

КАГАНОВА МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫЙ РАЗРЫВ ПЛОДНЫХ ОБОЛОЧЕК
ПРИ ДОНОШЕННОЙ БЕРЕМЕННОСТИ: ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА,
ПРОГНОЗИРОВАНИЕ, ОПТИМИЗАЦИЯ ТАКТИКИ ВЕДЕНИЯ
РОДОВ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

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

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Спиридонова Наталья Владимировна

Официальные оппоненты:

Каткова Надежда Юрьевна, доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФДПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации;

Кузнецова Ирина Всеволодовна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель генерального директора по научно-исследовательской работе Общества с ограниченной ответственностью «Витбиомед+»;

Мальцева Лариса Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры акушерства и гинекологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

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

Защита диссертации состоится «__» _____ 202_ года в __ часов на заседании диссертационного совета 21.2.061.04 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443079, г. Самара, пр. К. Маркса, 165 Б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171) и на сайте (<http://www.samsmu.ru/scientists/science/referats/>) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан «__» _____ 202_ года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук, доцент

Жирнов Виталий Александрович

Актуальность и степень проработанности проблемы

Преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) определяется как самопроизвольный разрыв мембраны перед началом родовой деятельности и происходит в 6–26,5 % доношенных беременностей, по данным отечественных и зарубежных авторов (Т. П. Князева, 2016; С. Diguisto, 2020; М. Мунярек и соавт., 2020). Вопросу ПРПО при доношенной и недоношенной беременности посвящено много работ. По запросу базы данных Pubmed за 5 лет представлен результат 687 исследований, по данным базы Elibrary.ru – 246 исследований, большинство из них посвящено особенностям патогенеза и тактике ведения при недоношенной беременности, тогда как при доношенной беременности в Elibrary.ru всего 17 публикаций, а в Pubmed – 54 публикации.

Основные аспекты патогенеза ПРПО как при доношенной, так и при недоношенной беременности пока до конца не изучены, нет четкого представления, едины механизмы ПРПО при недоношенной и доношенной беременности или это разные процессы. Существует версия, что ПРПО при доношенной беременности является физиологическим дублирующим механизмом начала родовой деятельности и, соответственно, не представляет значимых рисков ни для матери, ни для плода (А. Р. Гайдарова и соавт., 2022; С. Diguisto, 2020), с другой точки зрения, это осложнение родов ассоциировано с увеличением материнской и перинатальной заболеваемости (Р. Middleton и соавт., 2017).

Традиционно инфекционно-воспалительный фактор рассматривается как лидирующий в патогенезе преждевременного разрыва плодных оболочек (И. А. Алеев и соавт., 2011; М. Х. Афанасьева и соавт., 2014; Ю. Э. Доброхотова, и соавт., 2018; Т. П. Князева, 2016; В. Н. Кузьмин, 2018; S. Makieva и соавт., 2017), особую роль исследователи придают дисбиотическим изменениям влагалища (Ю. Э. Доброхотова, 2018), выявлению *Mycoplasma genitalium* (М. Kacarovsky и соавт., 2011; К. J. Oh и соавт., 2019), *Ureaplasma urealyticum* (О. В. Макаров и соавт., 2009). В настоящее время активно изучаются аспекты нормальной микробиоты фетоплацентарного комплекса, присутствие в этих структурах микробной ДНК подтверждено рядом исследований (L. Brubaker и соавт., 2017; Н. J. Chen и соавт., 2019), однако мнения о роли микробиоты в тканях плаценты, околоплодных водах и плодных оболочках расходятся. Одни авторы относят наличие микроорганизмов к маркерам внутриутробной инфекции (Р. Chaemsaitong и соавт., 2016; R. Romero и соавт., 2015), а другие считают это нормобиотой (С. А. Combs и соавт., 2015).

Ряд авторов указывают, что 40 % ПРПО не имеют инфекцию как причинный фактор (С. Diguisto, 2020; К. R. Theis и соавт., 2019). Появились публикации о том, что всему виной преждевременное старение плодных оболочек на фоне оксидативного стресса, который реализуется за счет факторов внешней среды (Е. Н. Dutta и соавт., 2016). В патогенезе ПРПО большое влияние оказывают генетически детерминированные функциональные и структурные свойства соединительной ткани, превалирующей в плодных оболочках (В. М. Болотских, 2018; S. M. R. Lannon и

соавт., 2014; S. Makieva и соавт., 2017; W. I. Wujcicka и соавт., 2021), как отдельный фактор риска рассматривают особенности метаболизма коллагена (О. В. Ремнева, 2021).

Важную роль в патогенезе ПРПО играет дисбаланс иммунологических показателей, которые участвуют как в реализации инфекционно-воспалительного генеза, так и при развитии асептического воспаления (R. Menon и соавт., 2020). При ПРПО и доношенной беременности доказаны повышение уровня провоспалительных цитокинов в сыворотке крови (В. М. Болотских, 2018) и околоплодных водах, рецепторов врожденного иммунитета (И. С. Сидорова, 2008; M. Kacerovsky и соавт., 2012; Ю. Э. Доброхотова и соавт., 2018); активация экспрессии матриксных металлопротеиназ (K. J. Oh, R. Romero и соавт., 2019; M. Tchirikov и соавт., 2018) и снижение их ингибиторов (Л. И. Дятлова, 2015), рост сосудистых факторов роста (Н. В. Низяева и соавт., 2019). По данным N. Gomez-Lopez (2019) в 13 % ПРПО причина так и остается невыявленной. Таким образом, проблема ПРПО при доношенной беременности полиэтиологична, и основные звенья патогенеза еще предстоит выявить (Z. Song и соавт., 2021; M. Litwiniuk и соавт., 2017).

