов экспрессия генов каспаз и XIAP отличается от исхода ПР (Рисунок 19).

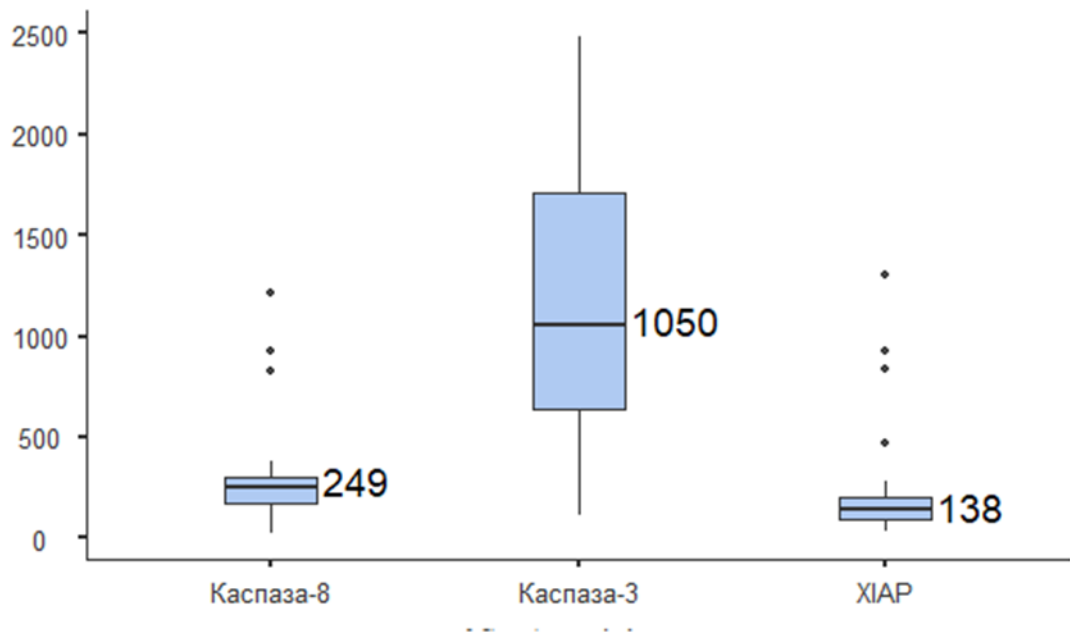


Рисунок 19 - Экспрессия генов каспаз и XIAP в конце своевременных родов

Так экспрессия инициаторной каспазы-8 также как при ПР низкая и сопоставима с экспрессией во время беременности (248 и 161; $p > 0,05$). Однако экспрессия эффекторной каспазы-3 находится на очень высоком уровне, который в 2 раза выше, чем в исходе ПР (1050 и 568; $p < 0,01$).

В сравнении с беременностью экспрессия эффекторной каспазы в исходе своевременных родов возрастает в 4 раза (1050 и 261; $p < 0,01$). Что касается экспрессии гена XIAP, то в исходе своевременных родов мы видим самый низкий показатель его экспрессии в сравнении со всеми группами: он в 2,4 раза ниже, чем во время беременности (138 и 328; $p < 0,01$), в 7,25 раза ниже, чем в начале ПР (138 и 1000; $p < 0,01$) и в 2,6 раза ниже, чем в исходе ПР (138 и 363; $p < 0,01$) (Рисунок 20).

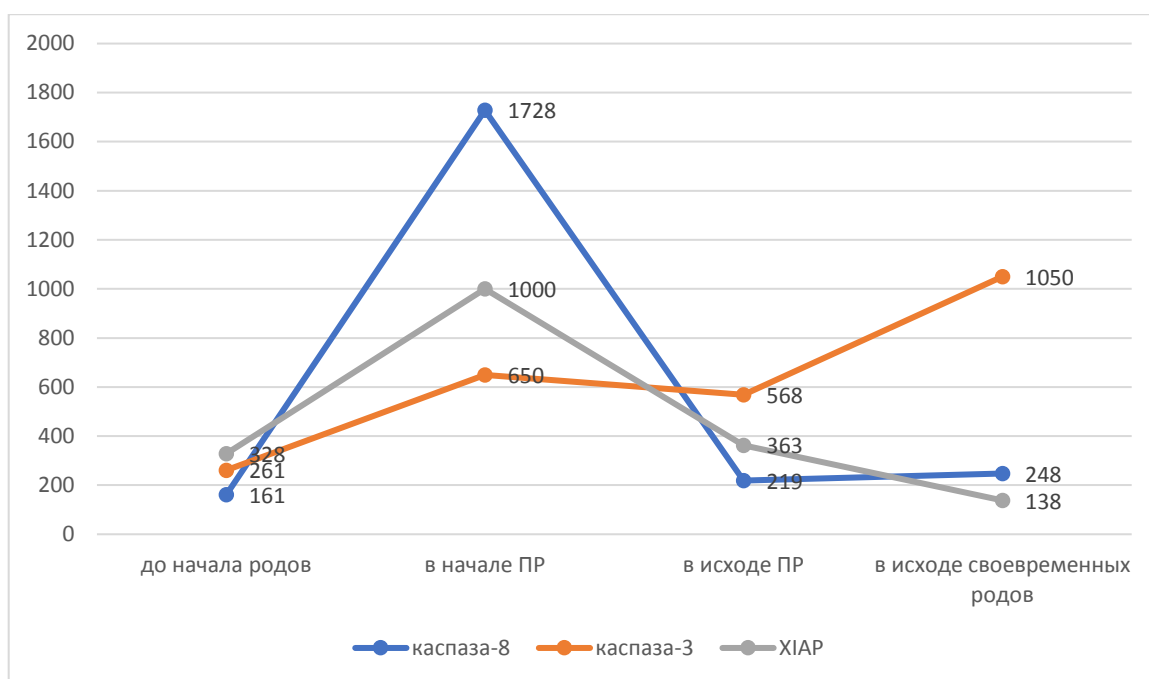


Рисунок 20 - Динамика изменений экспрессии каспазы-3,-8 и XIAP во время беременности и в родах

Полученные данные по экспрессии генов каспазы-8, -3 и XIAP по время беременности, в начале ПР и в исходах преждевременных и своевременных родов мы интерпретировали следующим образом. Во время беременности (время активного функционирования плаценты) экспрессия обеих каспаз находится на низком уровне (161 и 261), при этом преобладает экспрессия генов ингибитора апоптоза XIAP (328). Такое соотношение экспрессий, вероятно, можно объяснить тем, что плацента во время беременности активно функционирует, и апоптоз в ней находится на низком уровне и активно контролируется и подавляется ингибиторами.

В начале ПР нами отмечено статистически значимое повышение экспрессии и инициаторной каспазы-8 (в 10 раз), и эффекторной каспазы-3 (в 2,5 раза) в сравнении с экспрессией во время беременности. Полученные данные позволяют говорить о высокой экспрессии генов апоптоза в плаценте при начале ПР. Таким образом, мы видим активацию процесса апоптоза при начале ПР. И возможно, именно активация апоптоза и приводит к преждевременному началу маточных

сокращений. Одномоментно с повышением экспрессии каспаз в начале ПР мы отмечаем и статистически значимое увеличение экспрессии ингибитора апоптоза XIAP в 3 раза: с 328 до 1000. То есть вероятно, при начале ПР ингибитор «пытается» подавить преждевременно начавшийся апоптоз в плаценте. То есть происходит компенсаторное повышение экспрессии ингибитора апоптоза и, возможно, это механизм предотвращения ПР.

В конце ПР экспрессия инициаторной каспазы-8 возвращается к низкому уровню, сопоставимому с ее экспрессией во время беременности. Однако уровень экспрессии эффекторной каспазы-3 остается на том же высоком уровне, что и в начале ПР, что свидетельствует об активном апоптозе и в конце ПР. Однако в исходе ПР экспрессия каспазы-3 все же ниже, чем при своевременных родах (559 и 1050). И это сопоставимо с экспрессией XIAP, экспрессия которого высокая при ПР и очень низка в исходе своевременных родов (363 и 128). Таким образом, при начале преждевременной РД мы видим активизацию процессов апоптоза в плаценте, что, вероятно, может быть инициаторным моментом в развитии ПР. При этом ингибитор XIAP «пытается» подавить преждевременно запущенный процесс апоптоза при недоношенной беременности, что проявляется его высокой экспрессией. Изменения экспрессии XIAP при ПР может говорить о попытке скорректировать патологический процесс в клетках плаценты при ПР, однако безуспешно. В пользу данной гипотезы говорит и то, что при своевременных родах экспрессия XIAP не только не возрастает, но и даже снижается.

При своевременных родах экспрессионный профиль каспаз выглядит несколько иначе: в исходе родов экспрессия инициаторной каспазы-8 сопоставима с уровнем во время беременности (248 и 161), отмечается увеличение экспрессии эффекторной каспазы-3 в 4 раза в сравнении с беременностью (1050 и 261), при этом экспрессия XIAP в 2,4 раза ниже, чем во время беременности. Таким образом, при своевременных родах в плаценте наблюдается активный апоптоз, при низкой активности системы его ингибирования. Поскольку своевременные роды процесс физиологический, плацента в их исходе перестает функционировать. Поэтому в

плаценте происходит активная запрограммированная гибель клеток, и ингибитор не пытается его подавлять.

Таким образом, во время беременности мы наблюдаем низкую активность процесса апоптоза в плаценте, в том числе за счет активной экспрессии гена ингибитора апоптоза.

При преждевременных родах наблюдается высокая экспрессия генов инициаторной и эффекторной каспаз и ингибитора апоптоза – то есть происходит активация процессов апоптоза при одномоментной активации ингибиторов апоптоза. При своевременных родах, времени завершения функционирования плаценты, мы видим высокую активность апоптоза (высокую экспрессию генов каспаз), при этом экспрессия генов ингибиторов апоптоза находится на низком уровне.

Заключение

Проведенное нами проспективное исследование позволило установить следующие: спонтанные ПР являются процессом воспалительной этиологии. Патогенез спонтанных ПР можно представить следующим образом (Рисунок 21).

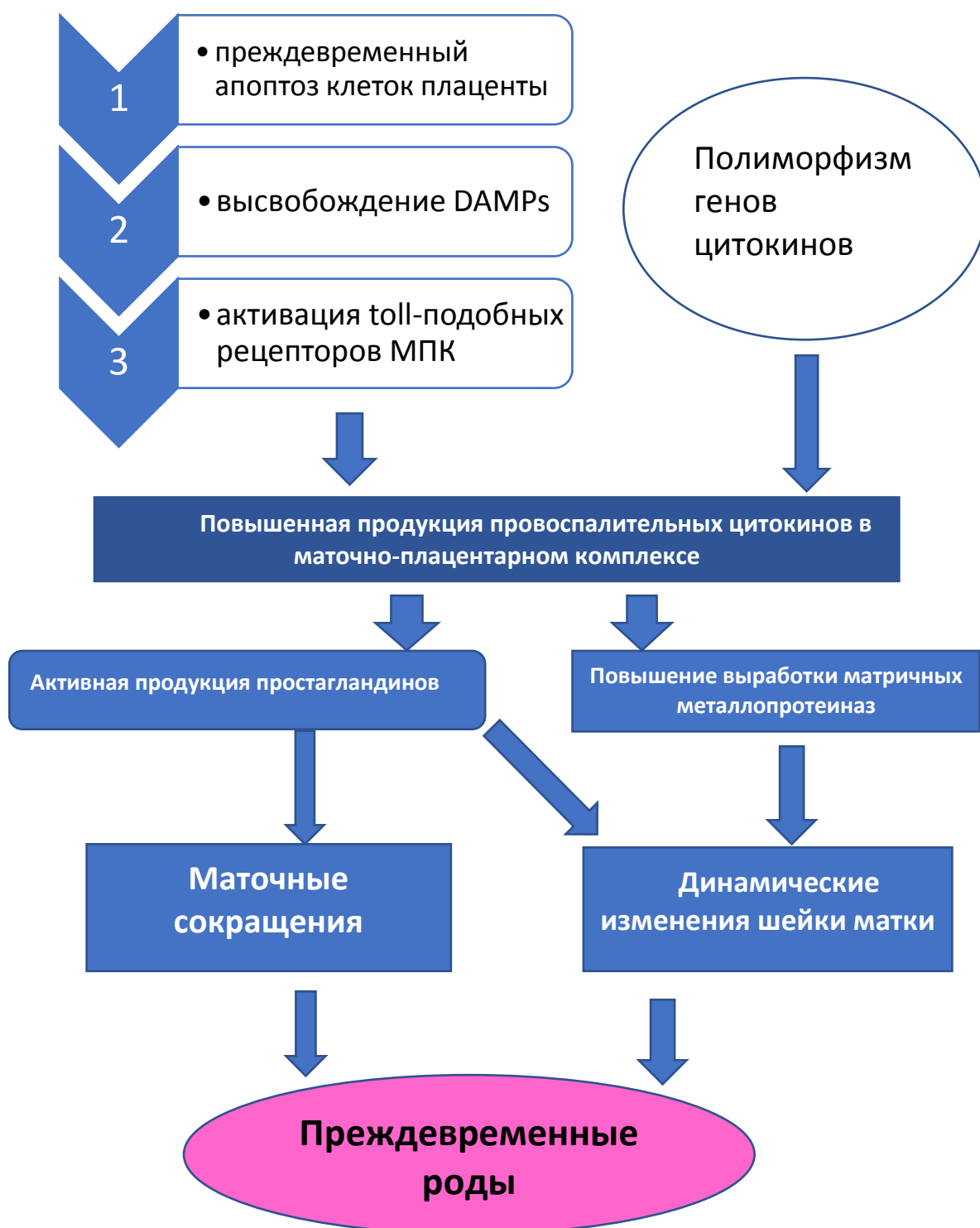


Рисунок 21 - Патогенез спонтанных преждевременных родов

Пусковым моментом данного «стерильного» воспаления в маточно-плацентарном комплексе может являться преждевременный апоптоз плаценты. В

результате преждевременной гибели клеток плаценты высвобождаются клеточные фрагменты (DAMPs), которые являются лигандами toll-подобных рецепторов. Активация последних приводит к повышенной выработке провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе. Ключевыми начальными медиаторами этого ответа являются *IL-1 β* и *TNF- α* , которые усиливают продукцию простагландинов, индуцируя экспрессию циклооксигеназы-2 (COX-2) в амнионе и децидуальной оболочке, ингибируя при этом фермент, метаболизирующий простагландины. Выработка COX-2 через активацию цикла арахидоновой кислоты повышает концентрацию простагландинов E2 и F2 α . Простагландин E в свою очередь способствует «созреванию» шейки матки, а простагландин F2 α стимулирует маточные сокращения (рис.2). Также при активации процесса воспаления отмечено возрастание количества окситоциновых рецепторов, что усиливает маточные сокращения [31; 32].

Кроме того, данная повышенная выработка цитокинов может быть генетически детерминирована наличием у этих пациенток полиморфизма генов цитокинов. Таким образом, происходит повышение концентрации провоспалительных цитокинов в МПК. Более того, *IL-1 β* и / или *TNF- α* напрямую усиливают экспрессию различных матричных металлопротеиназ в амнионе, хорионе, децидуальной оболочке и шейке матки. Матриксные металлопротеиназы изменяют структурный состав шейки матки, что приводит к ее размягчению, укорочению и раскрытию- происходит процесс «созревания» шейки матки.

Таким образом, преждевременный распад клеток плаценты по причине их преждевременного апоптоза через активацию toll-подобных рецепторов запускает процесс «созревания шейки матки» и маточных сокращений, и происходят преждевременные роды.

3.2. Результаты ретроспективного исследования

Одной из важных и нерешённых проблем преждевременных родов является тактика родоразрешения. В настоящее время среди акушеров-гинекологов нет единого мнения о том, какой метод родоразрешения является оптимальным для недоношенных детей [23]. И у родоразрешения путем операции кесарева сечения (КС) и у родов через естественные родовые пути есть сторонники и противники. Сторонники КС утверждают, что кесарево сечение при ПР является более бережным способом рождения и позволяет снизить риск гибели плода или новорожденного в результате родовой травмы, снижает частоту ВЖК и тем самым улучшает перинатальные и отдаленные результаты ПР. Противники КС считают, что такая тактика увеличивает риск серьезных осложнений как для матери (гнойно-септические и тромбоэмболические осложнения, кровотечение, рубец на матке, предлежание и\или вращение плаценты при последующей беременности), так и для недоношенного ребенка (повышение риска РДС и тем самым повышение риска ВЖК).

Поэтому задачей нашего ретроспективного исследования было определение оптимальной тактики родоразрешения при ПР на основании анализа перинатальных исходов ПР в зависимости от срока и метода родоразрешения.

Поскольку сравнение недоношенных детей, рожденных на сроках 22 и 36 недель некорректно, все перинатальные исходы были разделены в зависимости от гестационного срока на 5 групп: 22-25 недель 6 дней, 26-27 недель 6 дней, 28-31 неделя 6 дней, 32 -33 недели 6 дней, 34-36 недель 6 дней. И дальнейший анализ причин и перинатальных исходов ПР проводился в зависимости от срока гестации.

Основными причинами ПР являются спонтанное начало родовой деятельности, преждевременное излитие вод и тяжелые осложнения беременности, требующие досрочного прерывания беременности.

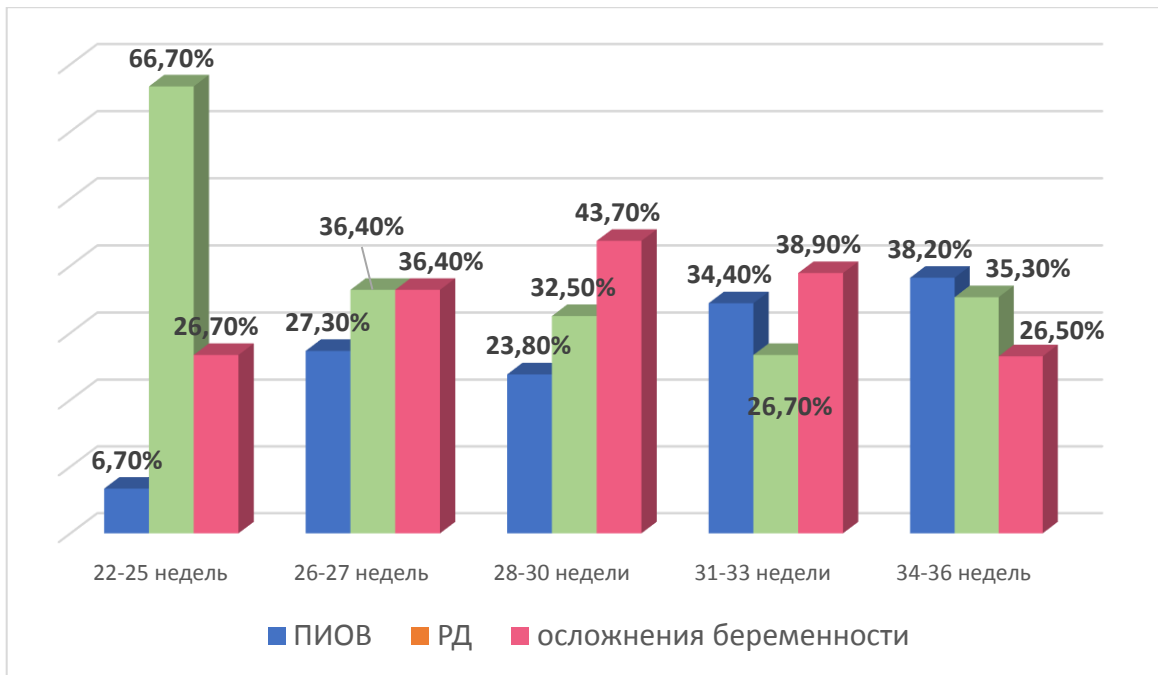


Рисунок 22 - Причины ПР на различных гестационных сроках

Серьезных различий в частоте причин ПР на разных сроках гестации выявлено не было, за исключением срока 22-25 недель, на котором главной причиной ПР является преждевременное спонтанное начало РД (Рисунок 22).

ПР прежде всего ассоциируются с рождением детей с низкой массой тела. Потому анализ перинатальных исходов мы начали с частоты экстремально низкой массы тела (ЭНМТ) и очень низкой массы тела (ОНМТ).

На сроке 22-25 недель все дети были с ЭНМТ: средняя масса при рождении составила 720 г с колебаниями от 400 до 900 г (Рисунок 23).

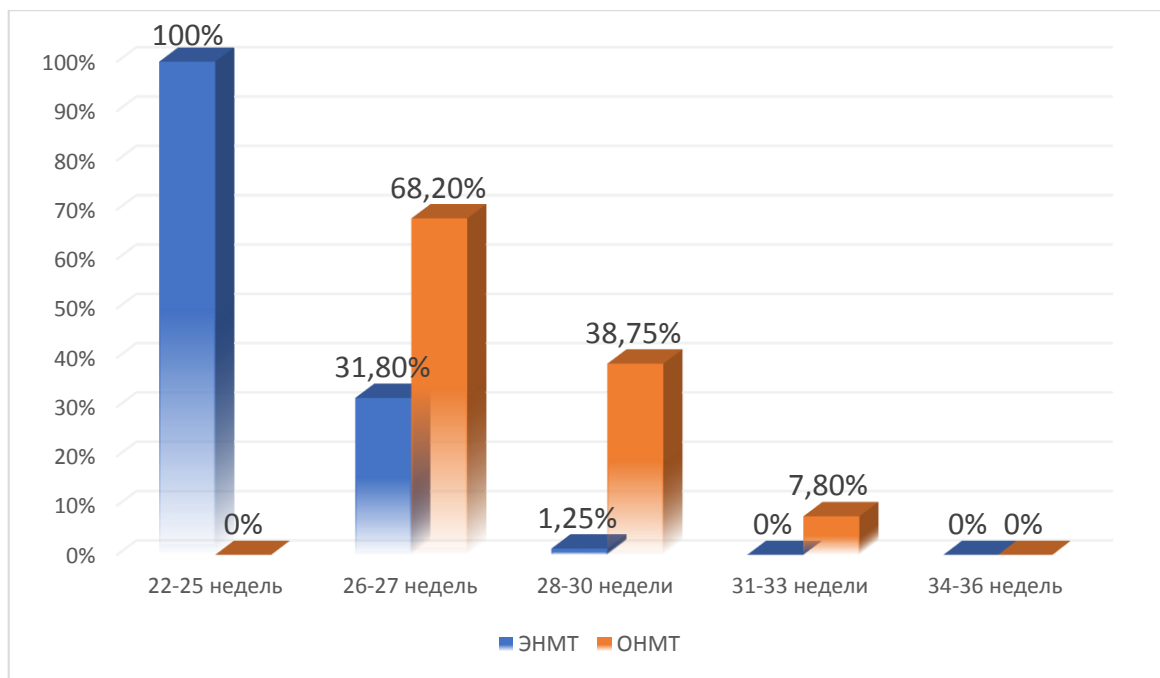


Рисунок 23 - Динамика частота ЭНМТ и ОНМТ на разных гестационных сроках

На сроке 26-27 недель 6 дней только треть детей имела ЭНМТ, а остальные - ОНМТ: средняя масса тела при рождении составила 1093,1 г, с колебаниями от 740 до 1460 г. После 34 недель масса всех новорожденных превышала 1500г.

Одной из важнейших проблем недоношенности является синдром дыхательных расстройств (СДР) или «респираторный дистресс-синдром» (РДС) новорожденного. Он представляет собой расстройство дыхания у детей в первые дни жизни, обусловленное первичным дефицитом сурфактанта и незрелостью легких. РДС является наиболее частой причиной возникновения дыхательной недостаточности в раннем неонатальном периоде у недоношенных новорожденных. Встречаемость его тем выше, чем меньше гестационный возраст и масса тела ребенка при рождении [312].

Согласно результатам нашего исследования у всех детей, рожденных до 31 недель, был РДС (Рисунок 24).

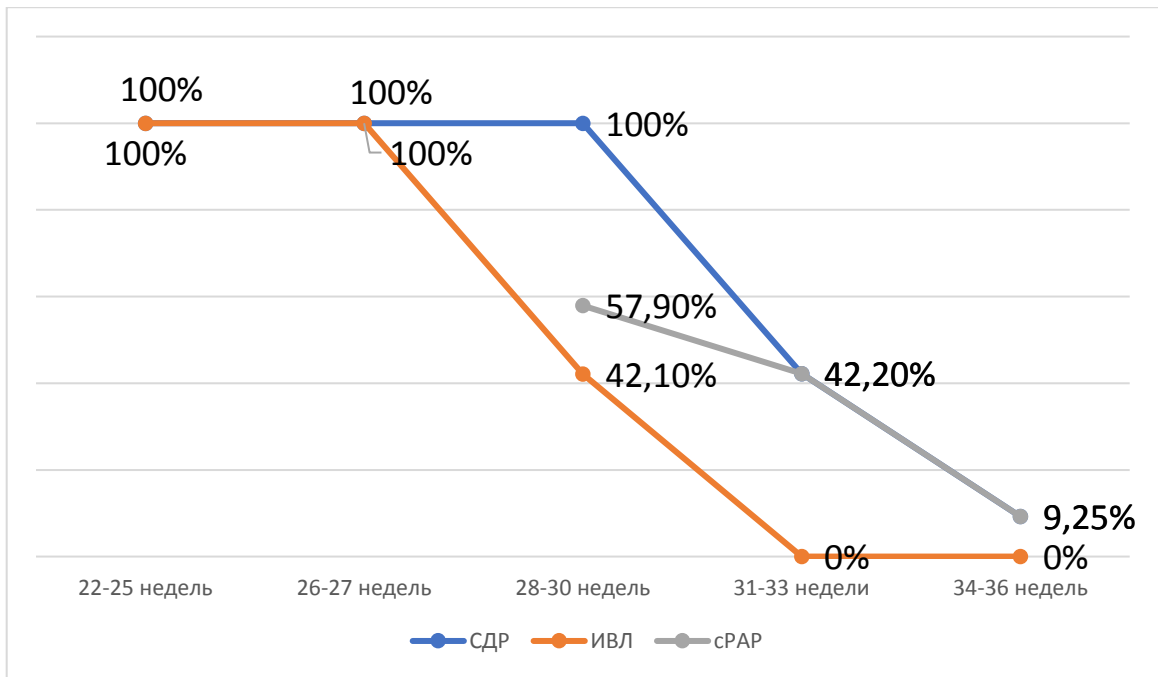


Рисунок 24 - Особенности кислородной поддержки новорождённых на разных сроках гестации

Всем новорожденным до 28 недель требовалось проведение ИВЛ, а уже на сроках 28-30 недель 6 дней большинству детей (57,9%) была необходима более щадящая респираторная терапия СРАР. Новорожденные после 31 недели вообще не нуждались в ИВЛ, а после 34 недель лишь 9,25% требовали респираторной поддержки СРАР.

Наиболее частыми перинатальными поражениями ЦНС у недоношенных детей являются поражения гипоксически-ишемического генеза: церебральная ишемия II, III степени, внутричерепное кровоизлияние II, III степени [313].

В нашем исследовании у всех детей, рожденных до 28 недель гестации, выявлены симптомы церебральной ишемии (Рисунок 25).

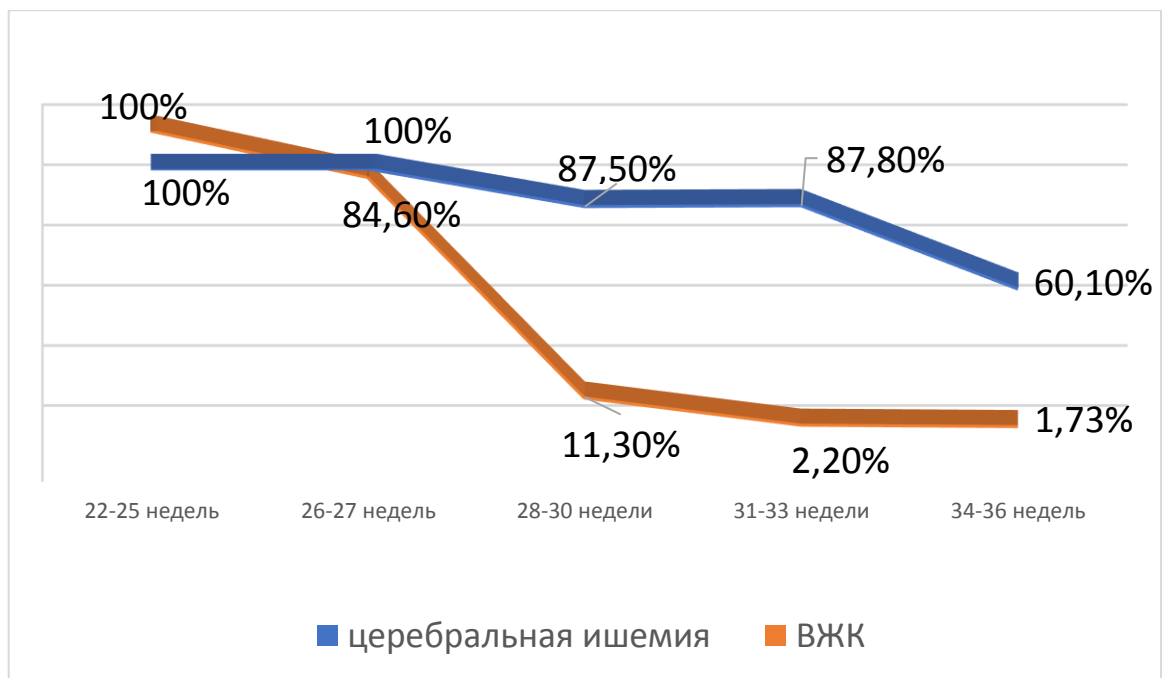


Рисунок 25 - Частота церебральной ишемии и ВЖК на разных гестационных сроках

На более поздних сроках отмечается ее снижение, но даже у рожденных после 34 недель в 60,1% наблюдений выявлены признаки гипоксически-ишемического поражений ЦНС. При этом до 26 недель у всех новорожденных в последствии обнаружено ВЖК; на сроках 26-27 недель – у 84,6%. Однако уже после 28 недели частота ВЖК резко снижается почти в 8 раз: с 84,6% до 11,3%, а после 32 недели еще в 5,1 раза - до 2,2%. Это еще раз подтверждает известную истину, что чем на более поздних сроках происходят ПР, тем благоприятнее перинатальные исходы.