Прогностические модели выявления факторов риска ПРПО и профилактики данного осложнения были предложены различными авторами (В. М. Болотских, 2018, S. Ghaffor и соавт., 2021), однако все они обладают низкой специфичностью, в разных работах приводятся кардинально противоположные факторы риска и оптимальные методы профилактики не разработаны (Т. П. Князева, 2016; C. Diguisto, 2020).

Несмотря на большое количество исследований, посвященных ПРПО, не существует единого мнения по вопросу ведения родов, осложненных ПРПО. Ряд авторов рекомендуют выполнение индукции родов с момента установления факта ПРПО, другие избирают выжидательную тактику (И. В. Игнатко и соавт., 2021; P. Middleton и соавт., 2018; C. Fankhauser и соавт., 2016; A. Yasmina и соавт., 2017). По мнению C. Diguisto (2020) наиболее безопасным считается время до 12 часов безводного периода, на взгляд A. Pintucci с соавт. (2014), A. H. Mirkuzie и соавт. (2016) и S. Gupta и соавт. (2020), увеличение продолжительности безводного периода до 48 часов не приводит к росту частоты клинического и гистологического хориоамнионита (ХА), а по мнению J. Sibiude (2020), и В. М. Болотских (2018), безопасной является выжидательная тактика до 72 часов без ухудшения материнских и перинатальных исходов.

Открытым остается и вопрос метода индукции родов: окситоцин (M. Gulersen и соавт., 2021), мизопростол (L. Padayachee и соавт., 2020), динопростон (K. Gungorduk и соавт., 2012; K. Mahomed и соавт., 2018; N. G. Kulhan и соавт., 2019), мифепристон (D. A. Wing и соавт., 2005; O. R. Baev и соавт., 2017) или механические методы (R. K. Edwards и соавт., 2014; E. Devillard и соавт., 2019). Не определена четкая безопасная продолжительность введения и дозы препаратов при ПРПО и доношенной беременности ввиду высокой частоты неэффективности медикаментозного родовозбуждения на фоне отсутствия биологической готовности к родам.

На данный момент нет однозначного мнения о взаимосвязи продолжительности безводного промежутка с риском возникновения гнойно-септических осложнений. При выборе вариантов ведения беременности и родов при ПРПО наиболее изучены маркеры воспалительного процесса СРБ и лейкоцитоз (N. Chaityasit и соавт., 2017; Н. К. Ryu и соавт., 2017; I. Musilova и соавт., 2017), особенности выработки цитокинов в сыворотке периферической крови у беременных методом ИФА (P. Chaemsaitong, R. Romero, 2018), но цитокины являются преимущественно локальными медиаторами, и перспективным направлением стало изучение экспрессии мРНК генов цитокинов методом ОТ-ПЦР (Е. Ю. Григорьева и соавт., 2020; В. Ф. Долгушина и соавт., 2021). В литературе нет четкого мнения, насколько неблагоприятен клинический ХА в родах для матери и плода при ПРПО, неоднозначны критерии диагностики клинического ХА, его связь с гистологическим ХА. Клинический ХА осложняет 10 % доношенных беременностей (Y. Maki и соавт., 2020), или 1 % от всех родов (X. Ha и соавт., 2019), при преждевременных родах ХА наблюдается у каждой второй (P. Chaemsaitong и соавт., 2016; С. С. Peng и соавт., 2018), вызывая неблагоприятные неонатальные исходы, включая последствия для развития центральной нервной системы (H. Minakami и соавт., 2014; Y. Maki и соавт., 2015). При развитии клинического ХА были отмечены гетерогенные условия, характеризующиеся инфекцией или воспалением, или тем и другим, за которыми следует большое разнообразие клинических проявлений и лабораторных изменений у матерей и их новорожденных (J. Caloone и соавт., 2016; M. Gulersen и соавт., 2021; С. Beck и соавт., 2021). В отечественных и зарубежных публикациях отсутствует единое мнение в терминологии и патофизиологии процессов (А. И. Щеголев, 2016; В. Ф. Беженарь и соавт., 2018; С. С. Peng, 2018), а также особенностях ведения родов при ПРПО с высоким риском инфицирования.

Таким образом, несмотря на проведенные многочисленные исследования, вопрос об этиологии и патогенезе ПРПО, а также предикции и профилактике ПРПО при доношенной беременности, оптимальной тактике ведения родов, осложненных ПРПО, остается актуальным и требующим систематизации и дальнейшей разработки.

Цель исследования: снижение материнской заболеваемости и улучшение перинатальных исходов при доношенной беременности с преждевременным разрывом плодных оболочек путем оптимизации ведения родов, основанной на анализе клинико-анамнестических, микробиологических и иммунологических предикторов.

Задачи исследования:

1. Проанализировать частоту встречаемости ПРПО при доношенной беременности на основе проспективного анализа с выявлением факторов риска ПРПО и изучением особенностей течения родов, материнской и перинатальной заболеваемости.

2. Изучить микробный пейзаж цервикального канала, околоплодных вод, плодных оболочек и плаценты у пациенток с ПРПО при доношенной беременности и с целым плодным пузырем и его значение в патогенезе ПРПО при доношенной беременности.

3. Изучить уровень экспрессии генов мРНК про- (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, $\text{TNF}\alpha$, ИЛ-17A, ИЛ-18, ИЛ-23, IFN-g) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10, $\text{TGF}\beta$) цитокинов, транскрипционных факторов (GATA3, RORC2, FOXP3), Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR7), металлопротеиназ (MMP8, MMP9), PTGS2, CD68 цервикального канала, плаценты, плодных оболочек и околоплодных вод у пациенток при доношенной физиологически протекающей беременности и при ПРПО.

4. Выявить взаимосвязь особенностей микробного пейзажа цервикального канала, плаценты, плодных оболочек и околоплодных вод с уровнем экспрессии генов мРНК про- (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, $\text{TNF}\alpha$, IL17A, IL18, IL23, IFN-g) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10, $\text{TGF}\beta$) цитокинов, транскрипционных факторов (GATA3, RORC2, FOXP3), Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR7), металлопротеиназ (MMP8, MMP9), PTGS2, CD68.

5. Определить особенности морфологических изменений плаценты и плодных оболочек при ПРПО при доношенной беременности.

6. Изучить взаимосвязи между морфологическими изменениями в плаценте и особенностями микробиоты в цервикальном канале, околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте.

7. Изучить взаимосвязи между морфологическими изменениями в плаценте и уровнями экспрессии генов мРНК про- (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, $\text{TNF}\alpha$, ИЛ17A, ИЛ18, ИЛ23, IFN-g) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10, $\text{TGF}\beta$) цитокинов, транскрипционных факторов (GATA3, RORC2, FOXP3), Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR7), металлопротеиназ (MMP8, MMP9), PTGS2, CD68 в цервикальном канале, околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте.

8. Изучить биохимические показатели околоплодных вод и сопоставить параметры биохимических показателей с наличием микробного пейзажа околоплодных вод.

9. Изучить особенности течения родов у пациенток с доношенной беременностью, осложнившейся ПРПО, в зависимости от степени зрелости шейки матки.

10. На основании полученных данных анамнеза, клинических, микробиологических и иммунологических показателей выявить факторы риска ПРПО и разработать патогенетически обоснованную модель статификационного прогнозирования ПРПО при доношенной беременности, рекомендации по профилактике ПРПО и прогнозу риска развития клинического хориоамнионита.

11. Разработать и внедрить алгоритм персонифицированного ведения родов при ПРПО и доношенной беременности.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение клинико-анамнестических факторов, микробного пейзажа плацентарного комплекса, экспрессии мРНК 21 параметра иммунологических показателей, гистологических исследований плаценты и плодных оболочек и биохимических показателей околоплодных вод у пациенток с ПРПО при доношенной беременности с помощью разработанного устройства (патент 198317 U1).

Впервые установлены факторы риска развития ПРПО при доношенной беременности (патент 2021669307).

Впервые выполнено комплексное изучение микробного пейзажа методом ПЦР-РВ цервикального канала, околоплодных вод, плодных оболочек и плаценты при доношенной беременности с целым плодным пузырем и при его преждевременном разрыве. При доношенной беременности с преждевременным разрывом плодных оболочек микрофлора цервикального канала характеризуется снижением ОБМ и снижением *Lactobacillus spp.*; фактором риска ПРПО при доношенной беременности являются: количество *Lactobacillus spp.* менее 99,3 %; *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* более 0,08 %; *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* более 0,06 % в общем пуле микроорганизмов цервикального канала (патент 2740950 C1).

Впервые установлено, что микробиота околоплодных вод характеризуется максимальным видовым разнообразием, микробиота плаценты – минимальным. Неидентифицированные микроорганизмы преобладали в плаценте, лидирующим микроорганизмом, определенным тестом «Фемофлор-16» в околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте, является *Enterobacteriaceae spp.* У беременных с ПРПО установлено меньшее количество микроорганизмов в плаценте с увеличением видового разнообразия микробиоты плаценты и плодных оболочек за счет облигатных анаэробов. Отсутствовала взаимосвязь между ПРПО и идентифицированными микроорганизмами в плаценте, околоплодных водах и плодных оболочках.

Впервые выявлено, что при доношенной физиологически протекающей беременности и интактном плодном пузыре максимально выражена экспрессия провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-18, ИЛ-23) и CD68 в цервикальном канале; сопоставимая экспрессия противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) в плаценте, плодных оболочках и цервикальном канале с минимальной экспрессией в околоплодных водах и отсутствием экспрессии ИЛ-4 в цервикальном канале и околоплодных водах; экспрессия Toll-подобных рецепторов (TLR4, TLR7) минимальна в околоплодных водах, сопоставима в плаценте, плодных оболочках и цервикальном канале; экспрессия транскрипционных факторов (GATA3, FOXP3) максимально выражена в плаценте; экспрессия металлопротеиназ (MMP8, MMP9), PTGS сопоставима во всех локусах.

Впервые установлено, что повышение TLR2 и снижение ИЛ-18 в цервикальном канале являются предикторами ПРПО (патент 2739123 С1). При снижении уровня *Lactobacillus spp.* менее 99,3 % в цервикальном канале наблюдается активация экспрессии ИЛ-6.

Доказано, что при ПРПО и доношенной беременности в околоплодных водах повышается экспрессия ИЛ-8 и MMP9 и снижается ИЛ-18. Наличие ОБМ в околоплодных водах при ПРПО активизирует экспрессию основных участников воспалительного каскада (ИЛ-6, TNF α , TLR2, PTGS, RORC2) и противовоспалительного цитокина ИЛ-10, наличие облигатных анаэробов активирует ИЛ-1, ИЛ-6, PTGS2, TNF α . При ПРПО в плодных оболочках наблюдается активация ИЛ-8, TGF β и MMP8, присутствие анаэробов приводит дополнительно к активации ИЛ-1, ИЛ-8, TNF α и TLR2. При ПРПО в плаценте отмечается повышение частоты экспрессии ИЛ-4.

Впервые установлено, что присутствие *Enterobacteriaceae spp.* в плаценте и на плодных оболочках является фактором, стабилизирующим экспрессию иммунологических параметров, в плаценте практически отсутствовала экспрессия FOXP3 и повышалась экспрессия TLR2; на плодных оболочках отсутствовала экспрессия ИЛ-6, FOXP3, RORC2, снижена экспрессия ИЛ-8, MMP8. Облигатные анаэробы активировали FOXP3 в плаценте. В присутствии неидентифицированных микроорганизмов в плаценте наблюдалось снижение экспрессии TNF α , TLR2, TGF β , PTGS2, CD 68, MMP9.