Не стоит забывать и об экономической составляющей выхаживания недоношенных детей. Согласно данным Института Медицины США, стоимость медицинского обслуживания доношенного ребенка в течение первого года жизни составляет 3325\$, в то время как для недоношенного в 10 раз больше - 32325\$. Средняя продолжительность пребывания в стационаре недоношенного новорожденного составляет 13 дней, с сравнении с 1,5 днями доношенного ребенка [1].

По результатам нашего исследования средняя продолжительность пребывания в стационаре детей, рожденных до 26 недели, составила 88,9 дней, максимальная продолжительность – 98 дней (Рисунок 26).

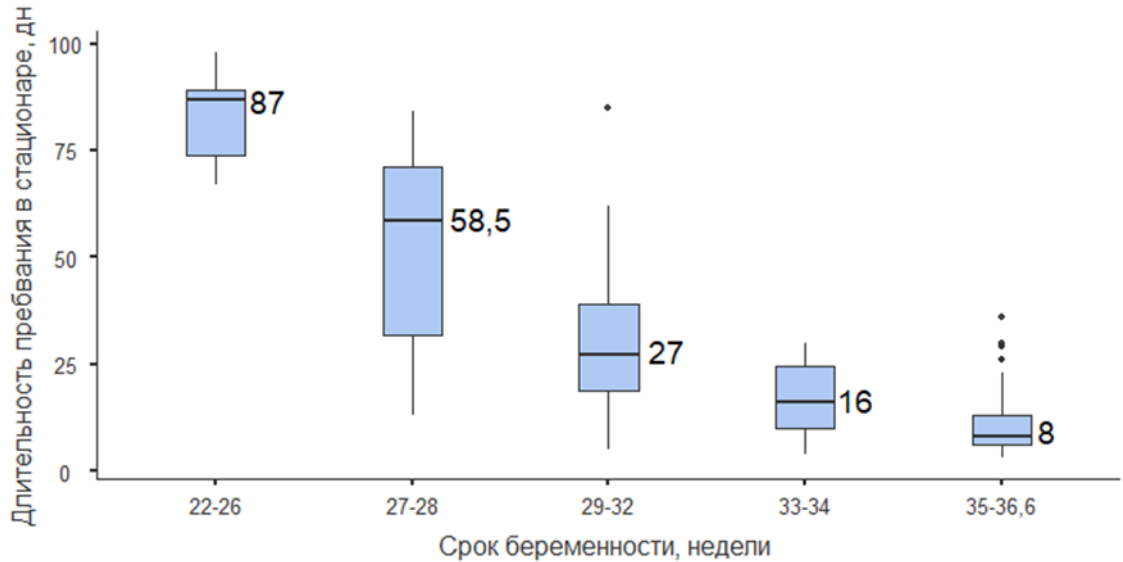


Рисунок 26 - Сроки пребывания детей в стационаре в зависимости от гестационного возраста рождения

Рожденным на сроках 27-28 недель требовалось в среднем 52 дня стационарного лечения, на сроках 28-31 недели – 30 дней. А после 32 недель отмечается снижение в 2 раза средней продолжительности стационарного пребывания с 30 до 16 дней.

Полученные выше данные нашли отражение в динамике перинатальной смертности, которая достигала 666,7‰ на сроках 22-25 недель (Рисунок 27).

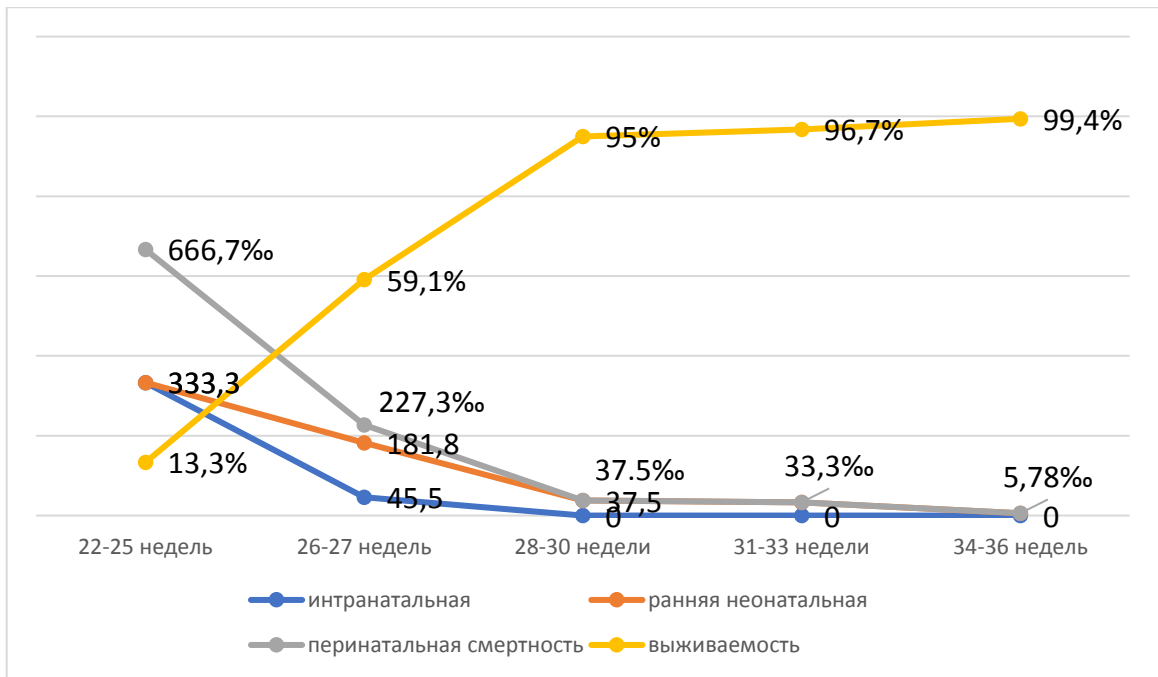


Рисунок 27 - Динамика смертности и выживаемости на разных гестационных сроках

Обязательно следует сказать о том, что только 13,3% детей, рожденных на этих сроках, были в последующем переведены из ОРИТ на 2 этап выхаживания и выписаны домой. Все они были рождены на 26 неделе беременности. Основными причинами смерти недоношенных детей на сроке 22-25 недель явились тяжелый РДС и инфекция.

Уже на сроке 26-27 недель 6 дней отмечается снижение перинатальной смертности почти в 3 раза с 666,7‰ до 227,3‰. Основными причинами ее были кровоизлияния в мозг 3-4 степени и генерализованная инфекция. При этом выживаемость в сравнении со сроком до 26 недель возрастает в 4,44 раза и достигает 59,1%.

После 28 недели мы видим резкое снижение перинатальной смертности – в 6 раз в сравнении со сроком 26-27 недель (с 227‰ до 37,5‰), а выживаемость при этом достигает 95%. Основными причинами перинатальной смертности на сроках 28-31 неделя были ВЖК, на сроке 33-34 недели – инфекция.

В 34-36 недель отмечаются минимальные показатели перинатальной смертности – 5,78‰, при показателях выживаемости 99,4%.

Согласно нашему исследованию, начиная со срока гестации 28 недель, отмечается значительное улучшение перинатальных исходов ПР (Рисунок 28).

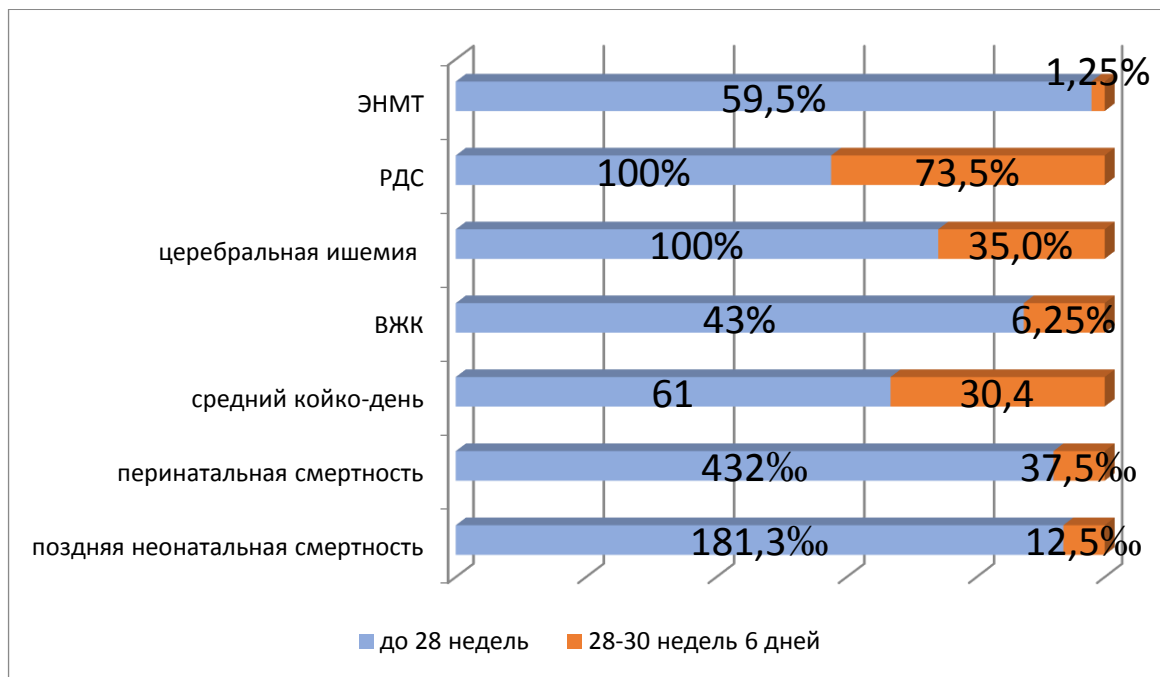


Рисунок 28 - Перинатальные исходы экстремально ранних и ранних ПР

При сравнении исходов до 28 недель и в 28-30 недель 6 дней отмечается снижение перинатальной смертности в 11,5 раз (с 432,4‰ до 37,5‰)! Частота ЭНМТ была в 33 раза ниже (59,5% и 1,2%; $RR=5,994$; 95%CI 3,739-9,610; $p < 0,05$), ВЖК – в 7 раз ниже после 28 недель (43,24% и 6,25%; $RR=5,994$; 95%CI 3,739-9,610; $p < 0,05$), церебральной ишемии почти в 3 раза реже отмечены у новорожденных после 28 недель беременности (100% и 35%; $p < 0,05$), РДС – в 1,36 раза (100% и 73,5%; $p > 0,05$).

Полученные результаты значительного улучшения перинатальных исходов ПР после 28 недель позволяют еще раз сказать о том, что пролонгирование беременности при ПР является первоочередной задачей. И возможность

продолгования беременности до срока > 28 недель, снижение частоты экстремально ранних ПР позволит значительно улучшить перинатальные и отдаленные исходы ПР.

3.2.1. Изучение оптимальной тактики родоразрешения при преждевременных родах

Одним из важнейших вопросов, который волнует акушеров всего мира, это оптимальная тактика родоразрешения при ПР. Принимая во внимание, что в настоящее время отсутствует единая концепция ведения ПР, то задачей нашего исследования явилось изучение перинатальных исходов при ПР на различных гестационных сроках в зависимости от способа родоразрешения.

Критериями исключения из исследования были беременные с преэклампсией различной степени тяжести и ее осложнениями, плацентарной недостаточностью, тяжёлой соматической патологией, требующей досрочного прерывания беременности, пороками развития плода, тазовым предлежанием плода, а также срок гестации менее 28 недель. Это связано с тем, что кесарево сечение до 28 недель беременности выполнялось только в связи с тяжелыми осложнениями беременности. Таким образом, в исследование оптимальной тактики родоразрешения при ПР вошли 586 историй беременности и преждевременных родов. Из них 53,9% родов (316) было проведено через естественные родовые пути, а 46,1% (270) - закончились путем операции КС. Следует сразу отметить, что в группе исследуемых не было ни одного случая перинатальной смертности, что, вероятно, связано с исключением из исследования детей с ЭНМТ, а также случаев осложненного течения беременности.

При анализе общих перинатальных исходов ПР на сроках 28-37 недель мы не выявили никаких достоверных различий между детьми в зависимости от метода родоразрешения (Таблица 16).

Таблица 16 - Перинатальные исходы новорожденных на сроках 28-36 недель 6 дней в зависимости от метода родоразрешения

	Рожденные через естественные родовые пути (n=316)	Рожденные путем операции кесарева сечения (n=270)	Критерий Фишера, p
Гипоксия при рождении (оценка по шкале Апгар ниже 7 баллов)	23,4% (74)	26,3% (71)	p > 0,05
РДС	30,4% (96)	36,3% (98)	p > 0,05
СРАР	20,3% (64)	28,5% (77)	p > 0,05
ИВЛ	10,1% (32)	7,78% (21)	p > 0,05
Церебральная ишемия	69,6% (220)	74,8% (202)	p > 0,05
ВЖК	4,75% (15)	1,85% (5)	p > 0,05

Обращало на себя внимание лишь то, что частота внутрижелудочковых кровоизлияний была в 2,6 раза выше у детей, рожденных через естественные родовые пути (4,75% и 1,85%; $p > 0,05$). Поэтому мы провели детальный анализ перинатальных исходов на различных гестационных сроках. Мы также разделили все исходы зависимости от срока родоразрешения на 34 -36 недель 6 дней, 32- 33 недели 6 дней и 28-31 неделя и 6 дней.

3.2.1.1. Перинатальные исходы на сроках 34-36 недель 6 дней

У рожденных в 34-36 недель 6 дней через естественные родовые пути в 1,3 раза реже отмечалась гипоксия при рождении, а частота синдрома дыхательных расстройств (СДР) была достоверно ниже (3,45% и 12,79%; $p < 0,01$; RR 3,709; 95%CI 1,542-8,923). Однако ни в одном случае не было необходимости проведения ИВЛ - использовались только вспомогательные режимы вентиляции легких СРАР (Таблица 17).

Таблица 17 - Перинатальные исходы на сроке 34-36 недель 6 дней в зависимости от тактики родоразрешения

	Рожденные через естественные родовые пути (n=174)	Рожденные путем операции кесарева сечения (n=172)	Критерий Фишера, p
Гипоксия при рождении (оценка по шкале Апгар ниже 7 баллов)	14,9% (26)	19,8% (34)	$p > 0,05$
РДС	3,5% (6)	12,8% (22)	$p < 0,01$
СРАР	3,5% (6)	12,8% (22)	$p < 0,01$
ИВЛ	0	0	-
Церебральная ишемия	51,7% (90)	65,1% (112)	$p > 0,05$
ВЖК	0,57% (1)	0,58% (1)	$p > 0,05$
Средняя продолжительность пребывания в ОРИТе	3,31 дня	4,24 дня	$p > 0,05$

Также не было выявлено различий в частоте ВЖК в обеих группах, и она не превышала 0,6%. Продолжительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) не отличалась.

3.2.1.2. Перинатальные исходы на сроках 31-33 недели 6 дней

На данных гестационных сроках СДР в 2,4 раза чаще отмечен у детей, рожденных путем операции кесарева сечения (54,2% и 23,5%; $p < 0,05$; RR 2,30; 95%CI 1,394-3.801) (Таблица 18).

Таблица 18 - Перинатальные исходы на сроке 31-33 недели 6 дней в зависимости от тактики родоразрешения

	Рожденные через естественные родовые пути (n=68)	Рожденные путем операции кесарева сечения (n=48)	Критерий Фишера, p
Гипоксия при рождении (оценка по шкале Апгар ниже 7 баллов)	8,82% (6)	20,8% (10)	p > 0,05
РДС	23,5% (16)	54,2% (26)	p < 0,05
СРАР	23,5% (16)	54,2% (26)	p < 0,05
ИВЛ	0	0	-
Церебральная ишемия	82,4% (56)	83,3% (40)	p > 0,05
ВЖК	4,4% (3)	2,1% (1)	p > 0,05
Средняя продолжительность пребывания в ОРИТе	8,6 дня	9,2 дня	p > 0,05

Также ни один ребенок не требовал проведения искусственной вентиляции легких. Частота церебральной депрессии не отличалась в группах, а внутрижелудочковые кровоизлияния в 2 раза чаще были диагностированы у детей, рожденных через естественные родовые пути (4,41% и 2,08%; p > 0,05; RR 2,12; 95%CI 0,027-19,75), однако данные различия не были статистически достоверны. Средняя продолжительность пребывания детей в отделении реанимации и интенсивной терапии также не отличалась составила 8,6 и 9,2 суток, соответственно.

3.2.1.3. Перинатальные исходы на сроках 28-30 недель 6 дней

Наибольший интерес представляли для нас именно новорожденные, рожденные на сроках 28-30 неделя 6 дней (Таблица 19).

Таблица 19 - Перинатальные исходы на сроке 28-30 недель 6 дней в зависимости от тактики родоразрешения

	Рожденные через естественные родовые пути (n=74)	Рожденные путем операции кесарева сечения (n=50)	Критерий Фишера, p
Гипоксия при рождении (оценка по шкале Апгар ниже 7 баллов)	56,8% (42)	54% (27)	p > 0,05
РДС	100% (74)	100% (50)	p > 0,05
СРАР	58,1% (43)	58,0% (29)	p > 0,05
ИВЛ	41,9% (31)	42,0% (21)	p > 0,05
Церебральная ишемия	100% (74)	100% (50)	p > 0,05
ВЖК	14,9% (11)	6% (3)	p > 0,05
Средняя продолжительность пребывания в ОРИТе	11,5 дней	16,2 дня	p > 0,05

РДС наблюдался у всех, рожденных на данных сроках, независимо от типа родоразрешения. Однако не было выявлено различий в частоте ИВЛ (41,9% и 42,0%; p > 0,05) и вспомогательных режимов вентиляции СРАР (58,1% и 58,0%; p > 0,05). У всех новорожденных отмечалась церебральная депрессия, но частота ВЖК у детей, рожденных через естественные родовые пути, была в 2,3 раза выше, чем у рожденных путем операции кесарева сечения (14,9% и 6%; p > 0,05). Средняя продолжительность пребывания в ОРИТ была 11,5 и 16,2 дня, соответственно.

Таким образом, проведенное нами ретроспективное исследование перинатальных исходов ПР в зависимости от тактики родоразрешения показало, что у недоношенных детей на сроках 34-36 недель 6 дней очень низкая частота ВЖК (0,58%) и она не зависит от метода родоразрешения. Однако частота СДР достоверно выше (в 3,7 раза) у детей, рожденных путем операции кесарева сечения. Таким образом, можно говорить о том, что оптимальным методом родоразрешения для недоношенных детей на сроках 34-36 недель 6 дней являются роды через естественные родовые пути.

На сроках 31-33 недели 6 дней также достоверно чаще выявлен СДР у детей, рожденных путем операции кесарева сечения (54,2% и 23,5%; $p < 0,01$; RR 2,30; 95%CI 1,394-3,801). Однако никому из этих детей не требовалась ИВЛ, а лишь вспомогательные режимы вентиляции. В тоже время частота ВЖК была в 2,1 раза выше при родах через естественные родовые пути (4,41% и 2,08%; $p > 0,05$; RR 2,12; 95%CI 0,027-19,75). При расчете рисков можно говорить о том, что роды через естественные родовые пути более чем в 2 раза повышают риск ВЖК на сроке 31-33 недели 6 дней. Однако родоразрешение путем операции кесарева сечения приводит к 2хкратному увеличению риска РДС плода, что повышает риск ВЖК в раннем неонатальном периоде. Поэтому на данных сроках беременности оптимальным методом родоразрешения являются роды через естественные родовые пути.

В сроках 28-30 недель 6 дней у всех новорожденных выявляется СДР и всем детям требуется респираторная поддержка. Мы не нашли достоверной разницы между необходимыми параметрами вентиляции (ИВЛ и СРАР) и методом родоразрешения. В тоже время частота ВЖК была в 2,5 раза выше у детей, рожденных через естественные родовые пути (14,9% и 6%; $p > 0,05$; RR 2,477; 95%CI 0,728 до 8,435). При расчете относительного риска выявлено, что в случае проведение родов через естественные родовые пути на сроках 28-30 недель 6 дней риск ВЖК повышен в 2,5 раза, чем при выполнении операции кесарева сечения, и частота ВЖК достигает почти 15%.

Таким образом, проведенное нами исследование позволили нам сделать вывод о том, что оптимальным методом родоразрешения для недоношенных новорождённых на сроках 28-30 недель 6 дней является родоразрешение путем операции кесарева сечения, что позволит снизить частоту внутрижелудочковых кровоизлияний и приведет к снижению перинатальной и детской заболеваемости. После 31 недель оптимальным методом родоразрешения являются роды через естественные родовые пути.

3.3. Внедрение полученных результатов в практическое здравоохранение

На основании полученных результатов изучения возможного патогенеза ПР нами было установлено, что даже при исключении инфекционного фактора, ПР являются процессом воспалительной этиологии. Речь идет о так называемом «стерильном воспалении». При отсутствии инфекционного агента запуск воспалительного процесса в маточно-плацентарном комплексе может происходить по причине генетически детерминированной повышенной продукции провоспалительных цитокинов у женщин с полиморфизмом генов цитокинов.

Нами было выявлено, что у пациенток с полиморфизмом генов провоспалительных цитокинов, в результате повышенной выработки последних, происходят ПР. При сочетании нескольких полиморфизмов у одной пациентки прерывание беременности происходит раньше, чем у пациенток с единичными мутациями.

Еще один возможный механизм запуска «стерильного воспаления» в МПК – это повышенная активность процессов апоптоза в плаценте, что также было выявлено в нашем исследовании. Вероятно, продукты распада клеток плаценты при ее преждевременном апоптозе могут быть теми биологически активными веществами (DAMPs), которые вызывают активацию toll-подобных рецепторов, что запускает воспалительный каскад в маточно-плацентарном комплексе. Активация TLRs приводит к повышенной выработке провоспалительных цитокинов, ключевыми из которых являются *IL-1 β* и *TNF- α* , происходит индукция циклооксигеназы-2 в амнионе и децидуальной оболочке, а также подавление активности 15-гидроксипростагландиндегидрогеназы [97,125,126]. Данные изменения приводят к повышенной выработке простагландинов, в частности E и F2 α , что ведет к динамическим изменениям со стороны шейки матки (размягчение, укорочение, раскрытие) и появлению маточных сокращений.

Таким образом, запускается механизм преждевременной родовой деятельности.

На основании выводов о том, что спонтанные ПР являются воспалительным процессом, нами был разработан алгоритм ведения пациенток с ПР в анамнезе для предотвращения преждевременного прерывания последующей беременности.

Предгравидарный этап включал микробиологическое исследование содержимого цервикального канала, мочи и микроскопическое исследование влагалищного мазка. Это связано с тем, что в нашем исследовании у 72,2% женщин с клиникой ПР была выявлена инфекция мочеполовой системы. При выявлении возбудителей проводилась антибактериальная терапия согласно чувствительности с последующим контрольным бактериологическим исследованием. Также всем пациенткам проводили санацию очагов хронической инфекции.

Поскольку ведущим фактором прерывания беременности является повышенная выработка провоспалительных цитокинов и простагландинов, при наступлении беременности у женщин группы риска с целью профилактики ПР мы использовали аспирин 100 мг ежедневно с момента установления факта маточной беременности и рекомендовали прием аспирина до 37 недель беременности. У всех пациенток получено добровольное информированное согласие на использование данного препарата в указанные сроки и дозе.

С целью контроля состояния шейки матки цервикометрию проводили каждые 2 недели с 13 до 28 недель беременности. При укорочении шейки матки менее 25 мм мы назначали препараты прогестерона вагинально, прием которых рекомендовали продолжить до 37 недель беременности. При появлении симптомов угрожающих ПР проводили профилактику РДС плода дексаметазоном (суммарная доза дексаметазона 24 мг) в сроках 24-34 недели гестации.

При появлении регулярных маточных сокращений пациентку госпитализировали в родильное отделение ГКБ имени С.С.Юдина и начинали токолиз. Учитывая данные о том, что ПР являются результатом воспаления в

маточно-плацентарном комплексе, препаратом выбора для токолиза был индометацин. Индометацин - это единственный препарат из рекомендованных для токолиза, который действует на более раннее звено патогенеза, чем остальные токолитики, подавляя воспалительный процесс в маточно-плацентарном комплексе и препятствуя выработке простагландинов. Токолиз проводили в течение 48 часов. Одновременно с назначением индометацина использовали сульфат магния в качестве нейропротектора.

С целью внедрения разработанного алгоритма в практическое здравоохранение, мы провели проспективное исследование для оценки эффективности предложенной тактики профилактики и ведения ПР.

Нами проведены беременность и роды у 43 пациенток с преждевременными родами в анамнезе. При этом у 17 из этих женщин ранее произошли экстремально ранние ПР на сроках до 28 недель, у 10 – ранние (28-30 недель 6 дней), и у 16 – преждевременные роды (31-33 недели 6 дней) (Рисунок 29).

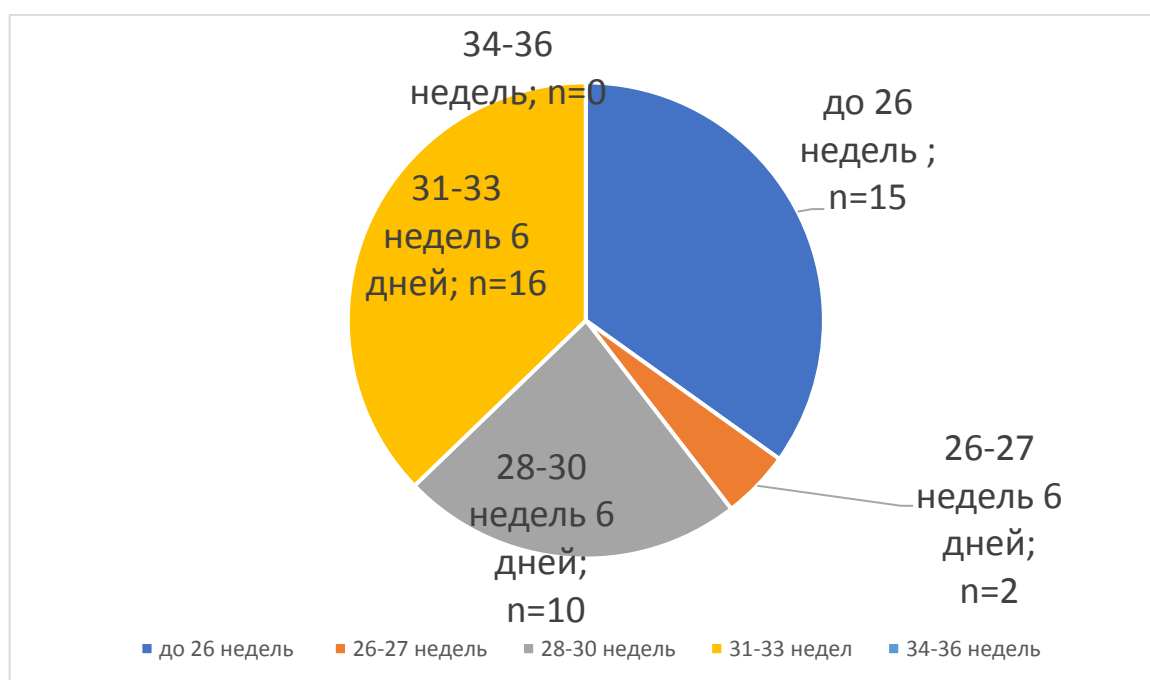


Рисунок 29 - Сроки прерывания предыдущей беременности у пациенток группы риска ПР

Эти пациентки находились под нашим наблюдением с предгравидарного этапа, когда они обратились к нам для подготовки и ведения беременности и родов. Таким образом, была сформирована группа пациенток с предшествующими ПР в анамнезе для подготовки и введения последующей беременности согласно патогенетически обоснованному алгоритму.

По результатам обследования 29 пациенток было установлено, что у 26 из них были обнаружены полиморфизмы генов цитокинов *TNF-α* -308G/A, *IL-1β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2), *IL-4 VNTR* (интрон3). При этом полиморфизмы 4х цитокинов был у 10 женщин (23,3%), 3х цитокинов – у 4 женщин (9,3%), 2х цитокинов – у 7 (16,3%), 1 цитокина - у 5 (11,6%). У троих не было выявлено изучаемых полиморфизмов (6,9%) (Таблица 20).

Таблица 20 - Особенности полиморфизмов генов цитокинов у пациенток группы риска преждевременных родов

Сочетание провоспалительных генотипов	Количество женщин	Сроки прерывания предыдущей беременности (недели)
Нет провоспалительных аллелей	3 (6,9%)	30-36
Провоспалительный аллель цитокина 1	5 (11,6%)	30-32
Провоспалительный аллель цитокинов 2	7 (16,3%)	28-34
Провоспалительный аллель цитокинов 3	4 (9,3%)	23-25
Провоспалительный аллель цитокинов 4	10 (23,3%)	24-26
Не были обследованы	14 (32,6%)	-

Дизайн исследования представлен на Рисунке 30.

43 женщины с ПР в анамнезе

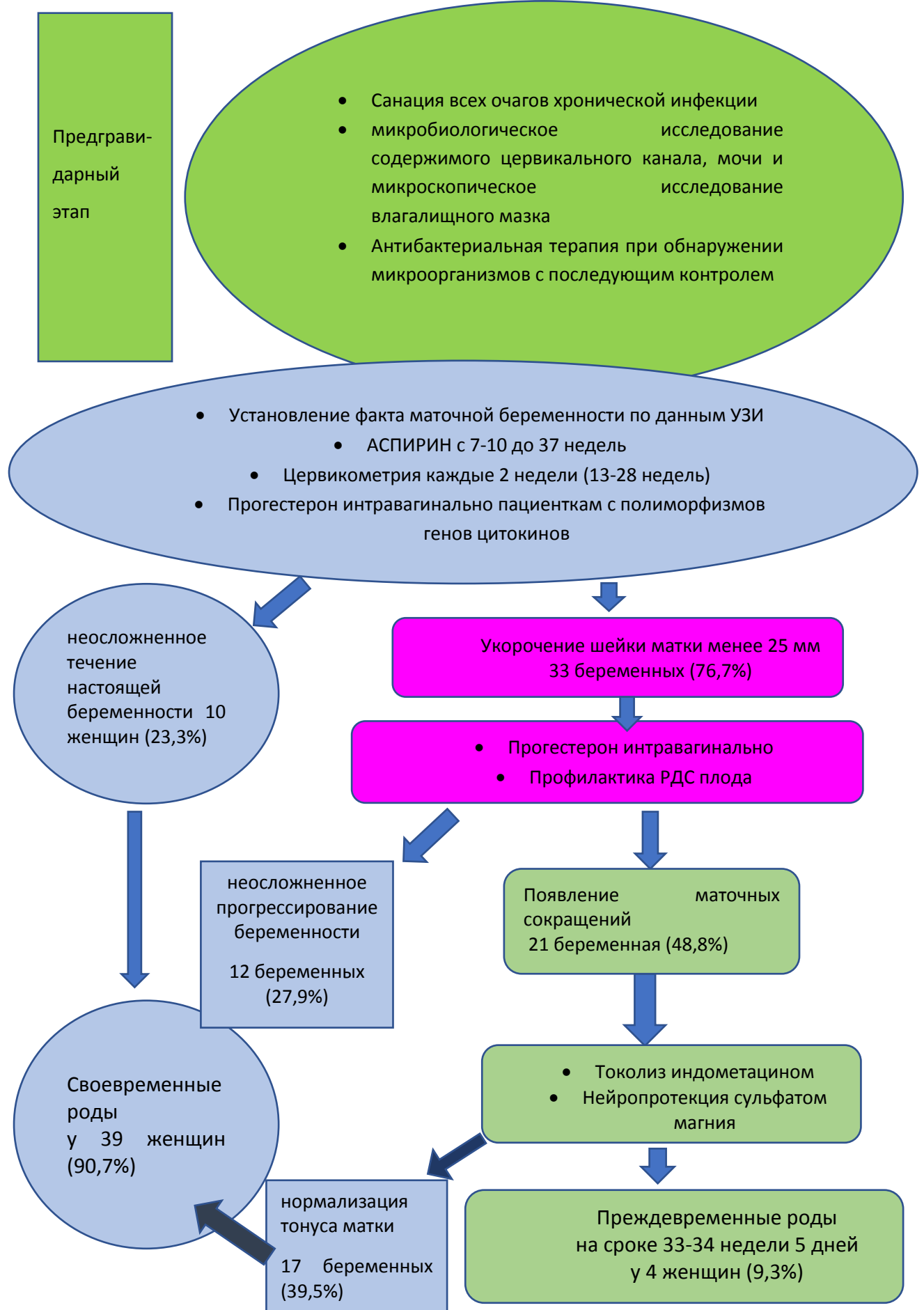


Рисунок 30 - Дизайн исследования алгоритма предгравидарной подготовки и ведения беременности у женщин группы риска преждевременных родов

На предгравидарном этапе всем пациенткам была проведена санация очагов хронической инфекции, выполнено микробиологическое исследование содержимого цервикального канала, мочи и микроскопическое исследование влагалищного мазка. При выявлении возбудителей проведена антибактериальная терапия согласно чувствительности с последующим контрольным микробиологическим исследованием.

С целью профилактики ПР все пациентки с 7-10 недель беременности получали аспирин в дозе 100 мг ежедневно до 37 недель. У всех пациенток получено добровольное информированное согласие на использование данного препарата в указанные сроки и дозе.

Принимая во внимание полученные нами данные о том, что пациентки с сочетанием полиморфизмов генов цитокинов *TNF- α* -308G/A, *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2), *IL-4 VNTR* (интрон3) являются группой риска очень ранних и ранних ПР, этим женщинам мы проводили дополнительные профилактические мероприятия – назначали прогестерон интравагинально от момента установления факта маточной беременности. Также каждые 2 недели всем женщинам проводили цервикометрию на сроках 13-28 недель.

У 10 пациенток (23,3%) беременность протекала без осложнений и закончилась своевременными родами.

У 33 женщин (76,7%) при динамической цервикометрии было выявлено укорочение шейки матки менее 25 мм на сроках 21-28 недель беременности, в связи с чем для профилактики ПР им был назначен препарат прогестерона интравагинально. На сроках 24-28 недель у них проведена профилактика РДС плода дексаметазоном (суммарная доза дексаметазона 24 мг). В дальнейшем у 12

женщин (27,9%) беременность протекала без осложнений. Препарат прогестерона был отменен в 37 недель. В последующем у всех этих пациенток произошли своевременные роды без осложнений.

У 19 беременных (44,3%), которые получали препарат прогестерона по причине укорочения шейки матки, при сроках гестации 25-33 недели появились клинические признаки преждевременных родов – регулярные маточные сокращения (более 4 схваток за 20 минут). Все пациентки были госпитализированы в родильное отделение ГБУЗ ГKB имени С.С.Юдина, где проводился токолиз индометацином в течение 48 часов. Также с целью нейропротекции плода использовали 25% раствора сульфата магния. Антибактериальную профилактику пациенткам с ПР мы не проводили, принимая во внимание отсутствие инфекции в мочеполовой системе по данным предгравидарного обследования.

У 17 беременных (39,5%) данная схема токолиза оказалась эффективной: преждевременные регулярные маточные сокращения прекратились, беременность была пролонгирована и закончилась своевременными родами через естественные родовые пути при сроке гестации 39-40 недель 4 дня. Все новорожденные были здоровы: средняя масса при рождении составила 3260 ± 124 г, гипоксии при рождении не было, все новорожденные находились на совместном пребывании с мамами и выписаны домой на 3-4 сутки жизни.

У 2 беременных (4,7%), с клиническими симптомами ПР на сроке гестации 31-32 недели токолиз оказался неэффективен. У них произошли ПР через 7-11 часов от начала токолиза. У других 2 пациенток (4,7%) не проводился токолиз по причине срока гестации 34-35 недель. У этих пациенток мы использовали только сульфат магния.

Послеродовый период у всех женщин протекал без осложнений.

Ни у одного новорожденного от матерей, получавших индометацин, не было выявлено побочных эффектов этого препарата (олигурии, преждевременного

закрытия артериального протока, ВЖК, энтероколита, перивентрикулярной лейкомаляции и др.).

В нашем исследовании у 4 женщин с ПР в анамнезе (9,3%) произошли повторные ПР через естественные родовые пути на сроке 31-35 недель. Перинатальные исходы этих повторных ПР были следующие: все новорожденные мужского пола, с массой при рождении 2200-2970г, с оценкой по Апгар на 1 минуте 7 баллов, на 5 минуте 8 баллов. РДС был у 2 новорожденных, рождённых на сроке 31-32 недели. Этим детям потребовалось проведение респираторной поддержки в режиме СРАР в отделении интенсивной терапии. В последующем они были переведены на 2 этап выхаживания и выписаны из стационара на 15 и 18 сутки жизни.

Мы отдельно проанализировали данных пациенток: все они оказались носительницами 4 изученных нами полиморфизмов генов цитокинов *TNF-α* - 308G/A, *IL-1β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2), *IL-4 VNTR* (интрон3). Предыдущая беременность закончилась у них ПР на сроках 24-26 недель, при этом перинатальная смертность составила 100%. Несмотря на то, что данная беременность у них также закончилась ПР, в результате примененного нами алгоритма ведения беременности и родов не было случаев очень ранних и ранних ПР. Кроме того, мы значительно улучшили перинатальные исходы у данных пациенток и снизили перинатальную смертность с 100% до 0%.

Сравнение общих перинатальных исходов до применения и после применения разработанного алгоритма ведения беременности у женщин группы риска ПР представлено на Рисунке 31.

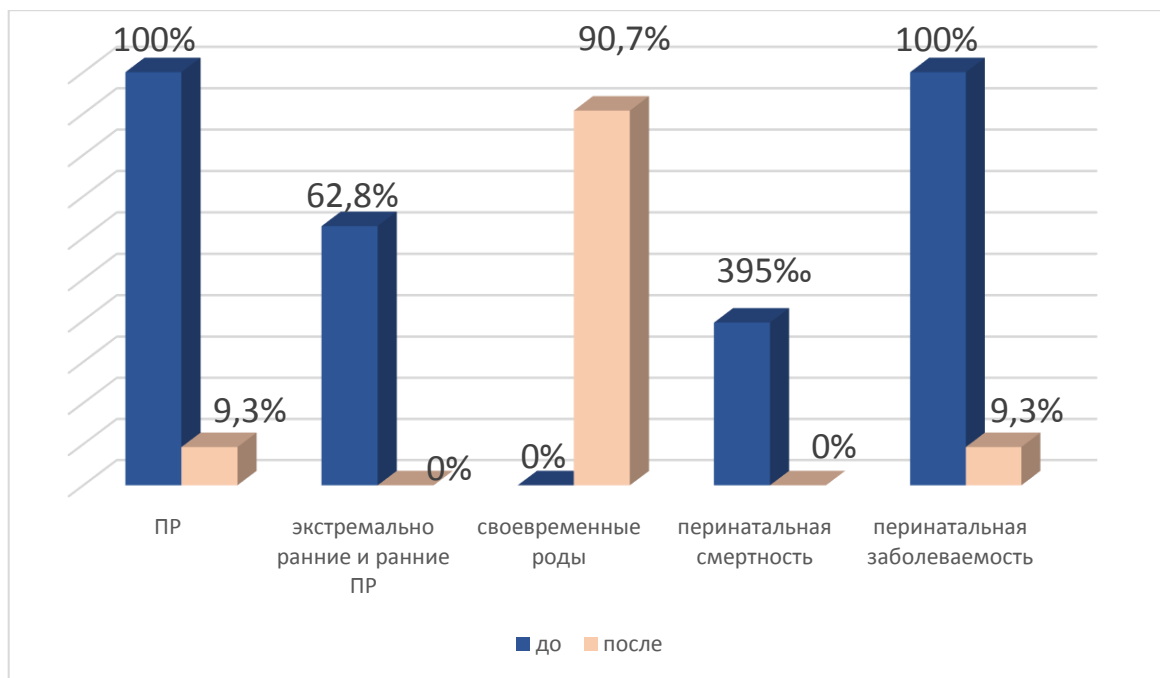


Рисунок 31 - Исходы беременностей у женщин с ПР в анамнезе

Ведение беременности и родов у женщин с ПР в анамнезе, согласно предложенному нами алгоритму, позволило снизить частоту ПР в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), при этом сократить частоту экстремально ранних и ранних ПР с 62,8% до 0% ($p < 0,05$). Также удалось сократить перинатальную заболеваемость в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), а перинатальную смертность с 395% до 0 ($p < 0,05$).

Заключение

Проведенное нами исследование не только подтвердило, что спонтанные ПР являются воспалительным процессом, но и позволило приоткрыть некоторые звенья патогенеза ПР. Нами выявлено, что одной из причин высоких концентраций провоспалительных цитокинов в МПК при ПР является их генетически детерминированная повышенная выработка у пациенток с полиморфизмов генов цитокинов. Кроме того, одним из механизмов запуска спонтанных ПР может быть преждевременный апоптоз клеток плаценты у пациенток с ПР, что подтверждено в

нашем исследовании повышенной экспрессией генов инициаторной каспазы-8 и эффекторной каспазы-3. Продукты распада клеток плаценты являются теми лигандами, которые активируют toll-подобные рецепторы, повышенная экспрессия генов которых также выявлена в нашем исследовании. Таким образом, при исключении инфекционного фактора при спонтанных ПР реализуется процесс так называемого «стерильного воспаления», сопровождающегося высокими концентрациями провоспалительных цитокинов в МПК. Последние, в свою очередь, стимулируют выработку простагландинов и реализацию клинической картины ПР.

На основании полученных данных о «стерильном воспалении» при спонтанных ПР, нами был разработан алгоритм предгравидарной подготовки (Рисунок 32), ведения беременности и родов у женщин группы риска ПР с применением патогенетического подхода – использования провоспалительных препаратов для профилактики и лечения ПР. Это позволило снизить частоту ПР в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), частоту очень ранних и ранних ПР до 0%, перинатальную заболеваемость в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), а перинатальную смертность с 395‰ до 0.

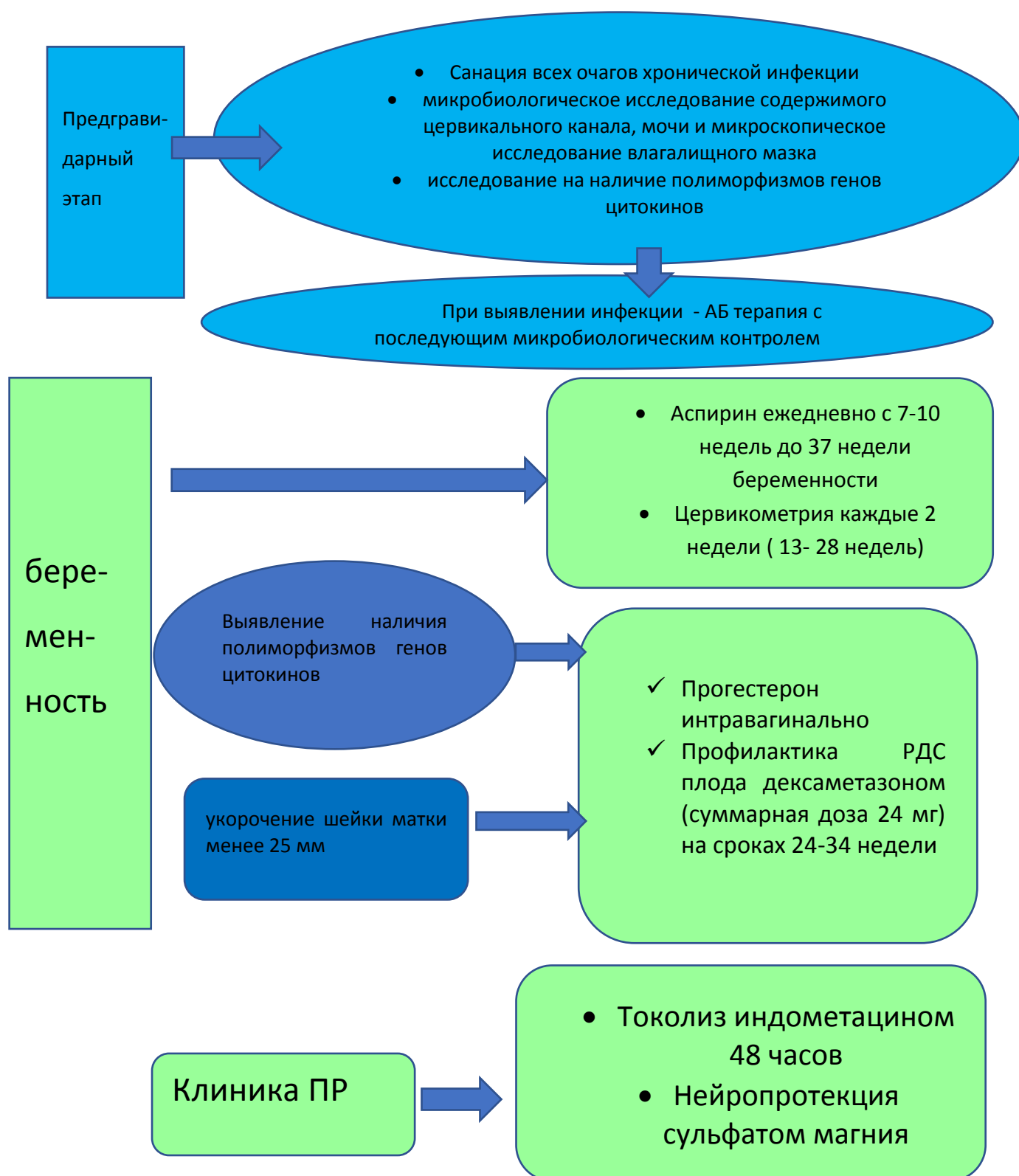


Рисунок 32 - Алгоритм предгравидарной подготовки, ведения беременности и родов у женщин группы риска ПР

Глава 4.

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Преждевременные роды являются одной из основных проблем современного акушерства. Частота ПР в мире составляет около 11% с колебаниями от 5% в некоторых странах Европы до 18% в Африке [1-6]. Кроме того, около 2,5 млн. повторных ПР происходит в мире ежегодно [52]. В результате ежегодно в мире рождается около 15 миллионов недоношенных детей [1-5].

Осложнения преждевременных родов являются основной причиной смерти детей в возрасте до 5 лет. Бронхолегочная дисплазия, инфекция (менингит, сепсис и некротический энтероколит), повреждение головного мозга, в частности внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК) приводят к гибели недоношенных детей [314; 315]. Но не только высокая перинатальная смертность делает ПР важной медико-социальной проблемой. Перинатальная и детская заболеваемость среди недоношенных детей также очень высоки, а отдаленные результаты развития этих детей неблагоприятны. Так, половина детей, рожденных с экстремально низкой массой тела (менее 1000г), при достижении возраста 2 лет имеют тяжелую инвалидность, связанную с ДЦП, потерей слуха и/или зрения, нарушениями когнитивного развития [59; 60], а процент инвалидизации к 6-10 годам жизни у них достигает 46% [61]. Среди детей, рожденных с очень низкой массой тела (1000-1500г) отдаленные исходы несколько лучше, однако 36% из них имеют те или иные неврологические нарушения к 5 годам и нуждаются в специализированной медицинской помощи (логопед, психолог, психиатр) [64].

В настоящее время есть серьезные достижения в решении проблемы ПР: выделены факторы риска ПР, определены препараты для проведения токолиза, внедрено антенатальное использование глюкокортикоидов для профилактики и снижения частоты РДС плода, широко используется введение сурфактанта, щадящих режимов вентиляции (СРАР), метода совместного выхаживания недоношенных новорожденных (kangaroo mother care).

Однако несмотря на это, согласно данным ВОЗ в последние 20 лет отмечается тенденция увеличения частоты ПР в мире. Вероятно, это связано с тем, что профилактические меры запаздывают, а лечение ПР является лишь симптоматическим. Поэтому понимание патогенеза ПР является крайне важной темой для исследований. Неспроста в 2015 году ВОЗ разработала ряд рекомендаций «О мерах по улучшению исходов преждевременных родов», чтобы стимулировать проведение исследований причин и патогенеза преждевременных родов, а также подходов к родоразрешению при ПР и их эффективности, методов выхаживания недоношенных детей [19].

Известно, что ПР являются воспалительным процессом, поскольку при ПР в МПК обнаруживаются высокие концентрации провоспалительных цитокинов [152-154]. В результате их воздействия на циклооксигеназы (COX-1 и COX-2) происходит активный синтез простагландинов, в том числе E и F2 α , что приводит к созреванию шейки матки, появлению маточных сокращений и реализации процесса преждевременных родов. Причина и генез повышения концентрации провоспалительных цитокинов при ПР, связанных с инфекцией, понятна. Лиганды бактерий и вирусов стимулируют toll-подобные рецепторы, в результате их активации происходит повышение выработки провоспалительных цитокинов.

Однако природа появления высоких концентраций провоспалительных цитокинов при отсутствии инфекционного фактора не ясна. А поскольку до 50% всех ПР являются спонтанными ПР, то именно патогенез этих спонтанных ПР представляет большой интерес для исследователей в мире. Вероятно, что при спонтанных ПР может реализоваться тот же патогенетический механизм через активацию toll-подобных рецепторов. Именно поэтому одной из целей нашей работы стало изучение экспрессии генов TLRs эпителием шейки матки. Однако при отсутствии инфекционного фактора встает вопрос о том, что может активировать TLRs.

Нами были выдвинуты следующие гипотезы патогенетических звеньев ПР. Одним из триггерных механизмов спонтанных ПР является преждевременный апоптоз клеток плаценты. В результате их преждевременной гибели происходит

высвобождение различных клеточных фрагментов (DAMPs), которые являются лигандами для toll-подобных рецепторов. С целью изучения данного возможного звена патогенеза спонтанных ПР мы исследовали экспрессию генов toll-подобных рецепторов эпителием шейки матки, а также изучали маркеры апоптоза плаценты (каспаза-3, каспаза-8 и XIAP) при преждевременных и своевременных родах.

Причиной повышения провоспалительных цитокинов в МПК может быть генетически детерминированная склонность к их повышенной выработке по причине полиморфизма генов цитокинов. Поэтому еще одной из задач нашего исследования явилось изучение полиморфизма генов цитокинов у пациенток с ПР, а также влияния сочетания этих полиморфизмов на течение и исходы беременностей.

Тактика ведения преждевременных родов также является одной из нерешенных проблем современного акушерства. В настоящее время среди акушеров-гинекологов нет единого мнения о том, какой метод родоразрешения предпочтителен для недоношенных детей. И у родоразрешения путем операции кесарева сечения и у родов через естественные родовые пути есть сторонники и противники [23]. Утверждения о том, что кесарево сечение при ПР позволит снизить риск гибели плода или новорожденного, а также риск родовой травмы и ВЖК, были встречены утверждениями о том, что такая тактика увеличивает риск серьезных осложнений как для матери (гнойно-септические осложнения, кровотечения, рубец на матке, вращение плаценты при последующей беременности), так и для недоношенного ребенка (РДС плода). Поэтому с целью выбора оптимальной тактики родоразрешения при ПР нами проведено ретроспективное исследование перинатальных исходов при ПР на разных сроках гестации в зависимости от метода родоразрешения (роды через естественные родовые пути или кесарево сечение).

По результатам проведенных нами исследований предлагаем вынести на обсуждение следующие вопросы:

- одним из основных звеньев патогенеза спонтанных преждевременных родов является повышенная продукция провоспалительных цитокинов в связи с полиморфизмом генов цитокинов, а сочетание нескольких полиморфизмов приводит к очень ранним и ранним ПР;
- триггерным механизмом активации преждевременной спонтанной родовой деятельности является преждевременный апоптоз плаценты. Фрагменты распада клеток плаценты (DAMPs) являются лигандами toll-подобных рецепторов, экспрессия которых также повышается при спонтанных преждевременных родах. В результате их активации, а также по причине наличия полиморфизма генов провоспалительных цитокинов, происходит повышенная выработка последних в маточно-плацентарном комплексе – реализуется процесс «стерильного» воспаления;
- оценка перинатальных исходов ПР на разных гестационных сроках в зависимости от метода родоразрешения позволяет определить оптимальную тактику родоразрешения недоношенных детей с целью снижения перинатальной заболеваемости и смертности, а также улучшения отдалённых исходов ПР;
- комплексная оценка основных патогенетических механизмов спонтанных ПР позволила разработать алгоритм патогенетически обоснованной предгравидарной подготовки, профилактики и ведения беременности у женщин группы риска ПР, а также обосновать выбор токолитической терапии при преждевременных родах, что привело к снижению частоты ПР, особенно экстремально ранних и ранних, снижению перинатальной заболеваемости и смертности недоношенных детей.

4.1. Обсуждение результатов проспективного исследования

Многочисленные исследования преждевременных родов показали, почти 70% их возникает или из-за преждевременно начавшейся родовой деятельности (40-

50%) или из-за преждевременного излития околоплодных вод (20-30%). Оставшиеся 20-30% ПР являются ятрогенными в связи с тяжелыми состояниями матери и\или плода [17]. Причинами преждевременного начала родовой деятельности может быть инфекция. Так, в 20 - 75% случаев ПР выявляются гистологические признаки хориоамнионита, в 30-60% случаев в посевах обнаруживаются различные возбудители [235-238]. В остальных случаях причину преждевременного начала родовой деятельности установить не удастся – это так называемые спонтанные ПР.

По результатам нашего исследования в 34,0% случаев происходило преждевременное спонтанное начало родовой деятельности при отсутствии инфекционного фактора –спонтанные ПР. То, что спонтанные ПР являются процессом воспалительной этиологии, уже не вызывает сомнений: в различных исследованиях было показано, что при спонтанных ПР выявляется повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в шейке матки, околоплодных водах, миометрии, плаценте, пуповинной крови, что приводит к повышенной продукции простагландинов и запуску ПР [28-32; 139; 152-154]. Развивается так называемое «стерильное» воспаление. Однако при исключенном инфекционном факторе остается непонятной причина этой повышенной продукции цитокинов в маточно-плацентарном комплексе. В связи с этим нами были выдвинуты следующие гипотезы:

- повышенная продукция цитокинов в маточно-плацентарном комплексе может быть вследствие генетически детерминированной повышенной склонности к продукции цитокинов по причине полиморфизма их генов;
- высокая концентрация цитокинов в МПК может быть связана с активацией toll-подобных рецепторов;
- запуск процесса «стерильного» воспаления в МПК при преждевременных родах может быть связан с преждевременным апоптозом плаценты.

В связи с выдвинутыми гипотезами о механизме запуска процесса «стерильного» воспаления в маточно-плацентарном комплексе при ПР наше проспективное исследование включало в себя следующие этапы:

1. исследование полиморфизма генов ряда цитокинов и их сочетания у женщин с ПР;
2. оценка экспрессии генов toll-подобных рецепторов эпителием цервикального канала;
3. изучение апоптоза плаценты при преждевременных и своевременных родах на основании экспрессии генов каспазы-3, -8 и XIAP.

4.1.1. Обсуждение результатов изучения полиморфизма генов цитокинов

Роль провоспалительных цитокинов в генезе преждевременных родов уже не вызывает сомнений. Многочисленные исследования показали, что при ПР обнаруживается повышенная концентрация провоспалительных цитокинов в околоплодных водах, плаценте, миометрии, пуповинной крови [28-32; 41; 42].

Однако, не до конца понятна причина повышенной выработки провоспалительных цитокинов при спонтанных ПР, когда исключен инфекционный фактор развития ПР. Одна из вероятных причин – это полиморфизм генов цитокинов. В настоящее время проводится большое количество исследований полиморфизмов генов цитокинов и их вклад в развитие различных заболеваний и патологий [34-42].

Поскольку цитокины являются полипептидами, то их синтез всегда начинается с транскрипции гена [33]. В настоящее время известно о большом числе возможных полиморфизмов генов цитокинов, большинство из которых являются однонуклеотидными (англ. single nucleotide polymorphism, SNP). Для многих цитокинов выявлено от одного до несколько полиморфизмов их генов и доказана их роль в генезе таких заболеваний как ревматоидный артрит, бронхиальная астма,

болезнь Крона, рассеянный склероз, приобретенные пороки сердца, хронический периодонтит, гнойный риносинусит, саркоидоз и идиопатический лёгочный фиброз, аденоидит и др. [163-169]. Кроме того, изучено влияние некоторых полиморфизмов на эффект от проводимой терапии данных заболеваний. Так, например, доказано, что полиморфизм гена *TNF-α* -308G/A не только способствует таким заболеваниям как болезнь Крона, язвенный колит, ревматоидный артрит, гепатиты, но и обуславливает худший ответ на проводимую терапию при данных патологиях [165].

Несмотря на многообразие изученных полиморфизмов генов цитокинов, исследования продолжаются. И на наш взгляд, интересно установить связь не только между наличием того или иного полиморфизма гена цитокина у пациенток с ПР, сколько выявить сочетания нескольких полиморфизмов у одной пациентки и проследить влияние этих сочетаний на течение беременности, сроки ее прерывания. Именно поэтому для нашего исследования мы выбрали уже широко изученные провоспалительные цитокины *TNF-α*, *IL-1β* и *IL-1Ra* и противовоспалительный *IL-4*, высокая концентрация которых выявляется в маточно-плацентарном комплексе при спонтанных ПР неясной этиологии.

TNF-α является основным провоспалительным цитокином макрофагов, нейтрофилов и естественных киллеров (NK). При нормально протекающей беременности концентрация *TNF-α* в крови обычно очень низка, но при развитии инфекционных процессов, в частности, урогенитальной инфекции, показатель *TNF-α* резко возрастает [156; 157]. Также по данным В.М. Сидельниковой (2010) уровень *TNF-α* в крови женщин с угрожающими ПР в III триместре почти в 9 раз выше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью [30].

У гена *TNF-α* обнаружено несколько полиморфизмов, и многими исследованиями показана их связь с преждевременным прерыванием беременности [34,41]. Нами для исследования был выбран полиморфизм гена *TNF-α* -308 G/A, чья роль в генезе ПР известна. При данном полиморфизме происходит замена нуклеотида гуанина (G) на аденин (A) в регуляторной области гена. И в

результате в популяции встречаются люди с обычным нормальным генотипом GG, а также гетерозиготы (GA) и гомозиготы (AA) с патологическим генотипом.

В нашем исследовании провоспалительный аллель A гена *TNF- α* –308 G/A в 3,8 раза чаще отмечен у женщин с преждевременными родами (18,2% и 4,8%; $p > 0,05$; RR=1,492; 95%CI=1.133-1.966). Однако у нас не было пациенток с гомозиготным генотипом AA. При этом даже присутствие аллеля A в гетерозиготной форме приводило к ранним ПР (до 30 недель). Но отсутствие статистически значимой разницы результатов в группах ПР и группе сравнения не позволяет достоверно считать выявление провоспалительного аллеля A гена *TNF- α* –308 G/A фактором риска экстремально ранних и ранних преждевременных родов.

Для гена *IL-1 β* также известны несколько полиморфизмов –511C/T, –3953 C/T, –3954 C/T. Мы исследовали влияние полиморфизма *IL-1 β* –3953 C/T на течение беременности. При данном полиморфизме в гене этого цитокина происходит замена цитозина (C) на тимин (T) в позиции 3953, обозначается как генетический маркер –3953 C/T. При этом, может быть нормальный генотип CC и патологические CT и TT. При изучении полиморфизма гена *IL-1 β* –3954C/T Y. Yilmaz с соавт. (2012) показал, что среди женщин с ПР преобладал генотип TT гена *IL-1 β* , а также у недоношенных новорожденных значительно чаще встречались полиморфизм TT гена *IL-1 α* и TT гена *IL-1 β* [41]. В нашем исследовании доминантный патологический аллель T гена цитокина *IL-1 β* –3953C/T в 7,6 раза чаще встречался у женщин с ПР (36,4% и 4,8%; $p < 0,05$; RR=1,802, 95%CI=1,420-2,288). При этом его гомозиготная форма TT была выявлено только у пациенток с ПР, и прерывание беременности происходило в экстремально ранние сроки – до 26 недель. Гетерозиготная форма CT в 5,7 раза чаще выявлена у женщин с ПР, чем в группе сравнения (27,3% и 4,8%; $p < 0,01$; RR=1,65; 95%CI=1,298-2,098). При этом ПР у носительниц гетерозиготной формы CT происходили позже, чем у гомозигот TT: 27-32 недели и до 26 недель, соответственно. Во всех случаях различия между основной группой и группой сравнения были статистически значимыми.