На основании изучения показателей белкового, углеводного и электролитного обменов в околоплодных водах при ПРПО выявлены активация белкового обмена с усилением выработки СРБ, возникновение гипознергетического состояния, дисбаланса электролитов без изменения уровня глюкозы.

Доказано, что частота клинического хориоамнионита при ПРПО составляет лишь 3,2 % и зависит не от факта ПРПО и продолжительности безводного периода, а от исходных параметров: перенесенное ОРВИ (ОРЗ) в третьем триместре, особенностей ведения родов, в частности числа влагиалищных исследований, и реакции маркеров воспалительного процесса (СРБ выше 12,4 мг/л при норме менее 5 мг/л) на момент поступления. Критерием наличия клинического хориоамнионита при 18-часовом безводном периоде является СРБ выше 4 норм. Выявлено, что признаки гистологического хориоамнионита встречаются более чем в 60 % случаев вне зависимости от своевременности излития околоплодных вод, при ПРПО преобладают инволютивно-дистрофические изменения в плодных оболочках. С увеличением безводного периода до 24 часов не нарастает частота воспалительных изменений в плаценте, пуповине и плодных оболочках и не увеличивается риск акушерских и перинатальных осложнений.

Впервые установлено, что париетальный хориоамнионит ассоциирован со снижением *Lactobacillae spp.*, *Enterobacteriaceae spp.* в цервикальном канале, присутствием анаэробов на плаценте и плодных оболочках и сопровождается

активацией экспрессии ИЛ-6 в плаценте и плодных оболочках. Плацентарный хориоамнионит ассоциирован с присутствием ОБМ в околоплодных водах, увеличением экспрессии противовоспалительного ИЛ-10 и снижением TGF β в плаценте.

Теоретическая и практическая значимость работы

Проведенное комплексное изучение клинико-анамнестических факторов, особенностей микробиологического пейзажа и иммунологического профиля с применением современных молекулярно-генетических методов исследования пациенток с ПРПО при доношенной беременности позволило разработать программу оценки факторов риска развития ПРПО.

Установлен диагностический стандарт нормоценоза цервикального канала при доношенной беременности: *Lactobacillus spp.* более 99,3 %; *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* менее 0,08 %; *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* менее 0,06 % в общем пуле микроорганизмов.

Определен микробиологический статус микробиоты плаценты, плодных оболочек и околоплодных вод при доношенной беременности с интактным плодным пузырем и ПРПО, отличный от микробиоты цервикального канала, что позволило усовершенствовать методы прогнозирования развития септических осложнений у матери и плода.

Определен статус экспрессии генов мРНК про- (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF α , IL17A, IL18, IL23, IFN-g) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10, TGF β) цитокинов, транскрипционных факторов (GATA3, RORC2, FOXP3), Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR7), металлопротеиназ (MMP8, MMP9), PTGS2, CD68 при доношенной беременности и интактном плодном пузыре в плаценте, околоплодных водах, плодных оболочках и цервикальном канале, и установлены предикторы развития ПРПО при доношенной беременности.

Изложены основные морфологические критерии ПРПО при доношенной беременности и доказано отсутствие взаимосвязи увеличения безводного периода с частотой воспалительных изменений в плаценте, что позволило доказать безопасность выжидательной тактики до 24 часов безводного периода.

Выявлены факторы, наиболее значимо влияющие на частоту оперативного родоразрешения при ПРПО и доношенной беременности.

Разработаны клинико-лабораторные предикторы развития хориоамнионита, внутриутробного инфицирования плода, неонатальной желтухи и асфиксии плода при доношенной беременности, и предложены критерии для дифференцированного выбора метода родоразрешения у пациенток с ПРПО.

Обоснована система профилактических корректирующих мероприятий, направленных на снижение частоты ПРПО при доношенной беременности у женщин на этапе прегравидарной подготовки, на этапе ведения беременности и родов.

Методология и методы диссертационного исследования

Методологической основой диссертационного исследования явилось применение комплекса методов научного познания. Работа выполнена в дизайне проспективного наблюдательного когортного исследования. В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов работы; выбраны объекты исследования и подобран комплекс современных методов исследования.

В работе использованы клинико-лабораторные, молекулярно-биологические, инструментальные, статистические методы исследования. Все исследования проведены с учетом требований российских и международных законодательных актов о юридических и этических принципах медико-биологических исследований у человека. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

Положения, выносимые на защиту:

1. Частота преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности – 13 %; факторы риска развития ПРПО при доношенной беременности: первые роды, индекс массы тела более 26 кг/м², клинические признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани, гипофункция щитовидной железы, перенесенные в анамнезе *Mycoplasma genitalium*, хронический эндометрит, диатермоконизация шейки матки, осложнения течения беременности (анемия в 1 и 3 триместре беременности, ОРВИ в III триместре беременности, проведение профилактики СДР плода во время беременности), наличие в посевах из цервикального канала *Streptococcus spp.*, *E. coli*, либо дисбиоз влагалища со снижением относительного количества *Lactobacillus spp.* и увеличением облигатных и факультативных анаэробов.

2. При доношенной беременности и интактном плодном пузыре количественный и качественный состав микробиоты плаценты, плодных оболочек и околоплодных вод отличается от микробиоты цервикального канала и характеризуется превалированием неидентифицированных микроорганизмов, анализируемых тестом «Фемофлор-16». Лидирующим идентифицированным микроорганизмом в околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте является *Enterobacteriaceae spp.*, что расценивается как физиологический процесс на фоне стабильных местных иммунологических реакций. При ПРПО в плаценте увеличивается видовое разнообразие при уменьшении количества микроорганизмов; в плодных оболочках не изменяется количество микроорганизмов при увеличении видового разнообразия; в околоплодных водах не изменяются количество микроорганизмов и видовое разнообразие; в цервикальном канале снижается количество микроорганизмов при увеличении видового разнообразия. Фактором риска ПРПО при доношенной беременности является количество *Lactobacillus spp.* менее 99,3 %; *Gardnerella vaginalis/Prevotella*

bivia/Porphyromonas spp. более 0,08 %; *Megasphaera spp./Veilonella spp./Dialister spp.* более 0,06 % в цервикальном канале.