Таким образом, наличие провоспалительного аллеля Т гена цитокина *IL-1 β* - 3953C/T можно рассматривать как фактор риска преждевременных родов. При этом наличие генотипа ТТ приводит к очень ранним ПР, а генотипа СТ - к ранним ПР.

Полиморфизм гена антагониста рецептора интерлейкина-1 (*IL-1Ra*) представляет из себя участок с варьирующим числом tandemных повторов VNTR (variable number tandem repeat) и локализован во втором интроне (интрон - участок ДНК, который является частью гена, но не содержит информации о последовательности аминокислот белка). Данный полиморфизм обозначается как *IL-1Ra VNTR (интрон 2)*. Нормальный ген *IL-1Ra* содержит четыре tandemных повтора (4R) и потому нормальный генотип обозначается как 4R/4R. Наиболее значимым из мутантных вариантов является аллель, несущий два повтора (2R), при этом гетерозиготная форма обозначается как 4R/2R, гомозигота - 2R/2R. Остальные варианты этого гена (3, 5 и 6 повторов) встречаются редко [36; 162].

Полученные данные исследования полиморфизма гена *IL-1Ra* в генезе преждевременного прерывания беременности носят противоречивый характер. Так, в исследовании А. Bitner и J. Kalinka (2010) не было выявлено статистически достоверного преобладания провоспалительного аллеля 2R гена у женщин с ПР [316], однако большинство исследований показало, что наличие аллеля 2R достоверно повышает риск преждевременного прерывания беременности [317-319]. В нашем исследовании наличие доминантного провоспалительного аллеля 2R данного гена в 1,5 раза чаще отмечено у женщин с преждевременными родами относительно группы сравнения (63,6% и 42,8%; $p < 0,05$; RR=1,400; 95%CI=1,009-1,943). При этом провоспалительный гомозиготный генотип 2R/2R обнаружен только у женщин с ПР в 9,1% наблюдений ($p < 0,05$; RR=1,714; 95%CI=1,445-2,0). И у всех этих женщин беременность прерывалась до 26 недель гестации. Наличие гетерозиготной формы 2R/4R также несколько чаще выявлена в группе ПР (54,5% и 42,9%; $p > 0,05$), а роды происходили на сроках 27-31 неделя. У большинства пациенток со своевременными родами (57,1%) выявлена гомозиготная форма нормального генотипа 4R/4R.

Таким образом, наличие аллеля 2R гена *IL-1Ra VNTR* (интрон 2) можно считать фактором риска ПР. При этом генотип 2R/2R приводит к очень ранним (до 26 недель), а генотип 2R/4R – к ранним преждевременным родам (27-31 неделя).

Противовоспалительный цитокин *IL-4* выполняет протективную функцию во время беременности, обеспечивая иммунносупрессию матери по отношению к развивающемуся фетоплацентарному комплексу и способствуя прогрессированию беременности. В экстраваскулярном матриксе он активирует переход макрофагов в активные клетки, тем самым блокируя переход макрофагов в активную форму, что приводит к снижению воспалительной реакции [34]. У данного цитокина также известно несколько полиморфизмов: *IL-4 VNTR* (интрон 3), *IL-4 -589 C/T*. Изучаемый нами полиморфизм гена *IL-4* также является участком с варьирующим числом tandemных повторов (VNTR), локализованным в третьем интроне. Он обозначается как *IL-4 VNTR* (интрон 3). Нормальным является генотип 2R\2R с наличием 2 повторов (2R). При полиморфизме может быть 3 повтора (3R) и поэтому гетерозиготная форма патологического генотипа это 3R\2R, а гомозиготная - 3R\3R.

По данным литературы известно, что полиморфизмы гена *IL-4 (VNTR интрон 3; -589 C/T)* увеличивают риск ПР [321]. В исследовании RB Kalish и соавт. (2004) было показано, что полиморфизм гена *IL-4 -589 C/T* ассоциирован с развитием спонтанных преждевременных родов [321]. Наличие гена *IL-4* в гомо- или гетерозиготной форме 2R/2R или 2R/3R позволяет пролонгировать беременность. Поскольку аллель 2R является доминантным, то при данных генотипах происходит выработка противовоспалительного цитокина *IL-4*. А при генотипе 3R/3R не происходит выработки протективного цитокина, что приводит к преждевременному прерыванию беременности [150].

В нашем исследовании при изучении полиморфизма гена цитокина *IL-4 VNTR* (интрон 3), гомозиготная форма 3R/3R статистически значимо в 2,2 раза чаще встречался у женщин с ПР по сравнению с контрольной группой (63,3% и 28,6%%; $p < 0,01$; $RR=1,75$; $95\%CI=1,257-2,435$). При этом ПР происходили на сроке 23-30 недель. Гетерозиготная форма 2R/3R и гомозиготная 2R/2R чаще

встречались у женщин со своевременными родами. Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что выявление генотипа 3R/3R гена *IL-4 VNTR* (интрон 3) является достоверным фактором риска экстремально ранних и ранних преждевременных родов.

Поскольку в настоящее время найдено и изучено большое число полиморфизмов цитокинов и доказана их роль в генезе различных заболеваний и в том числе ПР, нам показалось интересным изучить сочетание различных полиморфизмов генов цитокинов и влияние этого сочетания на течение беременности и сроки ее прерывания. Наша гипотеза состоит в том, что сочетание неблагоприятных генотипов нескольких провоспалительных цитокинов у одной женщины может приводить к повышенной выработке этих цитокинов и тем самым аккумулировать их эффект. И это, в конечном итоге, может приводить к более раннему прерыванию беременности и худшему ответу на терапию, направленную на пролонгирование беременности.

Нами было обнаружено, что только 18,2% женщин с ПР имели нормальные генотипы по изучаемым цитокинам; в группе своевременных родов таких было в 2,4 раза больше (42,9%). Данное отличие было статистически значимым, что подтвердило наше предположение, что наличие провоспалительных генотипов цитокинов повышает риск развития ПР. Наличие провоспалительного генотипа одного цитокина было выявлено у 31,8% женщин с ПР и у 42,9% женщин со своевременными родами. И поскольку различий выявлено не было, то можно сказать о том, что наличие провоспалительного генотипа одного цитокина достоверно не повышает риск ПР. Сочетание провоспалительных генотипов двух цитокинов было выявлено у 22,7% женщин с ПР, что в 1,6 раз чаще, чем у женщин со своевременными родами. Однако данное различие также не было статистически значимым.

А вот сочетание трех и четырех провоспалительных генотипов цитокинов было диагностировано только у женщин с ПР, и частота их составила 27,3%. При этом у всех них роды происходили до 26 недель.

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что факторами риска спонтанных ПР следует считать наличие полиморфизмов генов цитокина *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2) и *IL-4 VNTR* (интрон 3), поскольку при их наличии риск ПР был достоверно выше. Кроме того, у носительниц гомозиготных форм этих провоспалительных генотипов происходили экстремально ранние ПР (до 26 недель). Сочетание провоспалительных генотипов нескольких цитокинов является неблагоприятным фактором для пролонгирования беременности, так как приводит к повышенной выработке сразу нескольких цитокинов. В нашем исследовании такое сочетание трех и\или четырех провоспалительных генотипов выявлено только у женщин с очень ранними ПР, что подтверждает предположение, что сочетание нескольких провоспалительных генотипов является крайне неблагоприятным фактором для пролонгирования беременности.

Проведение оценки аллельных вариантов генов цитокинов имеет важное прогностическое значение для женщин с преждевременными родами в анамнезе. Выявление генетических особенностей иммунного статуса женщины на этапе предгравидарной подготовки поможет провести своевременную профилактику и лечение угрозы преждевременного прерывания беременности. Понимая, что у данной пациентки есть высокий риск генетически детерминированной повышенной выработки цитокинов во время беременности, имеет смысл задуматься о предупреждении этого и назначении нестероидных противовоспалительных препаратов, в частности аспирина, при установлении фактора маточной беременности. При появлении клинических проявлений угрожающих ПР у данных пациенток в качестве токолитика патогенетически обоснованно будет применение индометацина – нестероидного противовоспалительного препарата, механизм действия которого включает подавление активности циклооксигеназ и тем самым снижение выработки простагландинов и подавление воспалительной реакции.

4.1.2. Обсуждение полученных результатов оценки экспрессии toll-подобных рецепторов

Следующей выдвинутой нами гипотезой была о том, что высокая концентрация цитокинов в МПК может быть связана с активацией toll-подобных рецепторов.

Роль TLRs в запуске ПР при наличии инфекционного фактора известна и доказана. В ряде исследований было показано, что при ПР, связанных с наличием инфекции (урогенитальной, внутриутробной), многократно повышалась экспрессия toll-подобных рецепторов клетками цервикального канала [46,188,322,323]. Кроме того, отмечено повышение экспрессии TLRs в шейке матки непосредственно перед своевременными родами (Макаров 2007). Активация TLRs запускает воспалительный каскад в маточно-плацентарном комплексе: происходит повышение уровня интерлейкинов и *TNF- α* , активный синтез простагландинов, которые в свою очередь вызывают изменения в шейке матки и способствуют началу маточных сокращений.

Задачей нашего исследования было оценить вовлеченность и роль toll-подобных рецепторов в генезе ПР при отсутствии признаков инфекционного процесса и каких-либо иных причин для развития преждевременной родовой деятельности - так называемых спонтанных ПР. Именно поэтому из исследования были исключены женщины с инфекцией мочеполовой системы, а также такими осложнениями беременности, как преэклампсия и ее осложнения, плацентарная недостаточность, предлежание плаценты, сахарный диабет, пороки развития плода, преждевременное излитие околоплодных вод.

Для исследования нами были выбраны 3 подвида toll-подобных рецепторов: TLR2, TLR4 и TLR9. TLR2 и TLR4 – это рецепторы, расположенные на поверхности клеток, которые распознают бактериальные и вирусные компоненты, а также компоненты клеток «хозяина», такие как белки теплового шока, фибриноген, гепарансульфатные фрагменты, гиалуроновая кислота. Их роль в генезе ПР, ассоциированных с инфекцией, хорошо изучена. Из внутриклеточных

toll-подобных рецепторов наиболее изученным является TLR9, исследование экспрессии которого также было включено в наше исследование.

Поскольку нашей задачей было изучение роли toll-подобных рецепторов при угрожающих спонтанных ПР, то на первом этапе нами был произведен тщательный отбор пациенток для исследования и исключение у них инфекционного характера воспаления. На этом этапе из исследования были исключены 72,2% женщин с угрожающими ПР по причине обнаружения у них инфекционного агента в цервикальном канале и во влагалище по данным микробиологического исследования. Полученные данные позволяют говорить о том, что всем пациентками с угрожающими и начавшимися ПР необходимо проводить микробиологическое исследование содержимого цервикального канала, влагалища, а также мочи, для выявления возможных возбудителей и проводить антибактериальную терапию по результатам антибиотикограммы с последующим контрольным исследованием.

Таким образом, в наше исследование были включены только 42 пациентки с клиникой угрожающих спонтанных ПР. Контрольную группу составили 32 женщины с неосложненным течением беременности.

При нормально протекающей беременности экспрессия TLR2 и TLR4 была на одинаковом уровне (48 и 53,2, соответственно). При этом уровень экспрессии TLR9 оказался в 1,6 раза выше, чем экспрессия TLR2 (76,2 и 48; $p > 0,05$) и 1,43 раза выше, чем экспрессия TLR4 (53,2 и 76,2; $p > 0,05$). Однако данные результаты не являются статистически значимыми.

У пациенток со спонтанными угрожающими ПР мы выявили повышение экспрессии TLR2 и TLR4 клетками цервикального канала в сравнении с женщинами с неосложненным течением беременности. Так, экспрессия TLR2 была повышена в 3,65 раза (174,9 и 48,0; $p < 0,05$) и данное повышение было статистически значимым, а экспрессия TLR4 - в 1,33 раза (70,9 и 53,2; $p > 0,05$). При этом отмечено некоторое снижение экспрессии TLR9 (58,7 и 76,2; $p > 0,05$), которое не было статистически достоверным.

Из данных литературы нам известно, что поскольку toll-подобные рецепторы являются компонентами врожденного иммунитета, то повышение их экспрессии происходит при развитии воспалительного процесса. Поэтому в нашем исследовании повышение экспрессии TLRs эпителием цервикального канала расценено нами как проявление воспалительного процесса.

В исследовании О.А.Ганковской (2010) было установлено увеличение экспрессии генов TLR2 и TLR4 клетками цервикального канала у женщин с ПР на фоне урогенитальной инфекции в 40,7 и 2,4 раза в сравнении с группой женщин с физиологически протекающей беременностью [187]. В нашем исследовании мы не увидели такого многократного повышения экспрессии TLR2 и TLR4, однако экспрессия генов данных рецепторов была достоверно выше, чем при неосложненном течении беременности. Также нами выявлено более значительное увеличение экспрессии генов TLR2, чем TLR4. Обнаруженное нами повышение экспрессии генов TLR2 и TLR4 клетками цервикального канала у женщин с угрожающими спонтанными ПР и сопоставление полученных данных с результатами исследований при ПР на фоне инфекции позволяют делать следующее заключение: при спонтанных угрожающих ПР реализуется тот же механизм запуска ПР через активацию toll-подобных рецепторов.

Закономерно возникает вопрос о том, что приводит к активации экспрессии этих рецепторов при спонтанных ПР при исключенном инфекционном факторе в мочеполовой системе. Учитывая, что TLR2, чья экспрессия была значительно повышена при угрожающих спонтанных ПР, является клеточным рецептором и активируется определёнными структурами бактерий, вирусов и грибов, то мы сопоставили полученные данные экспрессии TLRs с анамнезом пациенток.

При анализе анамнестических данных у пациенток с угрожающими спонтанными ПР нами обнаружена более высокая частота перенесенных инфекционных заболеваний. Так, частота таких заболеваний, как хронический пиелонефрит, тонзиллит, цистит, была в 3,3 раза выше, чем у женщин с нормально протекающей беременностью (71,4% и 21,9%; $p < 0,001$). Инфекции,

передающиеся половым путем, также в 2,86 раз отмечены у женщин с угрожающими спонтанными ПР (35,7% и 12,5%; $p < 0,05$). И несмотря на то, что эти инфекции были пролечены, что подтверждено данными последующих микробиологических исследований, возможно, мобилизация иммунной системы в прошлом приводит к ее более быстрой активации при беременности. Именно поэтому при угрожающих спонтанных ПР мы видим не такую высокую экспрессию TLR2 и TLR4, как при наличии инфекции. Однако при этом все равно реализуется процесс ПР.

Лигандами toll-подобных рецепторов могут быть не только компоненты бактерий и вирусов (PAMPs), но и эндогенные молекулы, которые высвобождаются или вырабатываются при повреждении ткани и при воспалении - молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями (DAMPs). К ним относятся белки теплового шока, фибронектин, жирные кислоты, гем, митохондриальная ДНК, АТФ, мочевая кислота, сульфат гепарина и другие [172-176]. И поэтому возможно думать о том, что повышение экспрессии TLRs может происходить в ответ на высвобождение биологически активных веществ, например, в результате апоптоза клеток плаценты. И поэтому следующей выдвинутой нами гипотезой, была гипотеза о том, что триггерным моментом спонтанных ПР может являться преждевременный апоптоз плаценты.

Таким образом, проведенное нами исследование экспрессии TLRs эпителием цервикального канала показало ее повышение у женщин с угрожающими спонтанными ПР. Полученные данные позволяют говорить о том, что спонтанные ПР в своем патогенезе являются воспалительным процессом, запускаемым через активацию TLRs, в частности TLR2 и TLR4. Поэтому в профилактику и терапию угрожающих ПР необходимо включить патогенетические препараты, в частности НПВС (нестероидные противовоспалительные средства). Кроме того, в настоящее время ведутся исследования по использованию антагониста TLR4 для предотвращения и лечения спонтанных ПР [324] и возможно, через некоторое

время это позволит проводить патогенетическую терапию угрожающих спонтанных ПР и снизить их частоту.

Учитывая активацию иммунной системы через TLRs при отсутствии инфекционного агента, следует думать об иных возможных причинах, запускающих процесс воспаления. Так, вероятно, это ранее перенесенные и пролеченные инфекции, которые мобилизуют и активируют иммунную систему при беременности. Кроме того, возможно думать о мобилизации иммунной системы посредством DAMPs – молекулярными фрагментами, ассоциированными с повреждениями тканей. Эти фрагменты могут высвобождаться, например, при гибели клеток при апоптозе. И поэтому следующей выдвинутой нами гипотезой, была гипотеза о том, что триггерным моментом спонтанных ПР может являться преждевременный апоптоз плаценты.

4.1.3. Обсуждение результатов изучения апоптоза в плаценте

Апоптоз является одним из механизмов клеточной гибели. Он происходит при различных патологических состояниях и приводит к гибели клеток, выживание которых нежелательно для организма, а также при старении [197,198].

Апоптоз можно условно разделить на три фазы: сигнальную (индукторную), эффекторную и деградационную (фаза экзекуции или деструкции) [205]. Процесс апоптоза начинается с активации инициаторных каспаз. Каспазы (англ. caspase; сокр. от англ. cysteine-dependent aspartate specific protease) — это протеолитические ферменты, относящиеся к семейству цистеиновых протеаз. Каспазы присутствуют в клетке в неактивном состоянии в виде проферментов и активируются в процессе апоптоза. Существуют инициаторные (каспазы-2,-8,-9 и -10) и эффекторные (каспазы-3,-5 и -7) каспазы. Первые отвечают за начало апоптоза, вторые же регулируют расщепление клеточных компонентов. Активированная каспаза-8 способствует началу работы главной эффекторной каспазы-3. Оба пути апоптоза, и внешний и внутренний, сходятся на активации главной эффекторной каспазы-3, которая в свою очередь, катализирует расщепление основных клеточных белков и

конденсацию хроматина. Каспаза-3 также активирует ферменты ДНКазы, которые вызывают фрагментацию ДНК [205].

Активация каспаз приводит к необратимым последствиям, поэтому их активность тщательно регулируется с участием ингибиторов белков апоптоза (inhibitors of apoptosis proteins, IAPs): кодируемый X-хромосомой IAP (XIAP) и клеточные ингибиторы апоптозных белков (cellular inhibitors of apoptosis protein; cIAP1,2). Эти белки ингибируют каспазы -3, -7, -9 [205,206].

Апоптоз присутствует по всех тканях, включая плаценту. Его значение изучено при таких физиологических процессах как инвазия трофобласта, ремоделирование спиральных артерий. В настоящее время известно об активном процессе апоптоза в трофобласте и плаценте при самопроизвольных выкидышах, преэклампсии, плацентарной недостаточности, при преждевременном излитии околоплодных вод. Известно, что процессы апоптоза ускоряются при наличии воспалительного процесса, в том числе при преждевременных родах, вызванных инфекцией [198-204].

Нами было выдвинуто предположение, что при преждевременных родах происходит преждевременный апоптоз плаценты. В результате гибели клеток плаценты происходит высвобождение различных клеточных фрагментов (DAMPs), которые в свою очередь являются лигандами для toll-подобных рецепторов, активируют их и запускают процесс преждевременной родовой деятельности.

Целью нашего исследования явилось изучение сигнальных путей апоптоза в клетках плаценты во время беременности (группа своевременных оперативных родов) и в исходе своевременных родов (группа своевременных вагинальных родов), в начале (группа преждевременных оперативных родов) и в исходе спонтанных ПР неизвестной этиологии (группа преждевременных вагинальных родов).

Мы изучали экспрессию генов инициаторной каспазы-8, эффекторной каспазы-3 и экспрессию гена ингибитора апоптоза XIAP. Наш выбор был сделан

именно в пользу инициаторной каспазы-8 потому, что мы предполагали, что апоптоз в плаценте может быть запущен через *TNF- α* или Fas/Fas лиганд, так как ранее было доказано, что при спонтанных ПР обнаруживается высокая концентрация *TNF- α* в маточно-плацентарном комплексе и в плаценте, в частности. Каспаза-3 была выбрана для исследования, потому что она является основной эффекторной каспазой для обоих путей апоптоза (внутреннего и внешнего), а XIAP является универсальным ингибитором апоптоза на уровне каспазы-3.

Полученные нами результаты показали, что во время беременности (время активного функционирования плаценты) экспрессия генов каспаз (и инициаторной и эффекторной) находится на низком уровне и при этом преобладает экспрессия генов ингибитора апоптоза XIAP. Такое соотношение экспрессий можно объяснить тем, что плацента во время беременности активно функционирует, и апоптоз в ней находится на низком уровне и активно контролируется и подавляется ингибиторами.

В начале ПР нами отмечена статистически значимая повышенная экспрессия и инициаторной каспазы-8 в 10,7 раза (1728 и 161; $p < 0,01$) и эффекторной каспазы-3 в 2,5 раза (650 и 261; $p < 0,01$) в сравнении с экспрессией во время беременности. То есть мы видим активацию процесса апоптоза в начале ПР.

При этом ингибитор апоптоза XIAP «пытается» подавить этот преждевременно начавшийся процесс активной гибели клеток плаценты. Об этом свидетельствует статистически значимое увеличение экспрессии ингибитора апоптоза XIAP в сравнении с экспрессией во время беременности (328 и 1000; $p < 0,01$). То есть, происходит компенсаторное повышение экспрессии ингибитора апоптоза и, возможно, это механизм предотвращения ПР. Однако, ингибитору XIAP не хватает мощности, и он не может подавить активность каспазы и процесс апоптоза продолжается. Хотя и в конце ПР экспрессия XIAP остается выше, чем в исходе своевременных родов. Это позволяет сделать вывод о том, что до самого конца преждевременных родов ингибитор «старается» подавить преждевременный апоптоз в плаценте.

В конце ПР экспрессия инициаторной каспазы-8 возвращается к низкому уровню, сопоставимому с ее экспрессией во время беременности (219 и 161; $p > 0,05$). А уровень экспрессии эффекторной каспазы-3 остается на том же высоком уровне, что и в начале ПР (568 и 650; $p > 0,05$). Однако в исходе ПР экспрессия каспазы-3 все же ниже, чем при своевременных родах (568 и 1050; $p < 0,05$). И это сопоставимо с динамикой экспрессии генов XIAP, экспрессия которого высокая при ПР и очень низка в исходе своевременных родов.

Таким образом, при начале преждевременной РД мы видим активизацию процессов апоптоза в плаценте, что, вероятно, может быть инициаторным моментом в развитии ПР. При этом ингибитор XIAP «пытается» подавить преждевременно запущенный процесс апоптоза при недоношенной беременности, что проявляется его высокой экспрессией. Изменения экспрессии XIAP при ПР может говорить о попытке скорректировать патологический процесс в клетках плаценты при ПР, однако безуспешно. В пользу данной гипотезы говорит и то, что при своевременных родах экспрессия XIAP не только не возрастает, но и даже снижается. При своевременных родах экспрессионный профиль каспаз выглядит несколько иначе: в исходе родов экспрессия инициаторной каспазы-8 сопоставима с уровнем во время беременности, отмечается увеличение экспрессии эффекторной каспазы-3 в 4 раза в сравнении с беременностью, при этом экспрессия XIAP в 2,4 раза ниже, чем во время беременности. Таким образом, при своевременных родах в плаценте наблюдается активный апоптоз, при низкой активности системы его ингибирования. Поскольку своевременные роды процесс физиологический, а плацента в их исходе перестает функционировать, то мы наблюдаем активную запрограммированную гибель ее клеток, и при этом ингибиторы апоптоза не пытаются затормозить этот физиологически своевременный процесс.

Таким образом, проведенные исследования позволили нами представить патогенез спонтанных ПР следующим образом, представленном на Рисунке 21.

В результате преждевременной активации апоптоза плаценты происходит гибель и распад ее клеток, и высвобождение различных клеточных структур -

DAMPs (damage-associated molecular patterns). DAMPs распознаются toll-подобными рецепторами, и через активацию последних происходит повышение выработки провоспалительных цитокинов в маточно-плацентарном комплексе. Кроме того, повышенная продукция провоспалительных цитокинов может быть генетически детерминирована и связана с наличием у женщин полиморфизма генов провоспалительных цитокинов. В результате в маточно-плацентарном комплексе происходит активная выработка цитокинов и реализуется так называемое «стерильное» воспаление. Цитокины активируют экспрессию матриксных металлопротеиназ, в результате чего происходит размягчение шейки матки. Также цитокины, индуцируя экспрессию циклооксигеназы-2 (COX-2), усиливают выработку простагландинов, в том числе E и F2 α , происходят динамические изменения шейки матки и появление маточных сокращений – происходят преждевременные роды.

Понимание патогенеза спонтанных ПР позволит нам патогенетически обоснованно подходить к профилактике ПР и выбору токолитических препаратов. Кроме того, молекулярно-генетическое изучение звеньев патогенеза ПР способствует поиску новых лекарственных средств для предотвращения и лечения ПР.

4.2. Обсуждение результатов ретроспективного исследования

4.2.1. Обсуждение перинатальных исходов преждевременных родов и мер по их улучшению

В настоящее время в мире отсутствует единый подход к тактике родоразрешения при недоношенной беременности. Большинство акушеров-гинекологов склоняется к ведению преждевременных родов через естественные родовые пути. Однако противники такой тактики обращают внимание на неблагоприятные перинатальные исходы ПР.

Одна из основных проблем недоношенных детей — это внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК). Поскольку кости черепа у недоношенных мягкие, они не в полной мере способны защитить головной мозг ребенка от травматизации при прохождении через родовые пути матери. Поэтому риск ВЖК у недоношенных при рождении через естественные родовые пути выше, чем у доношенных детей.

Также одним из серьезных повреждающих факторов для недоношенных детей является гипоксия. Воздействие гипоксии приводит к комплексу микроциркуляторных и метаболических расстройств ЦНС, которые на тканевом уровне вызывают два основных повреждения: геморрагический инфаркт и развитие ишемии с последующей лейкомаляцией вещества мозга.

Геморрагическому (особенно) и ишемическому поражению вещества мозга способствует искусственная вентиляция легких (ИВЛ) и связанная с ней гипоперфузия мозга на фоне падения напряжения углекислого газа, недостаточная коррекция объема циркулирующей крови и др. Наиболее часто геморрагический инфаркт и ишемия развиваются у плодов и новорожденных в области перивентрикулярных сплетений. Кровоизлияние может происходить также в боковые желудочки мозга и в субарахноидальное пространство [313].

В последние годы расшифрованы тонкие механизмы патогенеза гипоксически-ишемических поражений мозга: установлена роль выброса свободно-радикальных веществ и нарушений перекисного окисления липидов в повреждении мембран нервных клеток, роль блокады кальциевых каналов, страдания энергетических субклеточных структур — в первую очередь митохондрий. Установлено, что повреждающее воздействие различных факторов может реализоваться как в форме быстрой гибели клетки (нейрональный некроз), так и в форме отсроченной, замедленной гибели — апоптоз [313].

При рождении через естественные родовые пути недоношенные новорожденные испытывают так называемый «родовой стресс», что способствует выработке сурфактанта незрелыми легкими и снижает частоту ИВЛ в

постнатальном периоде за счет увеличения использования щадящих режимов вентиляции, таких как СРАР [312].

Таким образом, для незрелого головного мозга недоношенного ребенка оптимально родоразрешение путем операции КС с мягким бережным извлечением в целом плодном пузыре [256]. С другой стороны рождение через естественные родовые пути способствует выработке эндогенного сурфактанта, снижает частоту РДС и необходимости в ИВЛ и за счет этого снижает частоту ВЖК у недоношенных детей.

В тоже время кесарево сечение, как любое оперативное вмешательство, это повышенный риск материнских гнойно-септических и тромбоэмболических осложнений. [264; 265]. Кроме того, выполнение КС при недоношенном сроке беременности в несформированном нижнем сегменте матки повышает риск кровотечения и формирования в последующем несостоятельного рубца на матке, предлежания и вставания плаценты при последующей беременности [266; 267].

Поскольку в мире отсутствует единая концепция ведения ПР, задачей нашего ретроспективного исследования явилось определение оптимальной тактики родоразрешения при преждевременных родах на основании анализа перинатальных исходов ПР в зависимости от срока и метода родоразрешения.

Нами были проанализированы 764 истории одноплодных беременностей и родов, закончившихся преждевременными родами на сроке 22-36 недель и 6 дней в родильном доме ГKB имени С.С.Юдина (бывшая ГKB №7) г. Москвы в период 2012-2015 гг.

При изучении анамнеза женщин с ПР было выявлено, что 49,5% из них имели отягощенный соматический анамнез, при этом у каждой четвертой пациентки (24,9%) в анамнезе были заболевания инфекционной природы (пиелонефрит, цистит, тонзиллит, бронхит и др.). Кроме того, 18,6% женщин с ПР не состояли на учете в женской консультации. Акушерско-гинекологический анамнез был отягощен почти у 70% женщин: у каждой третьей наличием искусственных аборт

(34,3%), у 13,4% - самопроизвольных аборт, у 25,9% - инфекцией половой системы. Многие исследователи считают, что одним из основных факторов риска преждевременных родов являются ПР в анамнезе, что увеличивает вероятность их повторения [76-79]. Однако по результатам нашего исследования лишь у 3,1% женщин в анамнезе были ПР. Среди осложнений настоящей беременности на первом месте также была инфекция шейки матки, которая была выявлена у 39,4% женщин по данным микробиологического исследования. Кроме того, при отборе пациенток проспективного исследования 72,2% женщин с ПР были исключены из исследования по причине наличия инфекции мочеполовой системы.

Таким образом, на основании проведённого исследования можно говорить о том, что одним из основных факторов риска ПР является инфекция, что требует проведения предгравидарной подготовки пациенток, включающей выявление и санацию очагов острой и хронической инфекции, особенно инфекции мочеполовой системы, проведение микробиологического исследования содержимого цервикального канала, влагалища и мочи, ее лечение с последующим контролем проведенной терапии.