3. При доношенной беременности и интактном плодном пузыре сопоставима экспрессия противовоспалительных цитокинов в плаценте, плодных оболочках и цервикальном канале; экспрессия Toll-подобных рецепторов минимальна в околоплодных водах, сопоставима в плаценте, плодных оболочках и цервикальном канале; экспрессия транскрипционных факторов максимально выражена в плаценте; экспрессия провоспалительных цитокинов, CD68 максимально выражена в цервикальном канале; экспрессия металлопротеиназ, PTGS2 сопоставима во всех локусах.

4. При доношенной беременности и ПРПО установлено два механизма патогенеза ПРПО. Происходит разнонаправленная активация каскада провоспалительных, противовоспалительных, Toll-подобных рецепторов, транскрипционных факторов, металлопротеиназ и PTGS2 в зависимости от качественного и количественного состава микроорганизмов в плодных оболочках, околоплодных водах и плаценте, наличия и отсутствия дисбиотических процессов в цервикальном канале.

5. Отсутствует взаимосвязь между фактом ПРПО при доношенной беременности и частотой клинического и гистологического хориоамнионита. В основе ПРПО при доношенной беременности преобладают инволютивно-дистрофические изменения плодных оболочек. При ПРПО и доношенной беременности факторами риска развития хориоамнионита является перенесенное ОРВИ (ОРЗ) в третьем триместре гестации, более 8 влагалищных исследований за период ведения родов, СРБ свыше 12,4 мг/л (при норме менее 5 мг/л) в первые 2 часа от момента отхождения вод. Критерием наличия клинического хориоамнионита при 18 часовом безводном периоде становится уровень СРБ свыше 4 норм.

6. При ПРПО и доношенной беременности увеличение периода активно-выжидательной тактики до 24 часов безводного периода способствует уменьшению частоты кесарева сечения на 13,2 % без увеличения частоты осложнений для матери и плода.

Степень достоверности результатов проведенного исследования

Высокая достоверность результатов исследований обеспечена достаточным объемом и адекватным подбором групп наблюдения, применением современных методов сбора и статистической обработки информации, сопоставимостью полученных результатов исследования с литературными данными. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Апробация результатов исследования

Материалы диссертации доложены на международном конгрессе The 3th Congress of the European Society of Gynecology (Вена, 2019 г.), XIII Региональном научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Казань, 2020 г.), XIII Всероссийском образовательном конгрессе «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» (Москва, 2020 г.), на региональных образовательных неделях, на XXII Межрегиональном медицинском форуме акушеров-гинекологов ПФО (Нижний Новгород, 2021 г.), на XVI Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 2022 г.), V Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Самара, 2018, 2022 гг.), 49-й Образовательной неделе: Научно-практической конференции «Актуальные вопросы акушерства и гинекологии» (2022 г.).

Апробация работы состоялась на совместной научной конференции кафедр акушерства и гинекологии ИПО, акушерства и гинекологии ИКМ, акушерства и гинекологии ИП, госпитальной педиатрии, факультетской педиатрии, ультразвуковой диагностики ИПО федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 29 июня 2022 г., протокол № 7.

Внедрение результатов исследования. Результаты исследования и разработанные на их основании рекомендации по тактике ведения и родоразрешения при ПРПО и доношенной беременности внедрены в учебный процесс на кафедрах акушерства и гинекологии ИПО, акушерства и гинекологии Института клинической медицины федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации в виде лекций и учебно-методических пособий для студентов, интернов и клинических ординаторов, врачей, а также в практическую работу родильных отделений № 20, 21 ГБУЗ ГКБ № 1 им. Н. И. Пирогова, перинатального центра ГБУЗ СО «ТГКБ № 5», перинатального центра ГБУЗ «СОКБ им. В. Д. Середавина».

Личный вклад автора

Автор принимала непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке дизайна, определении целей и задач исследования, лично провела все случаи ведения беременных с ПРПО в условиях стационара и рожениц, 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. Все этапы работы: формулировка целей, задач, этапов и методов исследования, научных положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций проводились диссертантом лично. Она изучила состояние проблемы по данным

отечественной и зарубежной литературы, самостоятельно провела подбор пациенток, оценку клинической документации, ультразвуковых исследований и статистическую обработку материала. Участие в обработке первичного материала – более 90 %, в анализе и внедрении в практику результатов работы – 100 %.

Связь темы диссертации с планом основных научно-исследовательских работ университета. Работа выполнена согласно плану комплексной НИР федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации «Клинические аспекты и медико-организационные технологии сохранения репродуктивного здоровья семьи» (номер государственной регистрации 01201053583) и «Проблемы репродуктивного здоровья женщин в различные возрастные периоды и пути их решения» (номер государственной регистрации АААА-А21-121011990153-5).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности – 3.1.4. 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.

Публикации по теме диссертации. По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, в том числе 21 статья в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК Минобрнауки РФ, из которых 5 статей в научных изданиях, входящих в МБД Scopus. По теме выполненной работы получено 3 патента РФ на изобретение, 1 свидетельство на программу для ЭВМ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 399 страницах машинописного текста, состоит из содержания, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы. Диссертация иллюстрирована 120 таблицами, содержит 28 рисунков. Список использованных источников содержит 499 источников: 170 отечественных и 329 иностранных.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Настоящее исследование проведено в период с января 2017 года до декабря 2019 года на клинических базах кафедры акушерства и гинекологии ИПО ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, за этот период прошло 7450 родов с доношенной беременностью (срок 37,0–41,6 недели), из них 5851 беременная не имела исходных показаний к абдоминальному родоразрешению. На **I этапе** выполнен наблюдательный когортный проспективный анализ частоты ПРПО и метода родоразрешения (самопроизвольные роды, кесарево сечение, влагалищное оперативное родоразрешение). На **II этапе** проведено двунаправленное когортное открытое проспективное исследование основной группы (n=310) с группой сравнения (n=115), включающее клинико-анамнестические, лабораторные, микробиологические факторы риска развития ПРПО при доношенной беременности, особенности ведения родов, материнские и перинатальные исходы (Рисунок 1).

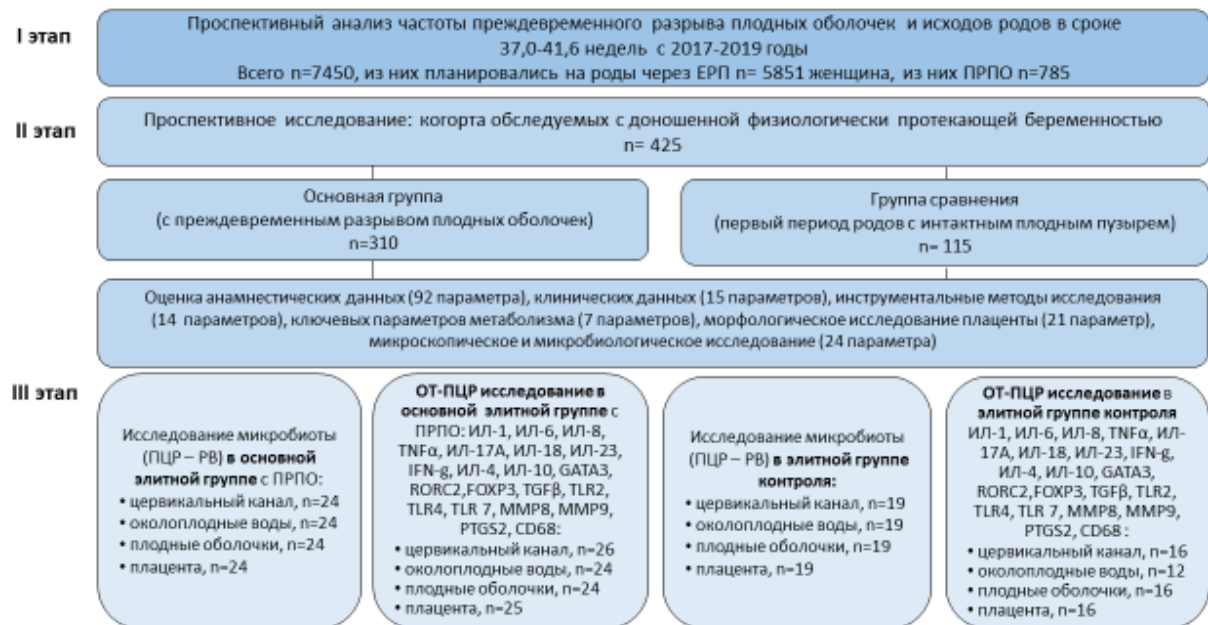


Рисунок 1 – Схема дизайна исследования

Критерии включения в основную группу: доношенная беременность (срок 37,0–41,6 недели) низкой и умеренной группы риска в соответствии с порядком оказания помощи по профилю «Акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012, приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.10.2020 № 1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология"», осложненная преждевременным разрывом плодных оболочек при отсутствии исходно показаний к кесареву сечению.

Критерии исключения: Беременные группы высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю «Акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012, приказу Министерства здравоохранения Российской Федерации от 20.10.2020 № 1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по

профиллю "акушерство и гинекология"», меконияльное окрашивание вод, наличие клинических признаков воспалительных заболеваний вульвы и влагалища, многоплодная беременность, наличие рубца на матке после оперативных вмешательств, аномалии плацентации, неправильное положение и предлежание плода.

В зависимости от особенностей ведения родов беременные основной группы были разделены на подгруппы: подгруппа 1 – с преждевременным разрывом плодных оболочек и зрелой шейкой матки по Бишопу 8 и более баллов (n=109); подгруппа 2 – ПРПО при незрелой и недостаточно зрелой шейке матки по Бишопу менее 8 баллов (n=201), из них в подгруппе 2А выполнена преиндукция мифепристоном (n=151) с максимальным периодом выжидания до родовозбуждения окситоцином 12 часов, в подгруппе 2Б – максимальный период выжидания до родовозбуждения окситоцином составил 24 часа (n=50). Группу сравнения составили пациентки с доношенной беременностью, вступившие в роды с целым плодным пузырем (n=115).

III этап включал в себя анализ элитных групп: основная (n=26) и контрольная (n=19), в которых проводились расширенные молекулярно-биологические исследования и анализ иммунологических показателей при доношенной беременности и ПРПО.

Критерии включения в основную элитную группу: срок беременности 37–41,6 недели, ПРПО, наличие показаний к кесареву сечению (неправильное положение или предлежание плода и/или рубец на матке после операции кесарева сечения).

Критерии включения в элитную группу контроля: беременность 37–41,6 недели без отхождения околоплодных вод – плановое кесарево сечение (неправильное положение или предлежание плода и/или рубец на матке после операции кесарева сечения).

Критерии исключения: беременные, относящиеся к группе высокого риска, согласно порядку оказания помощи по профилю: «Акушерство и гинекология» № 572 от 01.11.2012, а именно соматические или акушерские осложнения, такие как сахарный и гестационный диабет, повышенное артериальное давление, задержка внутриутробного развития, вагинальное кровотечение, предлежание плаценты, подозрение на макросомию плода, внутрипеченочный холестаз, многоплодная беременность, меконияльное окрашивание околоплодных вод, признаки острой инфекции и обострения хронической, наличие клинических признаков воспалительных заболеваний вульвы и влагалища.