При анализе особенностей течения беременности у женщин с ПР обращала на себя внимание крайне низкая частота ИЦН по данным ретроспективного исследования – лишь 2,6%. Возможно, это было следствием того, что почти каждая пятая женщина не состояла на учёте ЖК. И, вероятно, это привело затем к ПР. Низкая частота ИЦН по данным ретроспективного исследования является тем самым резервом для снижения частоты ПР. Возможно говорить о необходимости проведения цервикометрии всем пациенткам при проведении УЗИ на сроках до 32 недель беременности с целью диагностики ИЦН и ее последующей коррекцией.

Анализ основных причин ПР показал, что тяжелые осложнения беременности (33,5%; n=256), инфекция (32,5%; n=248) и преждевременное спонтанное развитие регулярной родовой деятельности при отсутствии инфекционного фактора (34,0%; n=260) с одинаковой частотой являлись пусковым моментом ПР. Таким образом, две трети причин ПР являются «управляемыми».

Своевременное выявление и коррекция экстрагенитальной патологии и предотвращение таких осложнений беременности, как преэклампсия, плацентарная недостаточность, может быть одной из мер по предупреждению ПР.

В каждом третьем случае ПР возникают по причине инфекции половой системы. Поэтому адекватная предгравидарная подготовка беременной, включающая санацию очагов хронической инфекции, проведение микробиологического исследования содержимого цервикального канала, влагалища и мочи, выявление и лечение инфекции с последующим контролем, является тем самым возможным резервом для снижения частоты ПР.

Перинатальные исходы ПР мы посчитали нужным анализировать, разделив их в зависимости от гестационного возраста, поскольку совершенно некорректно сравнивать исходы в 22-23 и в 36 недель.

Как и ожидалось, самые тяжелые перинатальные исходы наблюдаются на сроках до 28 недель: все дети с экстремально низкой или очень низкой массой тела, у всех детей дыхательные нарушения, требующие проведения ИВЛ, у всех церебральная ишемия и у 84,6% внутрижелудочковые кровоизлияния.

С какими сложностями сталкиваются врачи и родители при рождении детей с ЭНМТ и ОНМТ?

Одной из первых проблем у глубоко недоношенных детей является развитие дыхательных нарушений. По данным исследований И.В. Виноградовой и соавт. (2014) у детей с ОНМТ первый вдох отмечен в конце первой минуты жизни, а у детей с ЭНМТ появление самостоятельного дыхания происходит на 3-4 минуте [325]. Отсутствие дыхания к 5й минуте жизни наблюдается у 20% детей с ЭНМТ. В последующем у них отмечается нерегулярное дыхание, его неравномерность, что может быть связано с незрелостью и невысокой возбудимостью дыхательного центра, а также, вероятно, с затрудненным проведением импульса по волокнам блуждающего нерва. Воздействие гипоксии приводит к комплексу микроциркуляторных и метаболических расстройств, которые на тканевом уровне

вызывают два основных повреждения: геморрагический инфаркт и развитие ишемии с последующей лейкомаляцией вещества мозга. Кроме того, введение гиперосмолярных растворов, искусственная вентиляция легких (ИВЛ), недостаточная коррекция объема циркулирующей крови являются причинами ВЖК у недоношенных [313].

Выживаемость новорожденных с ЭНМТ зависит от гестационного возраста и колеблется от 6 % при 22 неделях до 92 % при 28 неделях [55]. Результаты различных исследований показали увеличение выживаемости недоношенных детей с ЭНМТ на протяжении 1980-х и в начале 1990-х годов. Однако данные последнего десятилетия говорят о замедлении роста выживаемости или отсутствии динамики показателей, начиная с конца 1990-х [326; 327]. Наиболее значимые факторы, которые определяют благоприятный исход – это женский пол ребенка, антенатальное применение кортикостероидов, одноплодная беременность, вес при рождении (увеличение с шагом в 100 г увеличивает шансы благоприятного исхода) [327; 328]. Смертность детей с ЭНМТ при использовании современных технологий интенсивной терапии (например, использование сурфактанта) снизилась, однако количество выживших младенцев с тяжелыми последствиями не уменьшается. Согласно данным литературы у 80% детей, рожденных до 26 недель гестации, к 6 годам встречаются различные нарушения развития, 92% из них к 11 годам имеют отставание в психомоторном развитии, 71% испытывают сложности с обучением, у 40% ДЦП [70].

Таким образом, одной из первоочередных задач врачей при угрожающих ПР является пролонгирование беременности до более благоприятных сроков. А этим минимальным сроком является 28 недель беременности. Согласно нашему исследованию, начиная со срока гестации 28 недель, отмечается значительное улучшение перинатальных исходов ПР.

При сравнении исходов до 28 недель и в 28-30 недель 6 дней нами было отмечено снижение перинатальной смертности в 11,5 раз (с 432,4‰ до 37,5‰)! Частота ЭНМТ была в 33 раза ниже (59,5% и 1,2%; RR=5,994; 95%CI 3,739-9,610;

$p < 0,05$), а ВЖК – в 7 раз ниже после 28 недель (43,24% и 6,25%; $RR=5,994$; 95%CI 3,739-9,610; $p < 0,05$). Гипоксически-ишемические поражения ЦНС средней и тяжелой степени почти в 3 раза реже отмечены у новорожденных после 28 недель беременности (100% и 35%; $p < 0,05$), РДС – в 1,36 раза (100% и 73,5%; $p > 0,05$).

Не стоит забывать и об экономической составляющей выхаживания недоношенных детей. Согласно данным Института Медицины США, стоимость медицинского обслуживания доношенного ребенка в течение первого года жизни составляет 3325\$, в то время как для недоношенного в 10 раз больше - 32325\$. Средняя продолжительность пребывания в стационаре недоношенного новорожденного составляет 13 дней, в сравнении с 1,5 днями доношенного ребенка [1]. В нашем исследовании средняя продолжительность пребывания в стационаре детей, рожденных до 26 недели, составила 88,9 дней, после 28 недели снизилась в 3 раза до 30 дней. После 32 недель отмечается снижение еще в 2 раза до 16 дней.

Полученные нами результаты лишь подтвердили закономерный вывод: чем выше гестационный возраст новорождённого, тем лучше перинатальные исходы: ниже частота РДС и использования ИВЛ, ниже риск ВЖК и лучше отдаленные исходы для ребенка. Поэтому одной из задач современного акушерства должно быть максимальное пролонгирование беременности при угрозе ПР с целью увеличения гестационного возраста новорождённого, снижение частоты рождения детей с экстремально низкой и очень низкой массой тела и тем самым улучшение перинатальных и отдаленных исходов ПР.

В трети случаев ПР — это преждевременное развитие родовой деятельности. И поскольку токолиз является той мерой, которая может предотвратить ПР, то закономерно возникает вопрос: оправдано ли применение токолиза лишь в течение 48 часов и лишь в целях транспортировки пациентки до перинатального стационара 3 уровня? Оценивая перинатальные исходы до и после 28 недель беременности можно с уверенностью говорить о том, что после 28 недель и перинатальные и отдаленные исходы ПР благоприятнее, чем до 28 недель. Поэтому имеет смысл

задуматься о более продолжительном использовании токолиза, особенно на сроках до 28 недель гестации, для предотвращения экстремально ранних и ранних ПР.

В разных странах мира подходы к токолизу очень серьезно отличаются. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) не рекомендует проводить токолиз, ограничиваясь профилактикой РДС плода, поскольку ни одна группа препаратов (β -адреномиметики, блокаторы кальциевых каналов, блокаторы окситоциновых рецепторов, ингибиторы циклооксигеназы) не показала доказанного эффекта в сравнении с плацебо [19]. В США также токолиз не рекомендован [219]. Ведущий клинический ресурс UpToDate, основанный на базе доказательной медицины, считает, что наиболее эффективным токолитиком является индометацин [22].

В настоящее время в России и в Европе для токолиза рекомендуют использование следующих препаратов:

- β 2-адреномиметики (гексопреналин)
- блокаторы рецепторов окситоцина (атозибан)
- блокаторы кальциевых каналов (нифедипин)
- Магния сульфат
- Индометацин
- Донаторы NO (нитроглицерин)

Выбор практических врачей чаще всего склоняется к атозибану, гексопреналину и сульфату магния. Однако принимая во внимание тот факт, что за последние годы не происходит снижения частоты ПР, следует задуматься, почему токолиз не всегда оказывается эффективным.

Препараты, рекомендованные для токолиза в большинстве своем действуют уже на конечное звено патогенеза ПР – непосредственно на матку через β -адренорецепторы (гексопреналин), окситоциновые рецепторы (атозибан), Ca^{2+} -каналы (нифедипин, сульфат магния).

Проведенное нами исследование звеньев патогенеза ПР показало, что при спонтанных ПР, несмотря на исключение инфекционного фактора, в маточно-плацентарном комплексе реализуется процесс «стерильного» воспаления. В связи с этим мы считаем, что патогенетически обоснованным токолитиком при спонтанных преждевременных родах является индометацин. Индометацин воздействует на более раннее звено патогенеза ПР, подавляет синтез циклооксигеназ и препятствует выработке простагландинов.

Поэтому детальное понимание всех звеньев патогенеза ПР, возможно, поможет поиску новых препаратов, действующих заблаговременно, до появления активных маточных сокращений, что сделает токолиз более эффективным.

4.2.2. Обсуждение тактики родоразрешения при преждевременных родах

Одним из основных дискуссионных вопросов ПР является тактика родоразрешения. Несмотря на большое количество исследований, посвящённых этому вопросу, в настоящее время нет единого мнения какой способ рождения лучше для недоношенного ребенка. Сторонники родов через естественные родовые пути при ПР говорят о том, что эти дети, имеют меньше дыхательных проблем, реже нуждаются в проведении ИВЛ и за счет этого у них также снижается частота ВЖК [261; 262].

Те, кто выступает за оперативное родоразрешение путем кесарева сечения при ПР говорят, что данный метод является более бережным [266; 267], а использование тактики извлечения недоношенного ребенка в целом плодном пузыре снижает риск травматизации головного мозга недоношенного ребенка и риск ВЖК [256].

Пытаясь ответить на вопрос об оптимальном методе родоразрешения при ПР, из группы ретроспективного исследования (764 истории) нами были исключены ПР до 28 недель, поскольку на этих сроках КС в нашем родильном отделении

выполнялось только в связи с тяжелым состоянием матери и\или невозможностью родов через естественные родовые пути (например, кровотечение при предлежании плаценты, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, тяжелая преэклампсия и др.). Кроме того, мы исключили все случаи тяжелой соматической патологии и таких осложнений беременности как ПЭ, плацентарная недостаточность, кровотечение, инфекция.

Таким образом, для анализа перинатальных исходов ПР в зависимости от метода родоразрешения было отобрано 586 историй беременности и родов. Из них 53,9% родов было проведено через естественные родовые пути, а 46,1% - закончились путем операции кесарева сечения. Следует сразу отметить, что в группе исследуемых не было ни одного случая перинатальной смертности, что, вероятно, связано с исключением из исследования детей с ЭНМТ, а также случаев осложненного течения беременности.

При сравнении общих перинатальных исходов на сроках 28-36 недель и 6 дней мы не увидели различий в исходах в зависимости от выбранной тактики родоразрешения. После чего мы также разделили перинатальные исходы на группы: 28-30 недель 6 дней, 31-33 недели и 6 дней и 34 -36 недель и 6 дней. И сравнение проводились по частоте РДС, необходимости и виде респираторной поддержки (ИВЛ или СРАР), частоте церебральной ишемии и ВЖК, а также сравнивали продолжительность пребывания недоношенного новорожденного в ОРИТе.

На сроках 34-36 недель 6 дней частота церебральной ишемии и ВЖК не отличалась в зависимости от метода родоразрешения. Однако частота РДС и использования СРАР была статистически значимо в 3,7 раз выше у детей, рожденных путем операции КС (12,79% и 3,45%; $p < 0,01$; RR 3,709; 95%CI 1,542-8,923). Данные результаты позволяют говорить о том, что оптимальным методом родоразрешения при ПР на сроках 34-36 недель 6 дней являются роды через естественные родовые пути.

На сроках 31-33 недели и 6 дней наблюдалась схожая картина: в случае родов через естественные родовые пути частота РДС (54,2% и 23,5%; $p < 0,05$) и СРАР (54,2% и 23,5%; $p < 0,05$) была достоверно ниже. Частота церебральной ишемии была одинакова в обеих группах (82,4% и 83,3%; $p > 0,05$). А частота ВЖК хотя и была в 2 раза выше в случае родов через естественные родовые пути (4,4% и 2,1%; $p > 0,05$), однако данное различие было статистически не значимо. Поэтому мы можем сказать о том, что на сроках 31-33 недели и 6 дней оптимальной тактикой родоразрешения также являются роды через естественные родовые пути.

А вот на сроках 28-30 недель 6 дней мы увидели следующее: у всех новорожденных независимо от метода родоразрешения был диагностирован РДС. 42% детей нуждались в проведении ИВЛ, остальные - в респираторной терапии СРАР. У всех детей отмечена церебральная ишемия, а вот частота ВЖК была в 2,3 раза выше у детей, рожденных через естественные родовые пути (14,9% и 6%; $p > 0,05$), и достигала почти 15%. И принимая во внимание то, что по данным литературы, дети, которые перенесли ВЖК в младенческом возрасте, в последствии нуждаются в специализированном обучении (76% детей), имеют трудности с чтением, письмом и математикой (47%), а в подростковом возрасте составляют группу риска психиатрических проблем (депрессия, маниакально-депрессивный психоз и др.) [70], мы считаем, что оптимальной тактикой родоразрешения при сроках гестации 28-30 недель 6 дней является родоразрешение путем операции кесарева сечения.

Таким образом, ретроспективное исследование ПР позволило нам сделать следующие заключения:

1. для профилактики ПР всем пациенткам необходима предгравидарная подготовка пациенток, включающая санацию очагов хронической инфекции, выявление инфекции шейки матки, влагалища, мочи, ее лечение с последующим контролем проведенной терапии;

2. своевременное выявление ИЦН (цервикометрия всем пациентками при проведении УЗИ до 28 недель беременности) и ее коррекция также может привести к снижению частоты ПР.;
3. перинатальные исходы экстремально ранних (до 28 недель) и ранних ПР (28-30 недель 6 дней) имеют существенные достоверные отличия. Поэтому пролонгирование беременности до срока >28 недель позволят значительно снизить частоту перинатальной заболеваемости и смертности;
4. оптимальным способом родоразрешения при ПР на сроках 28-30 недель 6 дней является кесарево сечение, а до 28 и после 31 недели – роды через естественные родовые пути.

4.3. Обсуждение результатов внедрения разработанного алгоритма ведения беременности и родов у женщин группы риска преждевременных родов

На основании проведенного нами исследования патогенеза ПР и оптимальной тактики родоразрешения при ПР, нами был разработан алгоритм подготовки и ведения беременности у пациенток с ПР в анамнезе (Рисунок 33).



Рисунок 33 - Алгоритм предгравидарной подготовки и ведения беременности и родов у женщин с ПР в анамнезе

Предгравидарный этап включал санацию очагов хронической инфекции у всех пациенток, а также проведение микробиологического исследования содержимого цервикального канала, мочи и микроскопическое исследование влагалищного мазка. Это связано с тем, что в нашем исследовании у 72,2% женщин с клиникой ПР была выявлена инфекция мочеполовой системы. При выявлении возбудителей проводилась антибактериальная терапия согласно чувствительности с последующим контрольным бактериологическим исследованием.

Поскольку ведущим фактором прерывания беременности является повышенная выработка провоспалительных цитокинов и простагландинов в МПК, у женщин группы риска ПР с целью профилактики ПР мы использовали 100 мг аспирина ежедневно с 7-10 недель беременности и рекомендовали его прием до 37

недель. В мире был проведен ряд исследований эффективности назначения аспирина для профилактики ПР, которые показали, что использование аспирина в дозе 50-150 мг в сроках 7-37 недель достоверно снижают риск ПР [303 - 306]. У всех пациенток получено добровольное информированное согласие на использование данного препарата в указанные сроки и дозе.

Поскольку проведенное нами исследование показало, что носительницы полиморфизмов генов цитокинов являются группой риска экстремально ранних и ранних ПР, то этим пациенткам для профилактики ПР мы назначали прогестерон интравагинально с момента установления факта маточной беременности.

Для динамического контроля шейки матки цервикометрию проводили каждые 2 недели с 13 до 28 недель. При укорочении шейки матки менее 25 мм мы назначали препараты прогестерона вагинально, который рекомендовали продолжить до 37 недель беременности. При появлении признаков угрожающих ПР мы проводили профилактику РДС плода дексаметазоном (суммарная доза дексаметазона 24 мг) в сроках 24-34 недели гестации.

При появлении регулярных маточных сокращений пациентку госпитализировали в родильное отделение ГKB имени С.С.Юдина и начинали токолиз. Учитывая данные о том, что спонтанные ПР являются результатом «стерильного» воспаления в маточно-плацентарном комплексе, препаратом выбора для токолиза был индометацин. Индометацин - это единственный препарат из рекомендованных для токолиза, который действует на более раннее звено патогенеза, чем остальные токолитики, препятствуя выработке цитокинов и тем самым подавляя воспалительный процесс в маточно-плацентарном комплексе. Токолиз проводили в течение 48 часов. Одновременно с назначением индометацина использовали сульфат магния в качестве нейропротектора. Антибактериальную профилактику пациенткам с ПР мы не проводили, принимая во внимание отсутствие инфекции в мочеполовой системе по данным предгравидарного обследования.

У 90,7% женщин с ПР в анамнезе данный алгоритм предгравидарной подготовки и ведения беременности оказался эффективным. У этих пациенток беременность завершилась рождением живых здоровых доношенных детей. У 76,6% женщин с ПР в анамнезе при последующей беременности отмечались клинические симптомы угрожающих ПР. Однако применение патогенетически обоснованной терапии позволило купировать симптомы и пролонгировать беременность. В нашем исследовании мы не отмечали ни одного осложнения (ни у беременной, ни у новорожденного) при использовании индометацина в качестве токолитика.

У 2 беременных (4,7%), с клиническими симптомами ПР на сроке гестации 31-32 недели токолиз оказался неэффективен. У них произошли ПР через 7-11 часов от начала токолиза. Еще у 2 пациенток (4,7%) не проводился токолиз по причине срока гестации 34-35 недель. У них проводили только нейропротекцию сульфатом магния.

Анализ неэффективности проведенной терапии показал, что все эти пациентки оказались носительницами 4 изученных нами полиморфизмов генов цитокинов *TNF- α* -308G/A, *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2), *IL-4 VNTR* (интрон 3). Предыдущая беременность закончилась у них ПР на сроках 24-26 недель, при этом перинатальная смертность составила 100%. Несмотря на то, что данная беременность у них также закончилась ПР, в результате примененного нами алгоритма не было случаев экстремально ранних и ранних ПР, а перинатальная смертность снизилась с 100% до 0%.

Ведение беременности и родов у женщин с ПР в анамнезе, согласно предложенному нами алгоритму, позволило снизить частоту ПР в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), при этом сократить частоту экстремально ранних и ранних ПР с 62,8% до 0% ($p < 0,05$). Также удалось сократить перинатальную заболеваемость в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), а перинатальную смертность с 395% до 0 ($p < 0,05$).

ВЫВОДЫ

1. Применение современных высокотехнологичных методов изучения и понимание звеньев патогенеза ПР позволяет снизить частоту ПР, обосновать подход к предгравидарной подготовке женщин группы риска ПР, профилактике и лечению ПР, оптимальной тактике родоразрешения при ПР с целью снижения перинатальной заболеваемости и смертности недоношенных детей.
2. В структуре ПР 45,3% составляют поздние ПР (34-36 недель 6 дней), однако каждые десятые ПР (10,2%) — это экстремально ранние ПР. Перинатальная смертность при ПР составляет 60,21% и зависит от гестационного срока: перинатальная смертность до 26 недель достигает 666,7%; 27-28 недель - 227,3%, 28-30 недель 6 дней – 37,5%, 31-33 недели 6 дней – 33,3%, 34-36 недель 6 дней – 5,78%. Основными причинами ПР являются тяжелые осложнения беременности (33,5%), инфекция (32,5%) и преждевременное спонтанное развитие регулярной родовой деятельности при отсутствии инфекционного фактора (34,0%) – так называемые спонтанные ПР.
3. Основными звеньями патогенеза спонтанных ПР являются преждевременный апоптоз клеток плаценты, активация toll-подобных рецепторов маточно-плацентарного комплекса и повышенная выработка провоспалительных цитокинов по причине полиморфизмов их генов.
4. У пациенток со спонтанными ПР достоверно чаще выявляются патологические провоспалительные полиморфизмы генов цитокинов *TNF- α* -308G/A, *IL-1 β* -3953C/T, *IL-1Ra VNTR* (интрон 2) и *IL-4 VNTR* (интрон 3). Так, аллель А полиморфизма гена *TNF- α* -308G/A в 3,8 раза чаще (18,2% и 4,8%; $p > 0,05$), аллель Т полиморфизма гена *IL-1 β* -3953C/T в 7,6 раза чаще (36,4% и 4,8%; $p < 0,05$), аллель 2R полиморфизма гена *IL-1* (*IL-1Ra VNTR* (интрон 2) в 1,5 раза чаще (63,6% и 42,8%; $p < 0,05$); аллель 3R полиморфизма гена *IL-4 VNTR* (интрон 3) в 2,2 раза чаще (63,6% и 28,6%; $p < 0,01$).

встречались у женщин с преждевременным прерыванием беременности относительно группы сравнения.

5. Факторами риска спонтанных ПР следует считать наличие полиморфизмов генов цитокинов *IL-1 β -3953C/T*, *IL-1Ra VNTR (интрон 2)* и *IL-4 VNTR (интрон 3)*. Кроме того, у носительниц гомозиготных форм их провоспалительных генотипов происходили экстремально ранние ПР (до 26 недель). Сочетание полиморфизмов нескольких цитокинов также является фактором риска экстремально ранних и ранних ПР.
6. У пациенток со спонтанными угрожающими ПР выявлено повышение экспрессии генов TLR2 в 3,65 раза (174,9 и 48,0; $p < 0,05$) и TLR4 в 1,33 раза (70,9 и 53,2; $p > 0,05$) клетками цервикального канала в сравнении с женщинами с неосложненным течением беременности. Это позволяет говорить о том, что активация воспалительного процесса при спонтанных ПР является toll-опосредованным процессом.
7. Установлена высокая активность апоптоза в плаценте при спонтанных ПР. Так, в начале спонтанных ПР отмечено статистически значимое повышение маркеров апоптоза: 10-кратное повышение экспрессии инициаторной каспазы-8 (161 и 1728; $p < 0,01$) и эффекторной каспазы-3 в 2,5 раза (261 и 650; $p < 0,05$) в сравнении с экспрессией во время беременности.
8. При спонтанных ПР также выявлена повышенная экспрессия гена ингибитора апоптоза XIAP - в 3 раза выше, чем во время беременности (1000 и 328; $p < 0,05$), чего не происходит при своевременных родах. Данные изменения следует рассматривать как компенсаторную попытку остановить преждевременно начавшийся процесс гибели клеток плаценты при ПР с целью дальнейшего пролонгирования беременности.
9. Полученные данные подтверждают, что при спонтанных ПР происходит «стерильное» воспаление в маточно-плацентарном комплексе, сопровождающееся повышенными концентрациями провоспалительных цитокинов и простагландинов. Поэтому использование нестероидных противовоспалительных препаратов на этапе предгравидарной подготовки

(аспирин), во время беременности (аспирин) и в качестве токолитика (индометацин) является патогенетически обоснованным.

10. При сравнении перинатальных исходов экстремально ранних (до 28 недель) и ранних ПР (28-30 недель 6 дней) отмечается снижение перинатальной смертности в 11,5 раз (с 432,4‰ до 37,5‰), частоты ЭНМТ в 33 раза ниже (59,5% и 1,2%; $p < 0,05$), ВЖК в 7 раз (43,24% и 6,25%; $p < 0,05$), церебральной ишемии в 2,9 раза (100% и 35%; $p < 0,05$), РДС в 1,36 раза (100% и 73,5%; $p > 0,05$) у новорожденных после 28 недели беременности. Это позволяет говорить том, что пролонгирование беременности до срока >28 недель приводит к значительному улучшению перинатальных исходов ПР.
11. Результаты ретроспективного исследования показали, что у детей, рожденных на сроках 28-30 недель 6 дней через естественные родовые пути, частота ВЖК была в 2,5 раза выше по сравнению с рожденными путем операции кесарева сечения (14,9% и 6%; $p > 0,05$), при одинаковой 100% частоте РДС плода. У детей, рожденных до 28 и после 31 недели беременности, отличий в частоте ВЖК И РДС не было выявлено.
12. Внедрение патогенетически обоснованного подхода к предгравидарной подготовке, профилактике, ведению беременности, выбору токолитического препарата у женщин группы риска ПР позволило снизить частоту преждевременных родов в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), в том числе экстремально ранних и ранних ПР до 0%, перинатальную заболеваемость в 10,8 раз (с 100% до 9,3%; $p < 0,05$), а перинатальную смертность с 395‰ до 0% ($p < 0,05$).

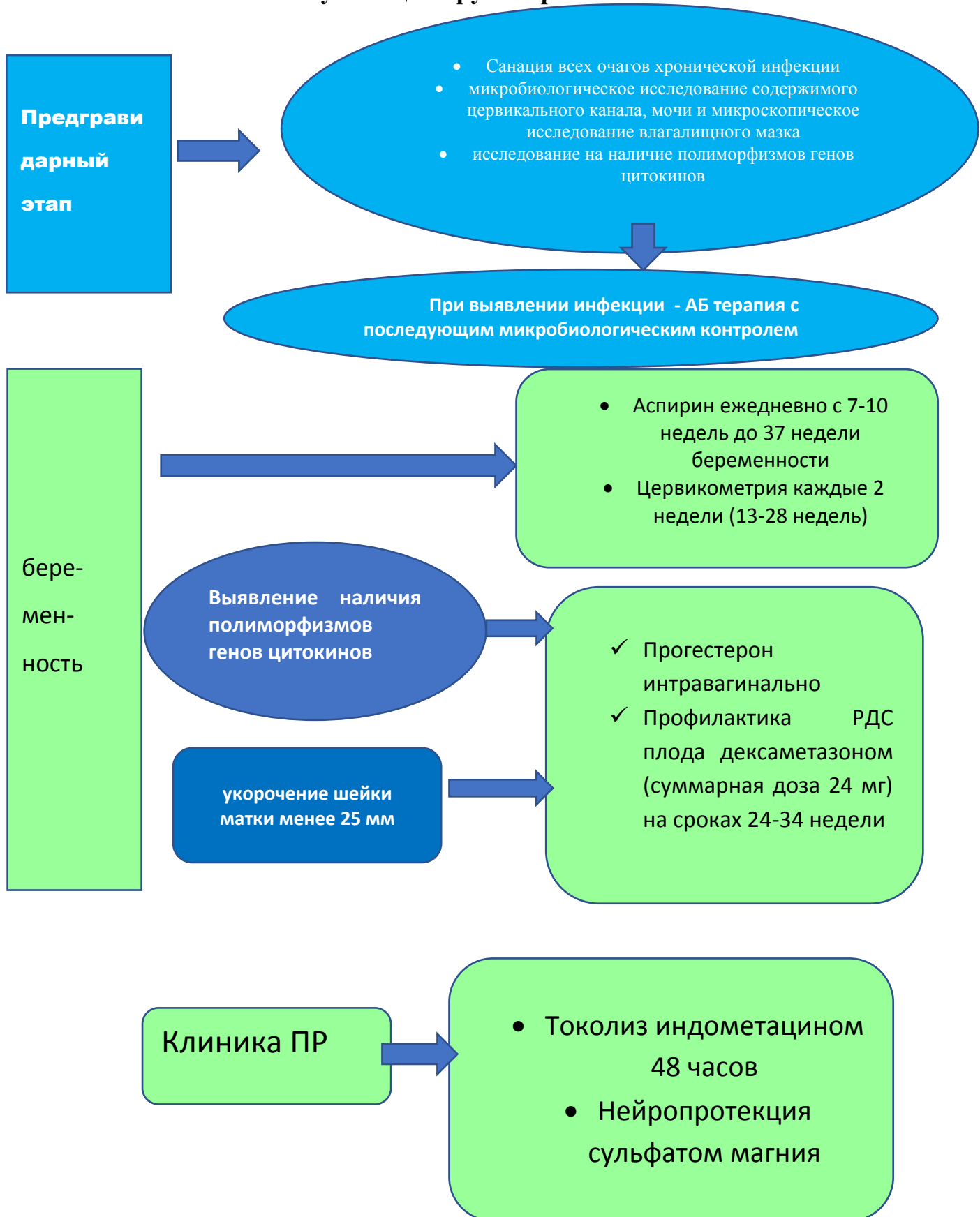
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью снижения частоты ПР, и особенно экстремально ранних и ранних ПР, у женщин группы риска ПР показан комплексный патогенетически обоснованный подход к подготовке к беременности, профилактике ПР с момента установления факта маточной беременности, а в случае начала ПР – к выбору токолитического препарата и тактики ведения родов.
2. На предгравидарном этапе всем женщинам группы риска ПР необходимо проводить санацию всех очагов хронической инфекции и микробиологическое исследование органов мочеполовой системы, поскольку в 72,2% причиной ПР является инфекционный фактор. При выявлении возбудителей показана антибактериальная терапия согласно чувствительности с последующим контрольным микробиологическим исследованием.
3. При наступлении беременности всем пациенткам группы риска ПР с целью профилактики ПР показано назначение аспирина в дозе 100 мг ежедневно с момента установления факта маточной беременности и до 37 недель.
4. Женщинам группы риска ПР рекомендуется проводить исследование на наличие полиморфизма генов цитокинов *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1Ra*, *IL-4*. При выявлении данных полиморфизмов, а особенно сочетания 3 и более, повышается риск экстремально ранних и ранних ПР, что требует проведения дополнительных профилактических мероприятий – назначения прогестерона интравагинально с момента установления факта маточной беременности.
5. Для контроля и прогнозирования наступления ПР всем женщинами группы риска ПР необходимо проведение цервикометрии каждые 2 недели в сроке

13-28 недель беременности. При выявлении укорочении шейки матки менее 25 мм показано проведение терапии препаратами прогестерона интравагинально до 37 недели, а в сроках 24-34 недели гестации - проведение профилактики РДС плода дексаметазоном в суммарной дозе 24 мг.

6. При появлении регулярных маточных сокращений необходимо госпитализировать пациентку в перинатальный центр для проведения патогенетически обоснованного токолиза индометацином в течение 48 часов, а также инфузии 25% раствора сульфата магния с целью нейропротекции.
7. Тактика родоразрешения при ПР при отсутствии другой патологии зависит от срока гестации:
 - ✓ до 28 недель оптимально ведение родов через естественные родовые пути, поскольку на данных сроках гестации нет различий в перинатальных исходах в зависимости от тактики родоразрешения;
 - ✓ в сроках 28-30 недель 6 дней оптимальной тактикой родоразрешения является операция кесарева сечения и извлечение плода в целом плодном пузыре, что позволяет улучшить перинатальные исходы по сравнению с родами через естественные родовые пути, прежде всего за счет снижения частоты ВЖК у недоношенных новорождённых;
 - ✓ после 31 недели оптимально ведение родов через естественные родовые пути, в связи с отсутствием достоверных отличий в перинатальных исходах при консервативном и оперативном (кесарево сечение) родоразрешении.
8. Комплексный патогенетически обоснованный подход к предгравидарной подготовке, профилактике ПР, тактике ведения беременности, выбору токолитической терапии и методу родоразрешения женщин группы риска ПР позволяет снизить частоту ПР, особенно экстремально ранних и ранних ПР, а также приводит к улучшению перинатальных и отдаленных исходов ПР.

Алгоритм предгравидарной подготовки, ведения беременности и родов у женщин группы риска ПР.



СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД	- артериальное давление
ВОЗ	- Всемирная Организация Здравоохранения
ВЖК	- внутрижелудочковое кровоизлияние
ВПЧ	- вирус папилломы человека
ВРТ	- вспомогательные репродуктивные технологии
ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
ДЦП	- детский церебральный паралич
ИВЛ	- искусственная вентиляция легких
ИЦН	- истмикоцервикальная недостаточность
КТРГ	- кортикотропный рилизинг гормон
КС	- кесарево сечение
Минздрав	- Министерство здравоохранения
ММП	- матричные металлопротеиназы
МПК	- маточно-плацентарный комплекс
НПВС	- нестероидные противовоспалительные средства
ОНМТ	- очень низкая масса тела
ОРИТ	- отделение реанимации и интенсивной терапии
ПАМГ-1	- плацентарного альфа-микроглобулина-1
ПН	- плацентарная недостаточность
ПР	- преждевременные роды
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
ПЭ	- преэклампсия
РДС	- респираторный дистресс
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РФ	- Российская Федерация
СД	- сахарный диабет
СДР	- синдром дыхательных расстройств
СЗРП	- синдром задержки роста плода
УЗИ	- ультразвуковое исследование
ф-ПСИФР-1	- фосфорилированный протеин-1, связывающий инсулиноподобный фактор роста
ЦНС	- центральная нервная система
ЧСС	- частота сердечных сокращений
ЭНМТ	- экстремально низкая масса тела
ЮНИСЕФ	- детский фонд ООН
СОХ	- циклооксигеназа
CPAP (Constant Positive Airway Pressure, CPAP)	- режим искусственной вентиляции лёгких постоянным положительным давлением
DAMPs (damage-associated molecular patterns)	- молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями

FIGO

- Международная федерация гинекологии и акушерства

IL

- интерлейкин

NO

- нитрат азота

PAMPs

- патоген-ассоциированные молекулярные структуры

SNP(single nucleotide polymorphism)

- однонуклеотидный полиморфизм

TLRs

- toll-подобные рецепторы

TNF- α

- фактор некроза опухоли

VNTR (variable number tandem repeat)

- участок с варьирующим числом tandemных повторов

XIAP (X-inhibitors of apoptosis proteins)

- ингибитор белков апоптоза, кодируемый X- хромосомой

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. WHO, March of Dimes, Partnership for Maternal, Newborn & Child Health, Save the Children. Born too soon: the global action report on preterm birth. URL: http://www.who.int/maternal_child_adolescent/documents/born_too_soon/en/ (Accessed on May 04, 2012).
2. Сухих Г.Т., Серов В.Н., Адамян Л.В., Филиппов О.С., Баев О.Р., Клименченко Н.И., Тетруашвили Н.К., Тютюнник В.Л., Ходжаева З.С., Холин А.М. Преждевременные роды//Проблемы репродукции. 2018. Т. 24. № S6. С. 56-79.
3. Saveleva G.M., Shalina R.I., Kurtser M.A. PRETERM LABOR AS THE MOST IMPORTANT PROBLEM OF MODERN OBSTETRICS//Obstetrics & Gynecology. 2012. Т. 8. № 2. С. 34.
4. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Свитич О.А., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г. Преждевременные роды: от понимания патогенеза к тактике ведения. Акушерство, гинекология и репродукция. 2018. Т. 12. № 4. С. 47-51.
5. Савельева Г.М., Шалина Р.И., Курцер М.А., Клименко П.А., Сичинава Л.Г., Панина О.Б., Плеханова Е.Р., Выхристюк Ю.В., Лебедев Е.В. ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫЕ РОДЫ, КАК ВАЖНЕЙШАЯ ПРОБЛЕМА СОВРЕМЕННОГО АКУШЕРСТВА // Акушерство и гинекология. 2012. № 8-2. С. 4-10.
6. Mandy GT, Weisman LE, Kim MS Incidence and mortality of the preterm infant. URL: http://www.uptodate.com/contents/incidence-and-mortality-of-the-preterm-infant?search=Incidence%20and%20mortality%20of%20the%20preterm%20infant&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
7. ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ГОСУДАРСТВЕННОЙ СТАТИСТИКИ (Росстат) ЗДРАВООХРАНЕНИЕ В РОССИИ 2019 Статистический сборник

- Москва 2019. URL: <http://https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/Zdravoohran-2019.pdf>
8. Matthews TJ, MacDorman MF, Thoma ME Infant Mortality Statistics From the 2013 Period Linked Birth/Infant Death Data Set.//Natl Vital Stat Rep. 2015;64(9):1.
 9. Pierrat V, Marchand-Martin L, Arnaud C, et al. Neurodevelopmental outcome at 2 years for preterm children born at 22 to 34 weeks' gestation in France in 2011: EPIPAGE-2 cohort study. //BMJ 2017; 358:j3448.
 - 10.Synnes A, Luu TM, Moddemann D, et al. Determinants of developmental outcomes in a very preterm Canadian cohort.// Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2017; 102:F235.
 - 11.Johnson S, Fawke J, Hennessy E, et al. Neurodevelopmental disability through 11 years of age in children born before 26 weeks of gestation. //Pediatrics 2009; 124:e249.
 - 12.Marlow N, Wolke D, Bracewell MA, Samara M, EPICure Study Group Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. // Engl J Med. 2005;352(1):9.
 - 13.Garfield CF, Karbownik K, Murthy K, et al. Educational Performance of Children Born Prematurely. // JAMA Pediatr 2017; 171:764.
 - 14.Beaino G, Khoshnood B, Kaminski M, et al. Predictors of the risk of cognitive deficiency in very preterm infants: the EPIPAGE prospective cohort. // Acta Paediatr 2011; 100:370.
 - 15.URL: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
 - 16.Министерство Здравоохранения РФ Клинические рекомендации Преждевременные роды// Москва, 2020.
 - 17.Robinson JN, Norwitz ER Preterm birth: Risk factors, interventions for risk reduction, and maternal prognosis. URL: http://www.uptodate.com/contents/preterm-birth-risk-factors-interventions-for-risk-reduction-and-maternal-prognosis?search=preterm%20labor&topicRef=6798&source=see_link

- 18.Lockwood CJ, MD Preterm labor: Clinical findings, diagnostic evaluation, and initial treatment. URL: https://www.uptodate.com/contents/preterm-labor-clinical-findings-diagnostic-evaluation-and-initial-treatment?search=preterm%20labor&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
- 19.WHO recommendations on interventions to improve preterm birth outcomes. URL:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/183037/9789241508988_eng.pdf;jsessionid=2BBC6115AC8D286164CC221FA6550227?sequence=1
- 20.Di Renzo G. C. et al. Mikhailov A1, Papantoniou N, Radzinsky V, Shennan A, Ville Y, Wielgos M, Visser GHA. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine //J Matern Fetal Neonatal Med. – 2017. – T. 30. – C. 2011-2030.
- 21.American College of Obstetricians and Gynecologists; Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. ACOG practice bulletin no. 127: Management of preterm labor. Obstet Gynecol. 2012 Jun;119(6):1308-17. doi: 10.1097/AOG.0b013e31825af2f0. PMID: 22617615.
- 22.Simhan HN, Caritis S Inhibition of acute preterm labor. URL: https://www.uptodate.com/contents/inhibition-of-acute-preterm-labor?search=preterm%20labor&topicRef=6798&source=see_link
- 23.Alfirevic Z, Milan SJ, Livio S. Caesarean section versus vaginal delivery for preterm birth in singletons. Cochrane Database Syst Rev. 2013 Sep 12;2013(9):CD000078. doi: 10.1002/14651858.CD000078.pub3. PMID: 24030708; PMCID: PMC7052739.
- 24.Wadhawan R, Vohr BR, Fanaroff AA, Perritt RL, Duara S, Stoll BJ, Goldberg R, Laptook A, Poole K, Wright LL, Oh W. Does labor influence neonatal and neurodevelopmental outcomes of extremely-low-birth-weight infants who are born by cesarean delivery? Am J Obstet Gynecol. 2003 Aug;189(2):501-6. doi: 10.1067/s0002-9378(03)00360-0. PMID: 14520225.

25. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Свитич О.А., Тимохина Е.В., Кукина П.И., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г. Преждевременные роды: причины, патогенез, тактика. *Акушерство и гинекология*. 2020. № 2. С. 82-87.
26. Mottet N, Riethmuller D. Mode d'accouchement en cas de prématurité spontanée [Mode of delivery in spontaneous preterm birth]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016 Dec;45(10):1434-1445. French. doi: 10.1016/j.jgyn.2016.09.021. Epub 2016 Oct 21. PMID: 27776847.
27. Gilman-Sachs A, Dambaeva S, Salazar Garcia MD, Hussein Y, Kwak-Kim J, Beaman K. Inflammation induced preterm labor and birth. *J Reprod Immunol*. 2018 Sep;129:53-58. doi: 10.1016/j.jri.2018.06.029. Epub 2018 Jun 30. PMID: 30025845.
28. Тысячный О.В., Кречетова Л.В., Баев О.Р., Вторушина В.В. Цитокины пуповинной крови при самопроизвольных родах и кесаревом сечении // *Акушерство и гинекология*. 2017. № 4. С. 68-73.
29. Амирова Ж.С. Система цитокинов у беременных с персистирующей и рецидивирующей угрозой прерывания беременности // *Вестник новых медицинских технологий*. 2006; 4: 66-7.
30. Сидельникова В.М., Сухих Г.Т. Невынашивание беременности: руководство для практикующего врача. Москва, МИА. 2010 С. 23-28.
31. Hertelendy F, Molnár M, Romero R. Interferon gamma antagonizes interleukin-1beta-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E(2) production in human myometrial cells. // *J Soc Gynecol Investig*. 2002 Jul-Aug;9(4):215-9.
32. Макаров О.В., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет. М.: Гэотар_медиа; 2007.
33. Супрун Е.Н. Цитокины и аутоантитела к цитокинам. // *Аллергология и иммунология в педиатрии*, 2015. №4(43). С.44-50.
34. Qin Zhu, Jian Sun, and Ying Chen Preterm birth and single nucleotide polymorphisms in cytokine genes // *Transl Pediatr*. 2014 Apr; 3(2): 120–134. doi: 10.3978/j.issn.2224-4336.2014.03.02

35. Симбирцев А. С., Громова А. Ю. Функциональный полиморфизм генов цитокинов регуляторных молекул воспаления / Цитокины и воспаление. 2005; 4 (1); 3–10.)/
36. Belfer I., Buzas B., Hipp H., Doevendans P.A., ten Cate H., Prins M.H., Biesma D.H. Haplotype structure of inflammatory cytokines genes (IL1B, IL6 and TNF/LTA) in US Caucasians and African Americans // *Genes Immun.*, 2004, vol. 5, no. 6, pp. 505-512. DOI: 10.1038/sj.gene.6364118
37. Имангулова М.М., Бикмаева А.Р., Хуснутдинова Э.К. Полиморфизм кластера гена интерлейкина 1 у больных туберкулезом легких // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 1. – С. 36-41.
38. Settin A., Abdel-Hady H., El-Baz R., Saber I. Gene Polymorphisms of TNF- α -308, IL-10-1082, IL-6-174, and IL-1Ra VNTR Related to Susceptibility and Severity of Rheumatic Heart Disease. *Pediatric Cardiology*, 2007, Vol. 28, no. 5, pp. 363-371. DOI:10.1007/s00246-006-0002-7
39. Kamenarska Z., Dzhebir G., Hristova M., Savov A., Vinkov A., Kaneva R., Mitev V., Dourmishev L. IL-1RN VNTR Polymorphism in Adult Dermatomyositis and Systemic Lupus Erythematosus // *Dermatology Research and Practice*. Volume 2014, Article ID 953597, 5 pages DOI: 10.1155/2014/953597
40. Makhoul MM, Abd Elhamid SM Expression of IL4 (VNTR intron 3) and IL10 (-627) Genes Polymorphisms in Childhood Immune Thrombocytopenic Purpura// *Lab Med Summer* 2014;45:211-219 DOI: 10.1309/LMB0QC5T1RXTTRZQ
41. Yilmaz Y., Verdi H., Taneri A., Yazici A. C., Ecevit A. N., Karakas N. M. et al. Maternal-fetal proinflammatory cytokine gene polymorphism and preterm birth // *DNA and cell biology*. 2012; 31 (1); 92–97. doi: 10.1089/dna.2010.1169.
42. Белоусова В.С., Свитич О.А., Тимохина Е.В., Стрижаков А.Н., Богомазова И.М. Полиморфизм генов цитокинов IL-1B, TNF, IL-1RA и IL-4 повышает риск развития преждевременных родов. *Биохимия*. 2019. Т. 84. № 9. С. 1281-1288.
43. Robertson SA, Hutchinson MR, Rice KC, Chin PY, Moldenhauer LM, Stark MJ, Olson DM, Keelan JA. Targeting Toll-like receptor-4 to tackle preterm birth and

- fetal inflammatory injury. Clin Transl Immunology. 2020 Apr 14;9(4):e1121. doi: 10.1002/cti2.1121. PMID: 32313651; PMCID: PMC7156293.
- 44.Lim R, Barker G, Lappas M. TLR2, TLR3 and TLR5 regulation of pro-inflammatory and pro-labour mediators in human primary myometrial cells. J Reprod Immunol. 2017 Aug;122:28-36. doi: 10.1016/j.jri.2017.08.004. Epub 2017 Aug 24. PMID: 28844021.
 - 45.Robertson SA, Wahid HH, Chin PY, Hutchinson MR, Moldenhauer LM, Keelan JA. Toll-like Receptor-4: A New Target for Preterm Labour Pharmacotherapies? Curr Pharm Des. 2018;24(9):960-973. doi: 10.2174/1381612824666180130122450. PMID: 29384054.
 - 46.Abrahams VM, Potter JA, Bhat G, Peltier MR, Saade G, Menon R. Bacterial modulation of human fetal membrane Toll-like receptor expression. Am J Reprod Immunol. 2013 Jan;69(1):33-40. doi: 10.1111/aji.12016. Epub 2012 Sep 11. PMID: 22967004; PMCID: PMC3535068.
 - 47.Abrahams VM Immunology of the maternal-fetal interface. URL: https://www.uptodate.com/contents/immunology-of-the-maternal-fetal-interface?search=Immunology%20of%20the%20maternal-fetal%20interface&source=search_result&selectedTitle=1~2&usage_type=default&display_rank=1
 - 48.Стрижаков А.Н., Белоусова В.С., Свитич О.А. Клиническое значение toll-подобных рецепторов в патогенез преждевременных родов. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2016. Т. 15. № 1. С. 35-41.
 - 49.Macedo AB, Novis CL, Bosque A. Targeting Cellular and Tissue HIV Reservoirs With Toll-Like Receptor Agonists. Front Immunol. 2019 Oct 15;10:2450. doi: 10.3389/fimmu.2019.02450. PMID: 31681325; PMCID: PMC6804373.
 - 50.Dominguez-Molina B, Machmach K, Perales C, Tarancon-Diez L, Gallego I, Sheldon JL, Leal M, Domingo E, Ruiz-Mateos E. Toll-Like Receptor 7 (TLR-7) and TLR-9 Agonists Improve Hepatitis C Virus Replication and Infectivity Inhibition by Plasmacytoid Dendritic Cells. J Virol. 2018 Nov 12;92(23):e01219-18. doi: 10.1128/JVI.01219-18. PMID: 30232187; PMCID: PMC6232477.

- 51.Потапнев М.П. Иммунные механизмы стерильного воспаления // Иммунология №5 2015г
- 52.Visser L, de Boer MA, de Groot CJM, Nijman TAJ, Hemels MAC, Bloemenkamp KWM, Bosmans JE, Kok M, van Laar JO, Sueters M, Scheepers H, van Drongelen J, Franssen MTM, Sikkema JM, Duvekot HJJ, Bekker MN, van der Post JAM, Naaktgeboren C, Mol BWJ, Oudijk MA. Low dose aspirin in the prevention of recurrent spontaneous preterm labour - the APRIL study: a multicenter randomized placebo controlled trial. BMC Pregnancy Childbirth. 2017 Jul 14;17(1):223. doi: 10.1186/s12884-017-1338-0. PMID: 28705190; PMCID: PMC5513323.
- 53.FIGO Working Group on Good Clinical Practice in Maternal-Fetal Medicine. Di Renzo G.C., Gratacos E., Kurtser M., Malone F., Nambiar S., Sierra N., Yang H., Fuchtnner C., Berghella V., Castelazo Morales E., Hanson M., Hod M., Ville Y., Visser G., Simpson J.L., Adra A., Bataeva R., Chmait R.H., Cheng Y., Hyett J. et al. Good clinical practice advice: Prediction of preterm labor and preterm premature rupture of membranes. Int J Gynaecol Obstet. 2019 Mar;144(3):340-346. doi: 10.1002/ijgo.12744. PMID: 30710365.
- 54.Di Renzo GC. The great obstetrical syndromes. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009 Aug;22(8):633-5. doi: 10.1080/14767050902866804. PMID: 19736613.
- 55.Matthews TJ, MacDorman MF, Thoma ME. Infant Mortality Statistics From the 2013 Period Linked Birth/Infant Death Data Set. Natl Vital Stat Rep. 2015 Aug 6;64(9):1-30. PMID: 26270610.
- 56.Schmidt B, Roberts RS, Davis PG, Doyle LW, Asztalos EV, Opie G, Bairam A, Solimano A, Arnon S, Sauve RS; Caffeine for Apnea of Prematurity (CAP) Trial Investigators; Caffeine for Apnea of Prematurity CAP Trial Investigators. Prediction of Late Death or Disability at Age 5 Years Using a Count of 3 Neonatal Morbidities in Very Low Birth Weight Infants. J Pediatr. 2015 Nov;167(5):982-6.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.07.067. Epub 2015 Aug 28. PMID: 26318030.
- 57.Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, Roberts RS, Robertson CM, Sauve RS; Trial of Indomethacin Prophylaxis in Preterms Investigators. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants:

- added role of neonatal infection. *Pediatrics*. 2009 Jan;123(1):313-8. doi: 10.1542/peds.2008-0377. PMID: 19117897; PMCID: PMC2829863.
58. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, Hale EC, Newman NS, Schibler K, Carlo WA, Kennedy KA, Poindexter BB, Finer NN, Ehrenkranz RA, Duara S, Sánchez PJ, O'Shea TM, Goldberg RN, Van Meurs KP, Faix RG, Phelps DL, Frantz ID 3rd, Watterberg KL, Saha S, Das A, Higgins RD; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2010 Sep;126(3):443-56. doi: 10.1542/peds.2009-2959. Epub 2010 Aug 23. PMID: 20732945; PMCID: PMC2982806.
59. Pierrat V, Marchand-Martin L, Arnaud C, Kaminski M, Resche-Rigon M, Lebeaux C, Bodeau-Livinec F, Morgan AS, Goffinet F, Marret S, Ancel PY; EPIPAGE-2 writing group. Neurodevelopmental outcome at 2 years for preterm children born at 22 to 34 weeks' gestation in France in 2011: EPIPAGE-2 cohort study. *BMJ*. 2017 Aug 16;358:j3448. doi: 10.1136/bmj.j3448. PMID: 28814566; PMCID: PMC5558213.
60. Synnes A, Luu TM, Moddemann D, Church P, Lee D, Vincer M, Ballantyne M, Majnemer A, Creighton D, Yang J, Sauve R, Saigal S, Shah P, Lee SK; Canadian Neonatal Network and the Canadian Neonatal Follow-Up Network. Determinants of developmental outcomes in a very preterm Canadian cohort. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2017 May;102(3):F235-F234. doi: 10.1136/archdischild-2016-311228. Epub 2016 Oct 6. PMID: 27758929.
61. Johnson S, Fawke J, Hennessy E, Rowell V, Thomas S, Wolke D, Marlow N. Neurodevelopmental disability through 11 years of age in children born before 26 weeks of gestation. *Pediatrics*. 2009 Aug;124(2):e249-57. doi: 10.1542/peds.2008-3743. Epub 2009 Jul 27. PMID: 19651566.
62. Стрижаков А.Н., Попова Н.Г., Игнатко И.В., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г., Белоусова В.С., Толкач Ю.И. Прогнозирование поражений центральной

нервной системы плода при преждевременных родах. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2016. Т. 15. № 2. С. 31-42.

- 63.Пицхелаури Е.Г., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Белоусова В.С., Богомазова И.М., Гарина А.О. Здоровье детей после вспомогательных репродуктивных технологий: вероятные риски и возможные осложнения. Акушерство, гинекология и репродукция. 2018. Т. 12. № 3. С. 56-63.
- 64.Beaino G, Khoshnood B, Kaminski M, Marret S, Pierrat V, Vieux R, Thiriez G, Matis J, Picaud JC, Rozé JC, Alberge C, Larroque B, Bréart G, Ancel PY; EPIPAGE Study Group. Predictors of the risk of cognitive deficiency in very preterm infants: the EPIPAGE prospective cohort. *Acta Paediatr.* 2011 Mar;100(3):370-8. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.02064.x. Epub 2011 Jan 17. PMID: 21241364; PMCID: PMC3080666.
- 65.Shapiro-Mendoza CK, Tomashek KM, Kotelchuck M, Barfield W, Nannini A, Weiss J, Declercq E. Effect of late-preterm birth and maternal medical conditions on newborn morbidity risk. *Pediatrics.* 2008 Feb;121(2):e223-32. doi: 10.1542/peds.2006-3629. PMID: 18245397.
- 66.Mathews TJ, MacDorman MF. Infant mortality statistics from the 2008 period linked birth/infant death data set. *Natl Vital Stat Rep.* 2012 May 10;60(5):1-27. PMID: 24974588.
- 67.Ballantyne M, Benzies KM, McDonald S, Magill-Evans J, Tough S. Risk of developmental delay: Comparison of late preterm and full term Canadian infants at age 12 months. *Early Hum Dev.* 2016 Oct;101:27-32. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2016.04.004. Epub 2016 Jul 9. PMID: 27405053.
- 68.Leone A, Ersfeld P, Adams M, Schiffer PM, Bucher HU, Arlettaz R. Neonatal morbidity in singleton late preterm infants compared with full-term infants. *Acta Paediatr.* 2012 Jan;101(1):e6-10. doi: 10.1111/j.1651-2227.2011.02459.x. Epub 2011 Sep 23. PMID: 21895764.
- 69.Hintz SR, Vohr BR, Bann CM, Taylor HG, Das A, Gustafson KE, Yolton K, Watson VE, Lowe J, DeAnda ME, Ball MB, Finer NN, Van Meurs KP, Shankaran S, Pappas A, Barnes PD, Bulas D, Newman JE, Wilson-Costello DE, Heyne RJ,

Harmon HM, Peralta-Carcelen M, Adams-Chapman I, Duncan AF, Fuller J, Vaucher YE, Colaizy TT, Winter S, McGowan EC, Goldstein RF, Higgins RD; SUPPORT study group of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Preterm Neuroimaging and School-Age Cognitive Outcomes. *Pediatrics*. 2018 Jul;142(1):e20174058. doi: 10.1542/peds.2017-4058. PMID: 29945955; PMCID: PMC6128951.

70. Wilson-Costello D, Payne A Long-term neurodevelopmental outcome of preterm infants: Epidemiology and risk factors. URL: https://www.uptodate.com/contents/long-term-neurodevelopmental-outcome-of-preterm-infants-epidemiology-and-risk-factors?search=Long-term%20neurodevelopmental%20outcome%20of%20preterm%20infants&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
71. D'Amore A, Broster S, Le Fort W, Curley A; East Anglian Very Low Birthweight Project. Two-year outcomes from very low birthweight infants in a geographically defined population across 10 years, 1993-2002: comparing 1993-1997 with 1998-2002. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2011 May;96(3):F178-85. doi: 10.1136/adc.2009.171876. Epub 2010 Nov 20. PMID: 21097840.
72. Adams-Chapman I, Heyne RJ, DeMauro SB, Duncan AF, Hintz SR, Pappas A, Vohr BR, McDonald SA, Das A, Newman JE, Higgins RD; Follow-Up Study of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. Neurodevelopmental Impairment Among Extremely Preterm Infants in the Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 2018 May;141(5):e20173091. doi: 10.1542/peds.2017-3091. Epub 2018 Apr 17. PMID: 29666163; PMCID: PMC5914487.
73. Carlo WA, McDonald SA, Fanaroff AA, Vohr BR, Stoll BJ, Ehrenkranz RA, Andrews WW, Wallace D, Das A, Bell EF, Walsh MC, Laptook AR, Shankaran S, Poindexter BB, Hale EC, Newman NS, Davis AS, Schibler K, Kennedy KA, Sánchez PJ, Van Meurs KP, Goldberg RN, Watterberg KL, Faix RG, Frantz ID 3rd, Higgins RD; Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and

- Human Development Neonatal Research Network. Association of antenatal corticosteroids with mortality and neurodevelopmental outcomes among infants born at 22 to 25 weeks' gestation. *JAMA*. 2011 Dec 7;306(21):2348-58. doi: 10.1001/jama.2011.1752. PMID: 22147379; PMCID: PMC3565238.
- 74.Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Mar 21;3(3):CD004454. doi: 10.1002/14651858.CD004454.pub3. PMID: 28321847; PMCID: PMC6464568.
- 75.Crump C, Sundquist J, Sundquist K. Preterm delivery and long term mortality in women: national cohort and co-sibling study. *BMJ*. 2020 Aug 19;370:m2533. doi: 10.1136/bmj.m2533. PMID: 32816755; PMCID: PMC7436341.
- 76.Laughon SK, Albert PS, Leishear K, Mendola P. The NICHD Consecutive Pregnancies Study: recurrent preterm delivery by subtype. *Am J Obstet Gynecol*. 2014 Feb;210(2):131.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2013.09.014. Epub 2013 Sep 11. PMID: 24036403; PMCID: PMC3934564.
- 77.Mercer BM, Goldenberg RL, Moawad AH, Meis PJ, Iams JD, Das AF, Caritis SN, Miodovnik M, Menard MK, Thurnau GR, Dombrowski MP, Roberts JM, McNellis D. The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 Nov;181(5 Pt 1):1216-21. doi: 10.1016/s0002-9378(99)70111-0. PMID: 10561648.
- 78.Ananth CV, Vintzileos AM. Epidemiology of preterm birth and its clinical subtypes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2006 Dec;19(12):773-82. doi: 10.1080/14767050600965882. PMID: 17190687.
- 79.Ananth CV, Getahun D, Peltier MR, Salihu HM, Vintzileos AM. Recurrence of spontaneous versus medically indicated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Sep;195(3):643-50. doi: 10.1016/j.ajog.2006.05.022. PMID: 16949395.
- 80.Wong LF, Wilkes J, Korgenski K, Varner MW, Manuck TA. Risk factors associated with preterm birth after a prior term delivery. *BJOG*. 2016

- Oct;123(11):1772-8. doi: 10.1111/1471-0528.13683. Epub 2015 Sep 28. PMID: 26412012; PMCID: PMC4809794.
- 81.Saccone G, Perriera L, Berghella V. Prior uterine evacuation of pregnancy as independent risk factor for preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2016 May;214(5):572-91. doi: 10.1016/j.ajog.2015.12.044. Epub 2015 Dec 29. PMID: 26743506.
 - 82.Shapiro-Mendoza CK, Barfield WD, Henderson Z, James A, Howse JL, Iskander J, Thorpe PG. CDC Grand Rounds: Public Health Strategies to Prevent Preterm Birth. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016 Aug 19;65(32):826-30. doi: 10.15585/mmwr.mm6532a4. PMID: 27536925.
 - 83.Koike T, Minakami H, Kosuge S, Usui R, Matsubara S, Izumi A, Sato I. Uterine leiomyoma in pregnancy: its influence on obstetric performance. *J Obstet Gynaecol Res*. 1999 Oct;25(5):309-13. doi: 10.1111/j.1447-0756.1999.tb01168.x. PMID: 10533324.
 - 84.Cnattingius S, Villamor E, Johansson S, Edstedt Bonamy AK, Persson M, Wikström AK, Granath F. Maternal obesity and risk of preterm delivery. *JAMA*. 2013 Jun 12;309(22):2362-70. doi: 10.1001/jama.2013.6295. PMID: 23757084.
 - 85.Pandey S, Shetty A, Hamilton M, Bhattacharya S, Maheshwari A. Obstetric and perinatal outcomes in singleton pregnancies resulting from IVF/ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2012 Sep-Oct;18(5):485-503. doi: 10.1093/humupd/dms018. Epub 2012 May 19. PMID: 22611174.
 - 86.Rottenstreich A, Rottenstreich M, Ehrlich Z, Ezra Y, Mankuta D, Yagel S, Kabiri D, Elchalal U, Levin G. Recurrence risk of preterm birth in a subsequent singleton pregnancy after a spontaneous preterm triplet delivery. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020 Mar;246:123-128. doi: 10.1016/j.ejogrb.2020.01.026. Epub 2020 Jan 22. PMID: 32014675.
 - 87.Schaaf JM, Hof MH, Mol BW, Abu-Hanna A, Ravelli AC. Recurrence risk of preterm birth in subsequent singleton pregnancy after preterm twin delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2012 Oct;207(4):279.e1-7. doi: 10.1016/j.ajog.2012.07.026. Epub 2012 Jul 26. PMID: 22917487.