У пациенток элитных групп выполнено исследование микробиоты методом ПЦР-PB (*Lactobacillus spp.*, *Enterobacteriaceae spp.*, *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Gardnerella vaginalis* / *Prevotella bivia*/ *Porphyromonas spp.*, *Eubacterium spp.*, *Sneathia spp.* / *Leptotrichia spp.*/ *Fusobacterium spp.*, *Megasphaera spp.* / *Veillonella spp.* / *Dialister spp.*, *Lachnobacterium spp.* / *Clostridium spp.*, *Mobiluncus*

spp. / *Corynebacterium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, *Candida spp.*, *Mycoplasma genitalis*) («Фемофлор-16», ООО «НПО ДНК-Технология») и экспрессии генов мРНК методом ОТ-ПЦР 21 иммунологического показателя (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, TNF α , ИЛ-17A, ИЛ-18, ИЛ-23, IFN-g, ИЛ-4, ИЛ-10, GATA3, RORC2, FOXP3, TGF β , TLR2, TLR4 и TLR7, PTGS, MMP8, MMP9, CD68) из 4 локусов: цервикального канала, околоплодных вод, плодных оболочек и плаценты.

Статистический анализ и обработка данных

Статистический анализ данных выполняли в среде пакета SPSS 25.0 (лицензия № 5725-A54). Количественные признаки представлены в работе в виде среднего и его ошибки: $M \pm m$, либо в виде медианы и квартилей: Me (Q1–Q3), для оценки факторов риска: отношение шансов с 95 %ДИ. Для сравнения групп применяли дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса, критерии Манна–Уитни, χ^2 Пирсона, точный метод Фишера. Исследование взаимосвязей осуществляли с помощью корреляционного анализа Спирмена.

Использованы логистическая регрессия с последующим ROC анализом оцененных вероятностей, деревья решений методом CART (Classification and regression tree), кривые выживаемости методом Каплана–Майера. Оценка видового разнообразия микроорганизмов представлена в виде индекса разнесения Симпсона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

За 3 года наблюдения прошло 7853 родов, из них со сроком беременности 37,0–41,6 недели – 7450 родов, 5851 пациентка не имела показаний к кесареву сечению и планировалась на роды через естественные родовые пути, у 785 (13,4 %) из них произошел ПРПО.

Из 785 родов с ПРПО процент кесаревых сечений составил 16,9 %, тогда как в группе со своевременным излитием околоплодных вод – 5,1 % ($\chi^2=153,05$; $p < 0,001$), вакуум-экстракций плода – 9,0 % тогда как при своевременном излитии – 1,2 % ($\chi^2=187,14$; $p < 0,001$). В группе с ПРПО из 226 пациенток в 2017 году безводный период свыше 24 часов был у 17 женщин (7,5 %), в 2018 г. – у 21 (8,2 %), в 2019 г. – у 28 (9,3 %) (Рисунок 2).

При проведении проспективного исследования 310 клинических случаев беременных с ПРПО при доношенной беременности и 115 пациенток, вступивших в самопроизвольные роды с целым плодным пузырем, установлено: в группе с ПРПО преобладание первобеременных (54,8 и 30,4 %, $p=0,001$) и более высокая масса тела ($p=0,005$) (Таблица 1). Повышение риска ПРПО наблюдалось при ИМТ свыше 26 кг/м², этот фактор, по результатам проведенного многомерного математического анализа, стоял на втором месте по значимости с ОШ 1,8 (95 %ДИ 1,5–3,7) после первых родов (ОШ 3,9; 95 %ДИ 2,52–6,18). По количеству аборт и самопроизвольных выкидышей в анамнезе значимых различий нами получено не было.