- 88.Kaszyńska M, Wieliczko M. [Asymptomatic bacteriuria in pregnancy]. *Wiad Lek.* 2019;72(11 cz 2):2232-2234. Polish. PMID: 31860843.
- 89.Bianchi-Jassir F, Seale AC, Kohli-Lynch M, Lawn JE, Baker CJ, Bartlett L, Cutland C, Gravett MG, Heath PT, Ip M, Le Doare K, Madhi SA, Saha SK, Schrag S, Sobanjo-Ter Meulen A, Vekemans J, Rubens CE. Preterm Birth Associated With Group B Streptococcus Maternal Colonization Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis.* 2017 Nov 6;65(suppl_2):S133-S142. doi: 10.1093/cid/cix661. PMID: 29117329; PMCID: PMC5850429.
- 90.Tang W, Mao J, Li KT, Walker JS, Chou R, Fu R, Chen W, Darville T, Klausner J, Tucker JD. Pregnancy and fertility-related adverse outcomes associated with Chlamydia trachomatis infection: a global systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect.* 2020 Aug;96(5):322-329. doi: 10.1136/sextrans-2019-053999. Epub 2019 Dec 13. PMID: 31836678; PMCID: PMC7292777.
- 91.Xiong YQ, Mo Y, Luo QM, Huo ST, He WQ, Chen Q. The Risk of Human Papillomavirus Infection for Spontaneous Abortion, Spontaneous Preterm Birth, and Pregnancy Rate of Assisted Reproductive Technologies: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Gynecol Obstet Invest.* 2018;83(5):417-427. doi: 10.1159/000482008. Epub 2018 Apr 12. PMID: 29649818.
- 92.Vallely LM, Egli-Gany D, Pomat W, Homer CS, Guy R, Wand H, Silver B, Rumbold AR, Kaldor JM, Low N, Vallely AJ. Adverse pregnancy and neonatal outcomes associated with Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, M. hominis, Ureaplasma urealyticum and U. parvum: a systematic review and meta-analysis protocol. *BMJ Open.* 2018 Nov 28;8(11):e024175. doi: 10.1136/bmjopen-2018-024175. PMID: 30498048; PMCID: PMC6278811.
- 93.Bhattacharya S, Raja EA, Mirazo ER, Campbell DM, Lee AJ, Norman JE, Bhattacharya S. Inherited predisposition to spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2010 Jun;115(6):1125-33. doi: 10.1097/AOG.0b013e3181dffcdb. PMID: 20502281.
- 94.Kramer MS, Lydon J, Séguin L, Goulet L, Kahn SR, McNamara H, Genest J, Dassa C, Chen MF, Sharma S, Meaney MJ, Thomson S, Van Uum S, Koren G, Dahhou

- M, Lamoureux J, Platt RW. Stress pathways to spontaneous preterm birth: the role of stressors, psychological distress, and stress hormones. *Am J Epidemiol*. 2009 Jun 1;169(11):1319-26. doi: 10.1093/aje/kwp061. Epub 2009 Apr 10. PMID: 19363098.
95. Zeitlin J, Ancel PY, Larroque B, Kaminski M; EPIPAGE Study. Fetal sex and indicated very preterm birth: results of the EPIPAGE study. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 May;190(5):1322-5. doi: 10.1016/j.ajog.2003.10.703. PMID: 15167836.
96. Purisch SE, DeFranco EA, Muglia LJ, Odibo AO, Stamilio DM. Preterm birth in pregnancies complicated by major congenital malformations: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Sep;199(3):287.e1-8. doi: 10.1016/j.ajog.2008.06.089. PMID: 18771986.
97. Lockwood CJ Pathogenesis of spontaneous preterm birth. URL: https://www.uptodate.com/contents/search?search=Pathogenesis%20of%20spontaneous%20preterm%20birth&sp=0&searchType=PLAIN_TEXT&source=USER_INPUT&searchControl=TOP_PULLDOWN&searchOffset=1&autoComplete=false&language=en&max=10&index=&autoCompleteTerm=
98. Korebrits C, Ramirez MM, Watson L, Brinkman E, Bocking AD, Challis JR. Maternal corticotropin-releasing hormone is increased with impending preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998 May;83(5):1585-91. doi: 10.1210/jcem.83.5.4804. PMID: 9589660.
99. Challis JR, Hooper S. Birth: outcome of a positive cascade. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. 1989 Nov;3(3):781-93. doi: 10.1016/s0950-351x(89)80053-9. PMID: 2698155.
100. Davies EL, Bell JS, Bhattacharya S. Preeclampsia and preterm delivery: A population-based case-control study. *Hypertens Pregnancy*. 2016 Nov;35(4):510-519. doi: 10.1080/10641955.2016.1190846. Epub 2016 Jun 20. PMID: 27322489.
101. Wilmink FA, Reijnierse J, Reiss IKM, Steegers EAP, de Jonge RCJ; Research Consortium Neonatology South-West of the Netherlands. Preeclampsia and risk of developing bronchopulmonary dysplasia in very preterm neonates.

- Pregnancy Hypertens. 2019 Jan;15:57-63. doi: 10.1016/j.preghy.2018.11.001. Epub 2018 Nov 10. PMID: 30825928.
102. Battarbee AN, Sinkey RG, Harper LM, Oparil S, Tita ATN. Chronic hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2020 Jun;222(6):532-541. doi: 10.1016/j.ajog.2019.11.1243. Epub 2019 Nov 9. PMID: 31715148.
 103. Melvin LM, Funai EF Gestational hypertension. URL:https://www.uptodate.com/contents/search?search=Gestational%20hypertension&sp=0&searchType=PLAIN_TEXT&source=USER_INPUT&searchControl=TOP_PULLDOWN&searchOffset=1&autoComplete=false&language=en&max=10&index=&autoCompleteTerm=
 104. Reynolds ML, Herrera CA. Chronic Kidney Disease and Pregnancy. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2020 Nov;27(6):461-468. doi: 10.1053/j.ackd.2020.04.003. PMID: 33328062.
 105. Mackin ST, Nelson SM, Kerssens JJ, Wood R, Wild S, Colhoun HM, Leese GP, Philip S, Lindsay RS; SDRN Epidemiology Group. Diabetes and pregnancy: national trends over a 15 year period. *Diabetologia*. 2018 May;61(5):1081-1088. doi: 10.1007/s00125-017-4529-3. Epub 2018 Jan 11. PMID: 29322220; PMCID: PMC6448996.
 106. Klein LL, Gibbs RS. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 Jun;190(6):1493-502. doi: 10.1016/j.ajog.2004.03.014. PMID: 15284720.
 107. Кузьмин В.Н. ВЛИЯНИЕ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ЦЕРВИКО-ВАГИНАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ У ЖЕНЩИН С ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ. *Лечащий врач*. 2018. № 12. С. 8.
 108. Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Dekker FW, et al. Association between colonization with Group B Streptococcus and preterm delivery: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009; 88:958.

109. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, et al. *Trichomonas vaginalis* as a cause of perinatal morbidity: A systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2014; 41:369.
110. Кузьмин В.Н., Мурриева Г.А. РОЛЬ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ УРОГЕНИТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ САМОПРОИЗВОЛЬНЫХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ. *Лечащий врач*. 2013. № 6. С. 60.
111. Collins S, Ramsay M, Slack MP, et al. Risk of invasive *Haemophilus influenzae* infection during pregnancy and association with adverse fetal outcomes. *JAMA* 2014; 311:1125.
112. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1737.
113. Кузьмин В.Н. ПЕРИНАТАЛЬНЫЕ ИСХОДЫ ПРИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННОМ РАЗРЫВЕ ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК. *Лечащий врач*. 2018. № 3. С. 34.
114. Schuster HJ, de Jonghe BA, Limpens J, et al. Asymptomatic vaginal *Candida* colonization and adverse pregnancy outcomes including preterm birth: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol MFM* 2020; 2.
115. Nygren P, Fu R, Freeman M, Bougatsos C, Klebanoff M, Guise JM; U.S. Preventive Services Task Force. Evidence on the benefits and harms of screening and treating pregnant women who are asymptomatic for bacterial vaginosis: an update review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2008 Feb 5;148(3):220-33. doi: 10.7326/0003-4819-148-3-200802050-00008. PMID: 18252684.
116. Smaill FM, Vazquez JC. Antibiotics for asymptomatic bacteriuria in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019 Nov 25;2019(11):CD000490. doi: 10.1002/14651858.CD000490.pub4. PMID: 31765489; PMCID: PMC6953361.

117. Sheiner E, Mazor-Drey E, Levy A. Asymptomatic bacteriuria during pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2009 May;22(5):423-7. doi: 10.1080/14767050802360783. PMID: 19530000.
118. Wing DA, Fassett MJ, Getahun D. Acute pyelonephritis in pregnancy: an 18-year retrospective analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2014 Mar;210(3):219.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2013.10.006. Epub 2013 Oct 5. PMID: 24100227.
119. Horton AL¹, Boggess KA. Periodontal disease and preterm birth. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2012 Mar;39(1):17-23, vii. doi:10.1016/j.ogc.2011.12.008. Epub 2012 Feb 1
120. Kornman KS, di Giovine FS. Genetic variations in cytokine expression: a risk factor for severity of adult periodontitis. *Ann Periodontol* 1998; 3:327.
121. Galbraith GM, Steed RB, Sanders JJ, Pandey JP. Tumor necrosis factor alpha production by oral leukocytes: influence of tumor necrosis factor genotype. *J Periodontol* 1998; 69:428.
122. Kornman KS, Crane A, Wang HY, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; 24:72.
123. Boggess KA, Moss K, Madianos P, et al. Fetal immune response to oral pathogens and risk of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:1121.
124. Protonotariou E, Chrelas C, Kassanos D, Kapsambeli H, Trakakis E, Sarandakou A. Immune response parameters during labor and early neonatal life. *In Vivo.* 2010 Jan-Feb;24(1):117-23
125. Van Meir CA, Sangha RK, Walton JC, et al. Immunoreactive 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase (PGDH) is reduced in fetal membranes from patients at preterm delivery in the presence of infection. *Placenta* 1996; 17:291.
126. Challis JR, Lye SJ, Gibb W, et al. Understanding preterm labor. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 943:225.
127. So T, Ito A, Sato T, et al. Tumor necrosis factor-alpha stimulates the biosynthesis of matrix metalloproteinases and plasminogen activator in cultured human chorionic cells. *Biol Reprod* 1992; 46:772.

128. Fortunato SJ, Menon R, Lombardi SJ. Role of tumor necrosis factor-alpha in the premature rupture of membranes and preterm labor pathways. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187:1159.
129. Oner C, Schatz F, Kizilay G, et al. Progestin-inflammatory cytokine interactions affect matrix metalloproteinase-1 and -3 expression in term decidua cells: implications for treatment of chorioamnionitis-induced preterm delivery. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:252.
130. Hulboy DL, Rudolph LA, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases as mediators of reproductive function. *Mol Hum Reprod*. 1997 Jan;3(1):27-45. Review. PMID: 9239706
131. Брехман Г.И. Шейка матки: преобразования в связи с родовым процессом. // *Жіночий лікар*, 2010, №6 с. 5-11
132. Sennström MB, Brauner A, Byström B, Malmström A, Ekman G. Matrix metalloproteinase-8 correlates with the cervical ripening process in humans. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003 Oct;82(10):904-11. PMID: 12956839
133. Osman I, Young A, Jordan F, Greer IA, Norman JE. Leukocyte density and proinflammatory mediator expression in regional human fetal membranes and decidua before and during labor at term. *J Soc Gynecol Investig*. 2006 Feb;13(2):97-103. doi: 10.1016/j.jsig.2005.12.002. PMID: 16443501.
134. Stygar D, Wang H, Vladic YS, Ekman G, Eriksson H, Sahlin L. Increased level of matrix metalloproteinases 2 and 9 in the ripening process of the human cervix. *Biol Reprod*. 2002 Sep;67(3):889-94. doi: 10.1095/biolreprod.102.005116. PMID: 12193399.
135. Sennström MB, Brauner A, Byström B, Malmström A, Ekman G. Matrix metalloproteinase-8 correlates with the cervical ripening process in humans. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2003 Oct;82(10):904-11. doi: 10.1080/j.1600-0412.2003.00249.x. PMID: 12956839.
136. Mittal P, Romero R, Kusanovic JP, Edwin SS, Gotsch F, Mazaki-Tovi S, Espinoza J, Erez O, Nhan-Chang CL, Than NG, Vaisbuch E, Hassan SS. CXCL6 (granulocyte chemotactic protein-2): a novel chemokine involved in the innate

- immune response of the amniotic cavity. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Sep;60(3):246-57. doi: 10.1111/j.1600-0897.2008.00620.x.PMID: 18782286
137. Hanna N, Bonifacio L, Reddy P, Hanna I, Weinberger B, Murphy S, Laskin D, Sharma S. IFN-gamma-mediated inhibition of COX-2 expression in the placenta from term and preterm labor pregnancies. *Am J Reprod Immunol*. 2004 Apr;51(4):311-8. PMID: 15212685
 138. Низяева Н.В., Карапетян А.О., Баев О.Р., Гапаева М.Д., Синицына В.А., Щеголев А.И. НОВЫЕ ДАННЫЕ О ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ // В сборнике: XIII МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС ПО РЕПРОДУКТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ. Материалы конгресса. Под редакцией Г.Т. Сухих и Л.В. Адамян. 2019. С. 112-114.
 139. Protonotariou E, Chrelias C, Kassanos D, Kapsambeli H, Trakakis E, Sarandakou A. Immune response parameters during labor and early neonatal life. *In Vivo*. 2010 Jan-Feb;24(1):117-23
 140. Павлов О.В., Сельков С.А. Иммунология репродукции: старые догмы и новые представления // Журн. акуш. и женск. бол. – 2004. – Т.53. – Вып . 1. – С.89–9.7
 141. Hunt JS. Stranger in a strange land. *Immunol Rev*. 2006 Oct;213:36-47. doi: 10.1111/j.1600-065X.2006.00436.x. PMID: 16972895; PMCID: PMC1637092.
 142. Hackmon R, Pinnaduwege L, Zhang J, Lye SJ, Geraghty DE, Dunk CE. Definitive class I human leukocyte antigen expression in gestational placentation: HLA-F, HLA-E, HLA-C, and HLA-G in extravillous trophoblast invasion on placentation, pregnancy, and parturition. *Am J Reprod Immunol*. 2017 Jun;77(6). doi: 10.1111/aji.12643. Epub 2017 Feb 10. PMID: 28185362.
 143. Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL. HLA-G: At the Interface of Maternal-Fetal Tolerance. *Trends Immunol*. 2017 Apr;38(4):272-286. doi: 10.1016/j.it.2017.01.009. Epub 2017 Mar 6. PMID: 28279591.
 144. Linscheid C, Petroff MG. Minor histocompatibility antigens and the maternal immune response to the fetus during pregnancy. *Am J Reprod Immunol*.

- 2013 Apr;69(4):304-14. doi: 10.1111/aji.12075. Epub 2013 Feb 8. PMID: 23398025; PMCID: PMC4048750.
145. Ban Y, Zhao Y, Liu F, Dong B, Kong B, Qu X. Effect of Indoleamine 2,3-Dioxygenase Expressed in HTR-8/SVneo Cells on Decidual NK Cell Cytotoxicity. *Am J Reprod Immunol*. 2016 May;75(5):519-28. doi: 10.1111/aji.12481. Epub 2016 Jan 18. PMID: 26782048.
 146. Holmes CH, Simpson KL, Okada H, Okada N, Wainwright SD, Purcell DF, Houlihan JM. Complement regulatory proteins at the feto-maternal interface during human placental development: distribution of CD59 by comparison with membrane cofactor protein (CD46) and decay accelerating factor (CD55). *Eur J Immunol*. 1992 Jun;22(6):1579-85. doi: 10.1002/eji.1830220635. PMID: 1376264.
 147. Boiti C, Zampini D, Zerani M, Guelfi G, Gobbetti A. Prostaglandin receptors and role of G protein-activated pathways on corpora lutea of pseudopregnant rabbit in vitro. *J Endocrinol*. 2001 Jan;168(1):141-51. doi: 10.1677/joe.0.1680141. PMID: 11139778.
 148. Zhang YH, He M, Wang Y, Liao AH. Modulators of the Balance between M1 and M2 Macrophages during Pregnancy. *Front Immunol*. 2017 Feb 9;8:120. doi: 10.3389/fimmu.2017.00120. PMID: 28232836; PMCID: PMC5299000.
 149. Szekeres-Bartho J, Halasz M, Palkovics T. Progesterone in pregnancy; receptor-ligand interaction and signaling pathways. *J Reprod Immunol*. 2009 Dec;83(1-2):60-4. doi: 10.1016/j.jri.2009.06.262. Epub 2009 Oct 31. PMID: 19880194.
 150. Гордеева Л.А., Оскорбина О.С., Воронина Е.Н., Соколова Е.А., Шаталина И.В., Оленникова Р.В., Нерсисян С.Л., Филипенко М.Л., Глушков А.Н АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С НЕВЫНАШИВАНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ // Медицинская иммунология, 2017, Т. 19, № 5, стр. 585-596
 151. Пицхелаури Е.Г., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Игнатко И.В., Белоусова В.С. Проблемы имплантации и риски осложнений беременности

после вспомогательных репродуктивных технологий. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2017. Т. 16. № 2. С. 34-39.

152. Fettweis JM, Serrano MG, Brooks JP, Edwards DJ, Girerd PH, Parikh HI, Huang B, Arodz TJ, Edupuganti L, Glascock AL, Xu J, Jimenez NR, Vivadelli SC, Fong SS, Sheth NU, Jean S, Lee V, Bokhari YA, Lara AM, Mistry SD, Duckworth RA 3rd, Bradley SP, Koparde VN, Orenda XV, Milton SH, Rozycki SK, Matveyev AV, Wright ML, Huzurbazar SV, Jackson EM, Smirnova E, Korlach J, Tsai YC, Dickinson MR, Brooks JL, Drake JI, Chaffin DO, Sexton AL, Gravett MG, Rubens CE, Wijesooriya NR, Hendricks-Muñoz KD, Jefferson KK, Strauss JF 3rd, Buck GA. The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat Med*. 2019 Jun;25(6):1012-1021. doi: 10.1038/s41591-019-0450-2. Epub 2019 May 29. PMID: 31142849; PMCID: PMC6750801.
153. Romero R, Espinoza J, Gonçalves LF, Kusanovic JP, Friel L, Hassan S. The role of inflammation and infection in preterm birth. *Semin Reprod Med*. 2007 Jan;25(1):21-39. doi: 10.1055/s-2006-956773. PMID: 17205421.
154. Dowd J, Laham N, Rice G, Brennecke S, Permezel M. Elevated interleukin-8 concentrations in cervical secretions are associated with preterm labour. *Gynecol Obstet Invest*. 2001;51(3):165-8. doi: 10.1159/000052917. PMID: 11306902.
155. Hertelendy F, Molnár M, Romero R. Interferon gamma antagonizes interleukin-1beta-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin E(2) production in human myometrial cells. *J Soc Gynecol Investig*. 2002 Jul-Aug;9(4):215-9. PMID: 12113880.
156. Alijotas-Reig J, Esteve-Valverde E, Ferrer-Oliveras R, Llurba E, Gris JM. Tumor Necrosis Factor-Alpha and Pregnancy: Focus on Biologics. An Updated and Comprehensive Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2017 Aug;53(1):40-53. doi: 10.1007/s12016-016-8596-x. PMID: 28054230.
157. Zhang C, Deng X, Zhang X, Pan Z, Zhao W, Zhang Y, Li J, Xiao F, Wu H, Tan H, Guo P, Yang X. Association between Serum TNF- α Levels and Recurrent Spontaneous Miscarriage: A Meta-analysis. *Am J Reprod Immunol*. 2016 Feb;75(2):86-93. doi: 10.1111/aji.12447. Epub 2015 Nov 20. PMID: 26585408.

158. Lu J, Li Y, Shen Z, Lu C, Lu L. TNF- α is involved in apoptosis triggered by grass carp reovirus infection in vitro. *Fish Shellfish Immunol.* 2016 Aug;55:559-67. doi: 10.1016/j.fsi.2016.06.033. Epub 2016 Jun 23. PMID: 27346157.
159. Цыбульская О.В., Жаркин Н.А., Бурова Н.А. Современные аспекты профилактики ранней потери беременности // *Лекарственный вестник.* 2012; 6(8):3-7.
160. Casart Y., Tarrazzi K., Camejo M. Serum levels of interleukin-6, interleukin-1 β and human chorionic gonadotropin in pre-eclamptic and normal pregnancy // *Gynecol. Endocrinol.* 2007;23(5): 300-20. DOI:10.1080/09513590701327638
161. Salamonsen L.A. Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation // *Semin. Reprod. Med.* 2007; 25(6):437-44
162. Громова А. Ю. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека / А. Ю. Громова, А. С. Симбирцев // *Цитокины и воспаление.* – 2005. – Т. 4. – № 2. – С. 3–12.
163. Zaghlol HM, Abdelshafy S, Mohamed RA, Abdelaleem EA. Tumour necrosis factor gene polymorphisms in Egyptian patients with rheumatoid arthritis and their relation to disease activity and severity. *Cent Eur J Immunol.* 2019;44(3):277-284. doi: 10.5114/ceji.2019.89602. Epub 2019 Sep 30. PMID: 31933537; PMCID: PMC6953370.
164. Jakovljevic A, Nikolic N, Carkic J, Beljic-Ivanovic K, Soldatovic I, Miletic M, Andric M, Milasin J. Association of polymorphisms in TNF- α , IL-1 β , GSTM and GSTT genes with apical periodontitis: is there a link with herpesviral infection? *Int Endod J.* 2020 Jul;53(7):895-904. doi: 10.1111/iej.13298. Epub 2020 Apr 20. PMID: 32216135.
165. Llanos C, Soto L, Sabugo F, Bastías MJ, Salazar L, Aguillón JC, Cuchacovich M. Papel de los polimorfismos -238 y -308 del promotor del factor de necrosis tumoral alfa en la patogenia y respuesta al tratamiento anti-factor de necrosis tumoral alfa en artritis reumatoide [The influence of -238 and -308 TNF alpha polymorphisms on the pathogenesis and response to treatment in rheumatoid

- arthritis]. Rev Med Chil. 2005 Sep;133(9):1089-95. Spanish. doi: 10.4067/s0034-98872005000900014. Epub 2005 Nov 9. PMID: 16311703.
166. Ишбулатова Н.И., Васильева Э.М., Николаев И.В., Горбунова В.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОГО СЕМЕЙСТВА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 И ЯДЕРНОГО ФАКТОРА-kB ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ // Биомика, 2015, Том 7, № 1, 40-44
 167. Ю.С. Манько, А. В. Понасенко, А.С. Головкин Определение ассоциаций интронного полиморфизма гена IL1Ra с ревматическим поражением клапанов сердца.// URL: http://www.rusnauka.com/19_AND_2013/Biologia/5_142650.doc.htm
 168. Дубаков А.В. Полиморфизм генов интерлейкина-4 и их связь с вентилиционной функцией легких, реактивностью бронхов и атопическим воспалением в семьях больных бронхиальной астмой тема диссертации и автореферата по ВАК РФ 14.00.43, 2005, Москва
 169. Е.В. ПОПОВА, И.С. КИСЕЛЕВ, А.Н. БОЙКО, С.А. СИВЕРЦЕВА, Н.А. МАЛКОВА, Д.С. КОРОБКО, Н.Н. СПИРИН, Д.С. КАСАТКИН, А.В. КАРАЕВА, Е.Л. ТУРОВА, Н.Н. СПИРИНА, Л.И. ВОЛКОВА, Н.М. БАУЛИНА, В.В. БАШИНСКАЯ, О.Г. КУЛАКОВА, О.О. ФАВОРОВА Полиморфные варианты генов иммунного ответа как факторы риска развития первично-прогрессирующего рассеянного склероза // ЖУРНАЛ НЕВРОЛОГИИ И ПСИХИАТРИИ, 2017; Вып. 2 С.14-21
 170. Moura E, Mattar R, de Souza E, et al. Inflammatory cytokine gene polymorphisms and spontaneous preterm birth. J Reprod Immunol 2009;80:115-21.
 171. Cui J, Wang F, Zhang X, Liu L. Maternal and fetal IL1RN polymorphisms and the risk of preterm delivery: a meta-analysis. J Matern Fetal Neonatal Med. 2015 Jan;28(1):100-5. doi: 10.3109/14767058.2014.900040. Epub 2014 Apr 9. PMID: 24588341.

172. McDonald D. Toll-like receptors: Roles in disease and therapy// URL: https://www.uptodate.com/contents/toll-like-receptors-roles-in-disease-and-therapy?search=Toll-like%20receptors:%20Roles%20in%20disease%20and%20therapy&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
173. Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388:621.
174. Schnare M, Rollinghoff M, Qureshi S. Toll-like receptors: sentinels of host defence against bacterial infection. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 139:75.
175. Kaisho T, Akira S. Toll-like receptor function and signaling. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:979.
176. Beutler BA. TLRs and innate immunity. *Blood* 2009; 113:1399.
177. Потапнев М.П Иммунные механизмы стерильного воспаления // Иммунология, Том: 36Номер: 5 Год: 2015 Страницы: 312-318
178. Mayer C, Adam M, Glashauser L, Dietrich K, Schwarzer JU, Köhn FM, Strauss L, Welter H, Poutanen M, Mayerhofer A. Sterile inflammation as a factor in human male infertility: Involvement of Toll like receptor 2, biglycan and peritubular cells. *Sci Rep.* 2016 Nov 16;6:37128. doi: 10.1038/srep37128. PMID: 27849015; PMCID: PMC5111051.
179. Thoma-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O, et al. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science* 2001; 291:1544.
180. Aliprantis AO, Yang RB, Weiss DS, et al. The apoptotic signaling pathway activated by Toll-like receptor-2. *EMBO J* 2000; 19:3325.
181. Horsmans Y, Berg T, Desager JP, Mueller T, Schott E, Fletcher SP, Steffy KR, Bauman LA, Kerr BM, Averett DR. Isatoribine, an agonist of TLR7, reduces plasma virus concentration in chronic hepatitis C infection. *Hepatology.* 2005 Sep;42(3):724-31. doi: 10.1002/hep.20839. PMID: 16116638.
182. Macedo AB, Novis CL, Bosque A. Targeting Cellular and Tissue HIV Reservoirs With Toll-Like Receptor Agonists. *Front Immunol.* 2019 Oct

- 15;10:2450. doi: 10.3389/fimmu.2019.02450. PMID: 31681325; PMCID: PMC6804373.
183. Белоусова В.С., Стрижаков А.Н., Тимохина Е.В., Богомазова И.М., Пицхелаури Е.Г., Емельянова Е.С. Преждевременные роды: как управлять токолизом. *Акушерство и гинекология*. 2019. № 6. С. 102-107.
 184. Leitner GR, Wenzel TJ, Marshall N, Gates EJ, Klegeris A. Targeting toll-like receptor 4 to modulate neuroinflammation in central nervous system disorders. *Expert Opin Ther Targets*. 2019 Oct;23(10):865-882. doi: 10.1080/14728222.2019.1676416. Epub 2019 Oct 20. PMID: 31580163.
 185. Surendran N, Simmons A, Pichichero ME. TLR agonist combinations that stimulate Th type I polarizing responses from human neonates. *Innate Immun*. 2018 May;24(4):240-251. doi: 10.1177/1753425918771178. Epub 2018 Apr 19. PMID: 29673285; PMCID: PMC6830928.
 186. Robertson SA, Wahid HH, Chin PY, Hutchinson MR, Moldenhauer LM, Keelan JA. Toll-like Receptor-4: A New Target for Preterm Labour Pharmacotherapies? *Curr Pharm Des*. 2018;24(9):960-973. doi: 10.2174/1381612824666180130122450. PMID: 29384054.
 187. Ганковская О.А. Молекулярно-генетические механизмы врожденного иммунитета на уровне слизистых оболочек при патологии инфекционного генеза. \Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Москва - 2010
 188. Макаров О.В., Ковальчук Л.В., Ганковская Л.В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет. М.: Гэотар_медиа; 2007.
 189. Abrahams VM. Antagonizing toll-like receptors to prevent preterm labor. *Reprod Sci*. 2008 Feb;15(2):108-9. doi: 10.1177/1933719108314574
 190. Murphy SP, Hanna NN, Fast LD, Shaw SK, Berg G, Padbury JF, Romero R, Sharma S. Evidence for participation of uterine natural killer cells in the mechanisms responsible for spontaneous preterm labor and delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2009 Mar;200(3):308.e1-9. doi: 10.1016/j.ajog.2008.10.043. Epub 2008 Dec 27. PMID: 19114277

191. Protonotariou E, Chrelias C, Kassanos D, Kapsambeli H, Trakakis E, Sarandakou A. Immune response parameters during labor and early neonatal life. *In Vivo*. 2010 Jan-Feb;24(1):117-23.
192. Salminen A, Paananen R, Vuolteenaho R, Metsola J, Ojaniemi M, Autio-Harmainen H, Hallman M. Maternal endotoxin-induced preterm birth in mice: fetal responses in toll-like receptors, collectins, and cytokines. *Pediatr Res*. 2008 Mar;63(3):280-6. doi: 10.1203/PDR.0b013e318163a8b2 PMID: 18287966
193. Thaxton JE, Nevers TA, Sharma S. TLR-mediated preterm birth in response to pathogenic agents. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2010;2010:378472. doi: 10.1155/2010/378472. Epub 2010 Aug 23. PMID: 20827416; PMCID: PMC2933901.
194. Mares D, Simoes JA, Novak RM, Spear GT. TLR2-mediated cell stimulation in bacterial vaginosis. *Journal of Reproductive Immunology*. 2008;77(1):91–99.
195. Murphy SP, Hanna NN, Fast LD, et al. Evidence for participation of uterine natural killer cells in the mechanisms responsible for spontaneous preterm labor and delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2009;3(308):1–9.
196. Patni S., Flynn P., Wynen L.P., Seager A.L., Morgan G., White J.O., Thornton C.A. An introduction to Toll-like receptors and their possible role in the initiation of labour // *BJOG*. – V.114 (11). – P.1326–1334.
197. Green DR, Llamby F. Cell Death Signaling. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2015 Dec 1;7(12):a006080. doi: 10.1101/cshperspect.a006080. PMID: 26626938; PMCID: PMC4665079.
198. D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int*. 2019 Jun;43(6):582-592. doi: 10.1002/cbin.11137. Epub 2019 Apr 25. PMID: 30958602.
199. Ding J, Yin T, Yan N, Cheng Y, Yang J. FasL on decidual macrophages mediates trophoblast apoptosis: A potential cause of recurrent miscarriage. *Int J Mol Med*. 2019 Jun;43(6):2376-2386. doi: 10.3892/ijmm.2019.4146. Epub 2019 Mar 26. PMID: 30942389; PMCID: PMC6488168.

200. Mo HQ, Tian FJ, Li X, Zhang J, Ma XL, Zeng WH, Lin Y, Zhang Y. ANXA7 regulates trophoblast proliferation and apoptosis in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2019 Dec;82(6):e13183. doi: 10.1111/aji.13183. Epub 2019 Sep 28. PMID: 31446642.
201. Burton GJ, Jauniaux E. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2018 Feb;218(2S):S745-S761. doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.577. PMID: 29422210.
202. Negara KS, Prajawati NLLC, Surya GP, Suhendro S, Arijana K, Tunas K. Protein 53 (P53) Expressions and Apoptotic Index of Amniotic Membrane Cells in the Premature Rupture of Membranes. *Open Access Maced J Med Sci*. 2018 Nov 20;6(11):1986-1992. doi: 10.3889/oamjms.2018.465. PMID: 30559848; PMCID: PMC6290400.
203. George RB, Kalich J, Yonish B, Murtha AP. Apoptosis in the chorion of fetal membranes in preterm premature rupture of membranes. *Am J Perinatol*. 2008 Jan;25(1):29-32. doi: 10.1055/s-2007-1004828. Epub 2007 Dec 12. PMID: 18075963.
204. Jaiswal MK, Agrawal V, Mallers T, Gilman-Sachs A, Hirsch E, Beaman KD. Regulation of apoptosis and innate immune stimuli in inflammation-induced preterm labor. *J Immunol*. 2013 Dec 1;191(11):5702-13. doi: 10.4049/jimmunol.1301604. Epub 2013 Oct 25. PMID: 24163412; PMCID: PMC3870276.
205. Akhtar F, Bokhari SRA. Apoptosis. 2020 May 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan–. PMID: 29762996.
206. Mohamed MS, Bishr MK, Almutairi FM, Ali AG. Inhibitors of apoptosis: clinical implications in cancer. *Apoptosis*. 2017 Dec;22(12):1487-1509. doi: 10.1007/s10495-017-1429-4. PMID: 29067538.
207. Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Fertil*. 2001 Jul-Aug;29(7-8):518-22. doi: 10.1016/s1297-9589(01)00180-1. PMID: 11575148.

208. Rubartelli A, Lotze MT (October 2007). "Inside, outside, upside down: damage-associated molecular-pattern molecules (DAMPs) and redox". *Trends in Immunology*. 28 (10): 429–36. doi:10.1016/j.it.2007.08.004. PMID 17845865
209. Баев О.Р., Тысячный О.В., Климов В.А., Балашов И.С. Клинико-экономическая эффективность теста определения плацентарного α-микроглобулина-1 и клинической диагностики преждевременного разрыва плодных оболочек // *Акушерство и гинекология*. 2019. № 8. С. 71-77.
210. Серов В.Н. Пути к увеличению рождаемости в РФ // В сборнике: Новые технологии в акушерстве и гинекологии. Сборник научных трудов Дальневосточной региональной научно-практической конференции. Отв. ред. Пестрикова Т.Ю. 2018. С. 7-9.
211. Атозибин. URL: <https://www.vidal.ru/drugs/atosiban>
212. Crowther CA, Brown J, McKinlay CJ, Middleton P. Magnesium sulphate for preventing preterm birth in threatened preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014 Aug 15;(8):CD001060. doi: 10.1002/14651858.CD001060.pub2. PMID: 25126773.
213. Shepherd E, Salam RA, Middleton P, Makrides M, McIntyre S, Badawi N, Crowther CA. Antenatal and intrapartum interventions for preventing cerebral palsy: an overview of Cochrane systematic reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Aug 8;8(8):CD012077. doi: 10.1002/14651858.CD012077.pub2. PMID: 28786098; PMCID: PMC6483544.
214. Yallampalli C, Dong YL, Gangula PR, Fang L Role and regulation of nitric oxide in the uterus during pregnancy and parturition. *J Soc Gynecol Investig*. 1998;5(2):58
215. Smith GN, Walker MC, McGrath MJ Randomised, double-blind, placebo controlled pilot study assessing nitroglycerin as a tocolytic. *Br J Obstet Gynaecol*. 1999;106(7):736
216. Lees CC, Lojcono A, Thompson C, Danti L, Black RS, Tanzi P, White IR, Campbell S. Glyceryl trinitrate and ritodrine in tocolysis: an international

- multicenter randomized study. GTN Preterm Labour Investigation Group. *Obstet Gynecol.* 1999;94(3):403
217. WHO Recommendations on Antenatal Care for a Positive Pregnancy Experience. Geneva: World Health Organization; 2016. PMID: 28079998.
 218. Di Renzo G. C. et al. Mikhailov A1, Papantoniou N, Radzinsky V, Shennan A, Ville Y, Wielgos M, Visser GHA. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal Medicine // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2017. – T. 30. – C. 2011-2030
 219. American College of Obstetricians and Gynecologists; Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. ACOG practice bulletin no. 127: Management of preterm labor. *Obstet Gynecol.* 2012 Jun;119(6):1308-17. doi: 10.1097/AOG.0b013e31825af2f0. PMID: 22617615.
 220. Flenady V, Reinebrant HE, Liley HG, Tambimuttu EG, Papatsonis DN. Oxytocin receptor antagonists for inhibiting preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Jun 6;(6):CD004452. doi: 10.1002/14651858.CD004452.pub3. PMID: 24903678.
 221. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Obstetric Practice Society for Maternal-Fetal Medicine. Committee Opinion No. 573: Magnesium sulfate use in obstetrics. *Obstet Gynecol.* 2013 Sep;122(3):727-8. doi: 10.1097/01.AOG.0000433994.46087.85. PMID: 23963425.
 222. Reinebrant HE, Pileggi-Castro C, Romero CL, Dos Santos RA, Kumar S, Souza JP, Flenady V. Cyclo-oxygenase (COX) inhibitors for treating preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015 Jun 5;2015(6):CD001992. doi: 10.1002/14651858.CD001992.pub3. PMID: 26042617; PMCID: PMC7068172.
 223. Hammers AL, Sanchez-Ramos L, Kaunitz AM. Antenatal exposure to indomethacin increases the risk of severe intraventricular hemorrhage, necrotizing enterocolitis, and periventricular leukomalacia: a systematic review with metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212:505.e1.

224. Moise KJ Jr. Effect of advancing gestational age on the frequency of fetal ductal constriction in association with maternal indomethacin use. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168:1350.
225. Zuckerman H, Shalev E, Gilad G, Katzuni E. Further study of the inhibition of premature labor by indomethacin. Part I. *J Perinat Med* 1984; 12:19.
226. Dudley DK, Hardie MJ. Fetal and neonatal effects of indomethacin used as a tocolytic agent. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151:181.
227. Niebyl JR, Witter FR. Neonatal outcome after indomethacin treatment for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 1986; 155:747.
228. Respondek M, Weil SR, Huhta JC. Fetal echocardiography during indomethacin treatment. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:86.
229. Clive DM, Stoff JS. Renal syndromes associated with nonsteroidal antiinflammatory drugs. *N Engl J Med* 1984; 310:563.
230. Gordon MC, Samuels P. Indomethacin. *Clin Obstet Gynecol* 1995; 38:697.
231. Sandruck JC, Grobman WA, Gerber SE. The effect of short-term indomethacin therapy on amniotic fluid volume. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 192:1443.
232. Morales WJ, Madhav H. Efficacy and safety of indomethacin compared with magnesium sulfate in the management of preterm labor: a randomized study. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169:97.
233. Savage AH, Anderson BL, Simhan HN. The safety of prolonged indomethacin therapy. *Am J Perinatol* 2007; 24:207.
234. Баев О.Р., Васильченко О.Н., Карапетян А.О. Современный токолиз и побочные эффекты токолитиков //Гинекология. 2018. Т. 20. № 2. С. 46-50.
235. Norwitz ER, Robinson JN, Challis JR. The control of labor. *N Engl J Med* 1999; 341:660.
236. Salafia CM, Vogel CA, Vintzileos AM, et al. Placental pathologic findings in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 165:934.

237. Klein LL, Gibbs RS. Use of microbial cultures and antibiotics in the prevention of infection-associated preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1493.
238. Goldenberg RL, Andrews WW, Hauth JC. Choriodecidual infection and preterm birth. *Nutr Rev* 2002; 60:S19.
239. Valkenburg-van den Berg AW, Sprij AJ, Dekker FW, et al. Association between colonization with Group B Streptococcus and preterm delivery: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2009; 88:958.
240. Andrews WW, Goldenberg RL, Mercer B, et al. The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:662.
241. Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1737.
242. Meis PJ, Goldenberg RL, Mercer B, et al. The preterm prediction study: significance of vaginal infections. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173:1231.
243. Bretelle F, Rozenberg P, Pascal A, et al. High *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* vaginal loads are associated with preterm birth. *Clin Infect Dis* 2015; 60:860.
244. Watson-Jones D, Changalucha J, Gumodoka B, et al. Syphilis in pregnancy in Tanzania. I. Impact of maternal syphilis on outcome of pregnancy. *J Infect Dis* 2002; 186:940.
245. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, et al. *Trichomonas vaginalis* as a cause of perinatal morbidity: A systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis* 2014; 41:369.
246. Sweeney EL, Kallapur SG, Gisslen T, et al. Placental Infection With *Ureaplasma* species Is Associated With Histologic Chorioamnionitis and Adverse

- Outcomes in Moderately Preterm and Late-Preterm Infants. *J Infect Dis* 2016; 213:1340.
247. Collins S, Ramsay M, Slack MP, et al. Risk of invasive *Haemophilus influenzae* infection during pregnancy and association with adverse fetal outcomes. *JAMA* 2014; 311:1125.
 248. Leitich H, Kiss H. Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2007; 21:375.
 249. Thinkhamrop J, Hofmeyr GJ, Adetoro O, et al. Antibiotic prophylaxis during the second and third trimester to reduce adverse pregnancy outcomes and morbidity. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; :CD002250.
 250. Jack D Sobel JD Bacterial vaginosis: Treatment. URL: https://www.uptodate.com/contents/bacterial-vaginosis-treatment?search=Bacterial%20vaginosis:%20Treatment%20Author:%20Jack%20D%20Sobel,%20MD&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
 251. Caro-Patón T, Carvajal A, Martin de Diego I, et al. Is metronidazole teratogenic? A meta-analysis. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44:179.
 252. Macones GA, Parry S, Elkousy M, et al. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1504.
 253. US Preventive Services Task Force, Owens DK, Davidson KW, Krist AH, Barry MJ, Cabana M, Caughey AB, Donahue K, Doubeni CA, Epling JW Jr, Kubik M, Ogedegbe G, Pbert L, Silverstein M, Simon MA, Tseng CW, Wong JB. Screening for Bacterial Vaginosis in Pregnant Persons to Prevent Preterm Delivery: US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1286-1292. doi: 10.1001/jama.2020.2684. PMID: 32259236.

254. Committee on Practice Bulletins—Obstetrics, The American College of Obstetricians and Gynecologists. Practice bulletin no. 130: prediction and prevention of preterm birth. *Obstet Gynecol* 2012; 120:964. Reaffirmed 2018.
255. Wadhawan R, Vohr BR, Fanaroff AA, Perritt RL, Duara S, Stoll BJ, Goldberg R, Laptook A, Poole K, Wright LL, Oh W. Does labor influence neonatal and neurodevelopmental outcomes of extremely-low-birth-weight infants who are born by cesarean delivery? *Am J Obstet Gynecol*. 2003 Aug;189(2):501-6. doi: 10.1067/s0002-9378(03)00360-0. PMID: 14520225.
256. Ахмадеев Н.Р., Фаткуллин И.Ф. Извлечение плодов в целом плодном пузыре при абдоминальном родоразрешении двоен // Таврический медико-биологический вестник, 2012, том 15, №2, ч. 1 (58)
257. Christian EA, Jin DL, Attenello F, Wen T, Cen S, Mack WJ, Krieger MD, McComb JG. Trends in hospitalization of preterm infants with intraventricular hemorrhage and hydrocephalus in the United States, 2000-2010. *J Neurosurg Pediatr*. 2016 Mar;17(3):260-9. doi: 10.3171/2015.7.PEDS15140. Epub 2015 Nov 6. PMID: 26544084.
258. Mercer BM. Mode of delivery for periviable birth. *Semin Perinatol*. 2013;37:417–421.
259. Wylie BJ, Davidson LL, Batra M, et al. Method of delivery and neonatal outcome in very low-birthweight vertex-presenting fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198:640.e1–647.
260. Gravenhorst JB, Schreuder AM, Veen S, Brand R, VerlooveVanhorick SP, Verweij RA, et al. Breech delivery in very preterm and very low birthweight infants in The Netherlands. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* 1993;100(5):411-5
261. Cohen M, Carson BS. Respiratory morbidity benefit of awaiting onset of labor after elective cesarean section. *Obstetrics & Gynecology* 1985;65(6):818-24
262. Hansen AK, Wisborg K, Uldbjerg N, Henriksen TB. Risk of respiratory morbidity in term infants delivered by elective caesarean section: cohort study. *BMJ* 2008;336(7635):85-7.

263. Последствия перинатального поражения центральной нервной системы с синдромом мышечного гипотонуса \ Клинические рекомендации
264. Department of Health, Welsh ONice, Scottish ONice Department of Health, Department of Health and Social Services NI. In: Rubery E, Bourdillon P, Hibbard B editor(s). Report on Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. London: HMSO, 1996.
265. Petitti D. Maternal mortality and morbidity in cesarean section. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 1985;28(4):763-9.
266. Villar J, Carroli G, Zavaleta N, Donner A, Wojdyla D, Faundes A, et al. Maternal and neonatal individual risks and benefits associated with caesarean delivery: multicentre prospective study. *BMJ* 2007;335(7628):1025
267. Yang Q, Wen SW, Oppenheimer L, Chen XK, Black D, Gao J, Walker MC. Association of caesarean delivery for first birth with placenta praevia and placental abruption in second pregnancy. *BJOG*. 2007 May;114(5):609-13. doi: 10.1111/j.1471-0528.2007.01295.x. Epub 2007 Mar 12. PMID: 17355267.
268. Wylie BJ, Davidson LL, Batra M, Reed SD. Method of delivery and neonatal outcome in very low-birthweight vertex-presenting fetuses. *Am J Obstet Gynecol*. 2008 Jun;198(6):640.e1-7; discussion e1-4. doi: 10.1016/j.ajog.2007.12.038. Epub 2008 Mar 7. PMID: 18313634.
269. Humberg A, Härtel C, Paul P, Hanke K, Bossung V, Hartz A, Fasel L, Rausch TK, Rody A, Herting E, Göpel W; German Neonatal Network (GNN). Delivery mode and intraventricular hemorrhage risk in very-low-birth-weight infants: Observational data of the German Neonatal Network. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2017 May;212:144-149. doi: 10.1016/j.ejogrb.2017.03.032. Epub 2017 Mar 22. PMID: 28363188.
270. Di Renzo GC, Cabero Roura L, Facchinetti F, Helmer H, Hubinont C, Jacobsson B, Jørgensen JS, Lamont RF, Mikhailov A, Papantoniou N, Radzinsky V, Shennan A, Ville Y, Wielgos M, Visser GHA. Preterm Labor and Birth Management: Recommendations from the European Association of Perinatal

- Medicine. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Sep;30(17):2011-2030. doi: 10.1080/14767058.2017.1323860. PMID: 28482713.
271. Andrikopoulou M, Purisch SE, Handal-Orefice R, Gyamfi-Bannerman C. Low-dose aspirin is associated with reduced spontaneous preterm birth in nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Oct;219(4):399.e1-399.e6. doi: 10.1016/j.ajog.2018.06.011. Epub 2018 Jun 18. PMID: 29913174.
 272. Luo G, Abrahams VM, Tadesse S, et al. Progesterone inhibits basal and TNF-alpha-induced apoptosis in fetal membranes: a novel mechanism to explain progesterone-mediated prevention of preterm birth. *Reprod Sci* 2010; 17:532.
 273. Kumar D, Springel E, Moore RM, et al. Progesterone inhibits in vitro fetal membrane weakening. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 213:520.e1.
 274. Dodd JM, Jones L, Flenady V, et al. Prenatal administration of progesterone for preventing preterm birth in women considered to be at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; :CD004947.
 275. Jarde A, Lutsiv O, Beyene J, McDonald SD. Vaginal progesterone, oral progesterone, 17-OHPC, cerclage, and pessary for preventing preterm birth in at-risk singleton pregnancies: an updated systematic review and network meta-analysis. *BJOG* 2019; 126:556.
 276. Romero R, Conde-Agudelo A, Da Fonseca E, et al. Vaginal progesterone for preventing preterm birth and adverse perinatal outcomes in singleton gestations with a short cervix: a meta-analysis of individual patient data. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 218:161.
 277. Petrini JR, Callaghan WM, Klebanoff M, et al. Estimated effect of 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate on preterm birth in the United States. *Obstet Gynecol* 2005; 105:267.
 278. da Fonseca EB, Bittar RE, Carvalho MH, Zugaib M. Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188:419.

279. Meis PJ, Klebanoff M, Thom E, et al. Prevention of recurrent preterm delivery by 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate. *N Engl J Med* 2003; 348:2379.
280. Norman JE, Marlow N, Messow CM, et al. Vaginal progesterone prophylaxis for preterm birth (the OPPTIMUM study): a multicentre, randomised, double-blind trial. *Lancet* 2016; 387:2106.
281. Kuon RJ, Shi SQ, Maul H, et al. Pharmacologic actions of progestins to inhibit cervical ripening and prevent delivery depend on their properties, the route of administration, and the vehicle. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:455.e1.
282. O'Sullivan MD, Hehir MP, O'Brien YM, Morrison JJ. 17 alpha-hydroxyprogesterone caproate vehicle, castor oil, enhances the contractile effect of oxytocin in human myometrium in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:453.e1.
283. Caritis SN, Venkataramanan R, Thom E, et al. Relationship between 17-alpha hydroxyprogesterone caproate concentration and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2014; 210:128.e1.
284. Manuck TA, Esplin MS, Biggio J, et al. Predictors of response to 17-alpha hydroxyprogesterone caproate for prevention of recurrent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 214:376.e1.
285. Manuck TA, Stoddard GJ, Fry RC, et al. Nonresponse to 17-alpha hydroxyprogesterone caproate for recurrent spontaneous preterm birth prevention: clinical prediction and generation of a risk scoring system. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215:622.e1.
286. Romero R, Yeo L, Chaemsaitong P, Chaiworapongsa T, Hassan SS. Progesterone to prevent spontaneous preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2014 Feb;19(1):15-26. doi: 10.1016/j.siny.2013.10.004. Epub 2013 Dec 5. PMID: 24315687; PMCID: PMC3934502.
287. Errol R Norwitz E.R. Progesterone supplementation to reduce the risk of spontaneous preterm birth. URL: <https://www.uptodate.com/contents/progesterone-supplementation-to-reduce-the->

risk-of-spontaneous-preterm-

birth?search=Progesterone%20supplementation%20to%20reduce%20the%20risk%20of%20spontaneous%20preterm%20birth&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1

288. Owen J, Yost N, Berghella V, et al. Can shortened midtrimester cervical length predict very early spontaneous preterm birth? *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:298.
289. Berghella V, Roman A, Daskalakis C, et al. Gestational age at cervical length measurement and incidence of preterm birth. *Obstet Gynecol* 2007; 110:311.
290. Berghella V, Rafael TJ, Szychowski JM, et al. Cerclage for short cervix on ultrasonography in women with singleton gestations and previous preterm birth: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2011; 117:663.
291. Ludmir J. Sonographic detection of cervical incompetence. *Clin Obstet Gynecol* 1988; 31:101.
292. Society for Maternal-Fetal Medicine (SMFM). Electronic address: pubs@smfm.org, McIntosh J, Feltovich H, et al. The role of routine cervical length screening in selected high- and low-risk women for preterm birth prevention. *Am J Obstet Gynecol* 2016; 215:B2.
293. FIGO Working Group On Best Practice In Maternal-Fetal Medicine, International Federation of Gynecology and Obstetrics. Best practice in maternal-fetal medicine. *Int J Gynaecol Obstet* 2015; 128:80.
294. Goldenberg RL, Cliver SP, Bronstein J, et al. Bed rest in pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994; 84:131.
295. Sciscione AC. Maternal activity restriction and the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202:232.e1.
296. Sosa CG, Althabe F, Belizán JM, Bergel E. Bed rest in singleton pregnancies for preventing preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 2015; :CD003581.
297. Crowther CA, Han S. Hospitalisation and bed rest for multiple pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; :CD000110.

298. Abdul Sultan A, West J, Tata LJ, et al. Risk of first venous thromboembolism in pregnant women in hospital: population based cohort study from England. *BMJ* 2013; 347:f6099.
299. Maloni JA, Park S. Postpartum symptoms after antepartum bed rest. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2005; 34:163.
300. Promislow JH, Hertz-Picciotto I, Schramm M, et al. Bed rest and other determinants of bone loss during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:1077.
301. Курцер М.А., Азиев О.В., Панин А.В., Егикян Н.М., Болдина Е.Б., Грабовская А.А. Лапароскопический серкляж при истмико-цервикальной недостаточности, вызванной ранее перенесенными операциями на шейке матки // *Акушерство и гинекология*. 2017. № 5. С. 58-62.
302. Савельева Г.М., Курцер М.А., Панина О.Б., Сичинава Л.Г., Алексеенкова М.В., Коноплянников А.Г., Латышкевич О.А. Прегравидарная подготовка в профилактике преждевременных родов. // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. 2017. Т. 16. № 6. С. 24-29.
303. Roberge S, Nicolaides KH, Demers S, Villa P, Bujold E. Prevention of perinatal death and adverse perinatal outcome using low-dose aspirin: a meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013 May;41(5):491-9. doi: 10.1002/uog.12421. PMID: 23362106.
304. Andrikopoulou M, Purisch SE, Handal-Orefice R, Gyamfi-Bannerman C. Low-dose aspirin is associated with reduced spontaneous preterm birth in nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 219:399.e1
305. Hoffman MK, Goudar SS, Kodkany BS, Metgud M, Somannavar M, Okitawutshu J, Lokangaka A, Tshefu A, Bose CL, Mwapule A, Mwenechanya M, Chomba E, Carlo WA, Chicuy J, Figueroa L, Garces A, Krebs NF, Jessani S, Zehra F, Saleem S, Goldenberg RL, Kurhe K, Das P, Patel A, Hibberd PL, Achieng E, Nyongesa P, Esamai F, Liechty EA, Goco N, Hemingway-Foday J, Moore J, Nolen TL, McClure EM, Koso-Thomas M, Miodovnik M, Silver R, Derman RJ; ASPIRIN Study Group. Low-dose aspirin for the prevention of preterm delivery in nulliparous women with a singleton pregnancy (ASPIRIN): a randomised, double-

- blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2020 Jan 25;395(10220):285-293. doi: 10.1016/S0140-6736(19)32973-3. Erratum in: *Lancet*. 2020 Mar 21;395(10228):e53. PMID: 31982074; PMCID: PMC7168353.
306. Visser L, de Boer MA, de Groot CJM, Nijman TAJ, Hemels MAC, Bloemenkamp KWM, Bosmans JE, Kok M, van Laar JO, Sueters M, Scheepers H, van Drongelen J, Franssen MTM, Sikkema JM, Duvekot HJJ, Bekker MN, van der Post JAM, Naaktgeboren C, Mol BWJ, Oudijk MA. Low dose aspirin in the prevention of recurrent spontaneous preterm labour - the APRIL study: a multicenter randomized placebo controlled trial. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2017 Jul 14;17(1):223. doi: 10.1186/s12884-017-1338-0. PMID: 28705190; PMCID: PMC5513323.
307. Caritis S. Management of pregnant women after resolution of an episode of acute idiopathic preterm labor. URL: https://www.uptodate.com/contents/management-of-pregnant-women-after-resolution-of-an-episode-of-acute-idiopathic-preterm-labor?search=Management%20of%20pregnant%20women%20after%20resolution%20of%20an%20episode%20of%20acute%20idiopathic%20preterm%20labor&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1
308. Simcox R, Sin WT, Seed PT, et al. Prophylactic antibiotics for the prevention of preterm birth in women at risk: a meta-analysis. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2007; 47:368.
309. van den Broek NR, White SA, Goodall M, et al. The APPLe study: a randomized, community-based, placebo-controlled trial of azithromycin for the prevention of preterm birth, with meta-analysis. *PLoS Med* 2009; 6:e1000191.
310. Pratcorona L, Goya M, Merced C, et al. Cervical pessary to reduce preterm birth <34 weeks of gestation after an episode of preterm labor and a short cervix: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 219:99.e1.
311. Makhoul MM, Abd Elhamid SM Expression of IL4 (VNTR intron 3) and IL10 (-627) Genes Polymorphisms in Childhood Immune Thrombocytopenic

Purpura// Lab Med Summer 2014;45:211-219 DOI:
10.1309/LMB0QC5T1RXTTRZQ

312. Ведение новорожденных с респираторным дистресс-синдромом. Клинические рекомендации под редакцией академика РАН Н.Н. Володина, Москва, 2016
313. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с последствиями перинатального поражения центральной нервной системы с диффузной мышечной гипотонией под редакцией академика РАН А.А. Баранов, Москва, 2015
314. Bassler D, Stoll BJ, Schmidt B, Asztalos EV, Roberts RS, Robertson CM, Sauve RS; Trial of Indomethacin Prophylaxis in Preterms Investigators. Using a count of neonatal morbidities to predict poor outcome in extremely low birth weight infants: added role of neonatal infection. *Pediatrics*. 2009 Jan;123(1):313-8. doi: 10.1542/peds.2008-0377. PMID: 19117897; PMCID: PMC2829863.
315. Schmidt B, Roberts RS, Davis PG, Doyle LW, Asztalos EV, Opie G, Bairam A, Solimano A, Arnon S, Sauve RS; Caffeine for Apnea of Prematurity (CAP) Trial Investigators; Caffeine for Apnea of Prematurity CAP Trial Investigators. Prediction of Late Death or Disability at Age 5 Years Using a Count of 3 Neonatal Morbidities in Very Low Birth Weight Infants. *J Pediatr*. 2015 Nov;167(5):982-6.e2. doi: 10.1016/j.jpeds.2015.07.067. Epub 2015 Aug 28. PMID: 26318030.
316. Bitner A., Kalinka J. IL-1 β , IL-6 promoter, TNF- α promoter and IL-1RA gene polymorphisms and the risk of preterm delivery due to preterm premature rupture of membranes in a population of Polish women // *J Arch Med Sci*. 2010 Aug 30; 6(4): 552–557. doi: 10.5114/aoms.2010.14467.
317. Heinzmann A, Mailaparambil B, Mingirulli N, et al. Association of interleukin-13/-4 and toll-like receptor 10 with preterm births. *Neonatology* 2009;96:175-81.
318. Genç MR, Gerber S, Nesin M, Witkin SS. Polymorphism in the interleukin-1 gene complex and spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2002;187:157–63

319. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Chasen ST, Perni SC, Witkin SS. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and multifetal pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:911–4. doi: 10.5114/aoms.2010.14467
320. Murtha AP, Nieves A, Hauser ER, et al. Association of maternal IL-1 receptor antagonist intron 2 gene polymorphism and preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:1249–53.
321. Kalish RB, Vardhana S, Gupta M, Perni SC, Witkin SS. Interleukin-4 and -10 gene polymorphisms and spontaneous preterm birth in multifetal gestations. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Mar;190(3):702-6. doi: 10.1016/j.ajog.2003.09.066. PMID: 15042002.
322. Moço NP1, Martin LF, Pereira AC, Polettini J, Peraçoli JC, Coelho KI, da Silva MG. Gene expression and protein localization of TLR-1, -2, -4 and -6 in amniochorion membranes of pregnancies complicated by histologic chorioamnionitis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 Nov;171(1):12-7. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.07.036.
323. Cappelletti M, Lawson MJ, Chan CC, Wilburn AN, Divanovic S. Differential outcomes of TLR2 engagement in inflammation-induced preterm birth. *J Leukoc Biol.* 2018 Mar;103(3):535-543. doi: 10.1002/JLB.3MA0717-274RR.
324. Chin PY, Dorian CL et al. Novel Toll-like receptor-4 antagonist (+)-naloxone protects mice from inflammation-induced preterm birth. *Sci Rep.* 2016 Nov 7;6:36112. doi: 10.1038/srep36112
325. Виноградова И.В, Белова А.Н., Игнатъева Е.Н., Краснов М.В., Емельянова Н.Н. ДЫХАТЕЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ С ЭНМТ И ОНМТ // Вестник современной клинической медицины, 2014
326. Stoll B. J. et al. Neonatal Outcomes of Extremely Preterm Infants from the NICHD Neonatal Research Network // *Pediatrics.* 2010. Vol. 126, N 3. P. 443–456.
327. Zeitlin J., Ancel P.-I. Interpreting data on the health outcomes of extremely preterm babies. *Arch. Dis.Child. Fetal Neonatal Ed.* 2011.

328. Subramanian S., Rosencrantz T. Extremely Low Birth Weight Infant. 2011.
URL: <http://emedicine.medscape.com/article/979717-overview#showall>