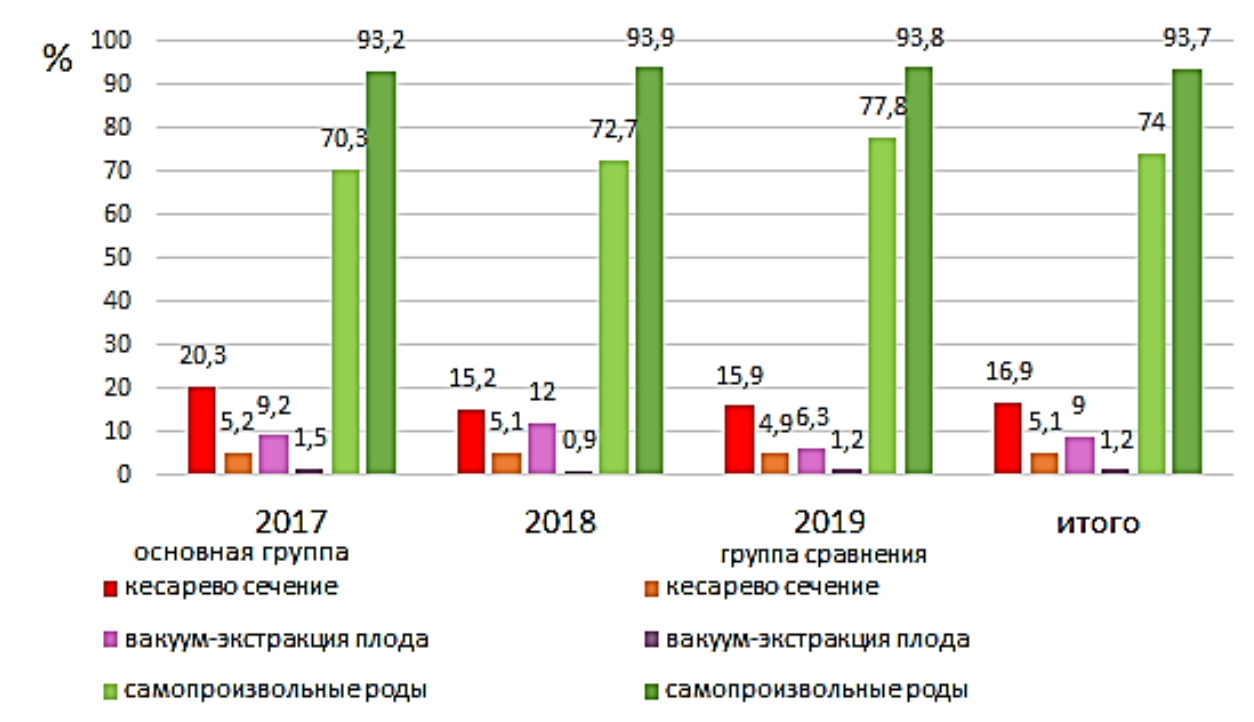


Рисунок 2 – Особенности родоразрешения при ПРПО и при своевременном излитии околоплодных вод при доношенной беременности

Наличие признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани (НДСТ) повышает вероятность ПРПО в 1,8 раза (95 %ДИ: 0,95–3,67), что подтверждает вклад врожденной патологии соединительной ткани в патогенез ПРПО. Одним из факторов риска ПРПО являлась гипофункция щитовидной железы (у большинства она была выявлена во время беременности в виде субклинического гипотиреоза), и, несмотря на наличие медикаментозной коррекции у всех пациенток, вероятность ПРПО повышалась в 2,97 раза (95 %ДИ 1,02–8,63).

Таблица 1 – Клинико-антропометрические особенности обследованных групп

Показатель	Основная группа (N=310)	Группа сравнения (N=115)	Примечания
	М (SD)	М (SD)	
Возраст (лет)	28,54 (5,05)	27,49(5,11)	T=-1,893; p=0,059
Рост (см)	164,62(6,06)	164,77(5,93)	T=-0,224; p=0,822
Вес (кг)	75,847(12,19)	72,25(10,77)	T=-2,780; p=0,005
ИМТ (кг/см ²)	28,00(4,31)	26,30(3,99)	T=-3,664; p<0,001
Срок беременности (недель)	39,10(1,26)	39,35(1,08)	T=-1,814; p=0,070
Индекс Варге	2,51 (0,43)	2,39(0,39)	T=-2,708; p=0,007

Нами выявлен высокий процент бесплодия у пациенток основной группы (6,5 % против 0,9 %, p=0,018), внутриматочной патологии (хронический эндометрит, полипы эндометрия) (7,4 % против 1,7 %, p=0,027) и заболеваний шейки матки в анамнезе, особенно сопровождавшихся хирургическим лечением в виде диатермоконизации (6,8 % против 0,9 %, p=0,046). Пациентки основной группы в 7

раз чаще получали в анамнезе лечение по поводу генитального микоплазмоза ($p=0,027$).

Несомненную роль для исходов матери и новорожденного играют особенности течения самой беременности. Выявлено, что наличие анемии беременных во всех триместрах увеличивало вероятность ПРПО, проведение профилактики СДР плода во время данной беременности по поводу угрожающих преждевременных родов повышало шанс ПРПО в 6,2 раза ($p=0,045$), перенесенное ОРЗ (ОРВИ) в третьем триместре беременности с повышением температуры – в 2,6 раза ($p=0,009$), наличие бактериального вагиноза увеличивало риски ПРПО в 2,3 раза ($p=0,016$). Результаты бактериологического исследования цервикального канала по триместрам различались: в основной группе рост микрофлоры выявлен в I триместре у 38,5 % беременных, а накануне родов – у 91,2 % беременных, в группе сравнения – у 30,6 и 87,3 % соответственно, что мы связываем не с увеличением бактериальной обсемененности влагалища накануне родов, а с изменениями структуры и защитных функций цервикального канала, которые меняются с увеличением срока беременности. Вероятно, концентрация влагалищной микробиоты и усиление роста бактерий в цервикальном канале служат одним из основных пусковых механизмов родовой деятельности. По результатам микробиологических посевов наиболее значимыми факторами риска ПРПО являлись наличие в посевах представителей *Streptococcus spp.* (повышает риск в 11,7 раза, $p=0,021$), *E. coli* (повышает риск в 2,3 раза, $p=0,043$), а вот выявление *Lactobacillus spp.* снижало риск ПРПО в 9,1 раза ($p<0,001$).

Таким образом, исследование факторов риска показало, что проблема ПРПО полиэтиологична и выделить один ведущий фактор не представляется возможным (Рисунок 3).

При исследовании с помощью молекулярно-биологических методов ПЦР-РВ (тест Фемофлор-16) в цервикальном канале у пациенток с ПРПО мы наблюдали снижение общей бактериальной массы (ОБМ) $Me\ 10^{6,0}(10^{5,3};10^{6,5})$ ГЭ/образце, тогда как в контрольной группе - $Me\ 10^{7,5}(10^{7,0};10^{8,1})$ ГЭ/образце ($U=39,5$; $p=0,000$). В контрольной группе 89,5 % анализов цервикального канала соответствовало критериям нормоценоза и только 10,5 % умеренного дисбиоза, а в группе с ПРПО нормоценоз наблюдался только у 58,3 % обследованных, а 8,3 % и 33,3 % приходилось на умеренный и выраженный дисбиоз соответственно ($p=0,021$) (Рисунок 4).

Различные виды *Staphylococcus spp.* в небольшом количестве $Me\ 10^{3,4}(10^{3,3}-10^{3,9})$ ГЭ/образце являлись наиболее распространенными представителями биотопа цервикального канала, они относятся к нормальной микрофлоре и присутствуют практически у всех пациенток контрольной группы (78,9 %), в отличие от основной группы (41,7 %). Анализ ПЦР в режиме реального времени позволяет идентифицировать семейство *Enterobacteriaceae spp.*, представители которого чаще наблюдались в контрольной группе ($p=0,09$).

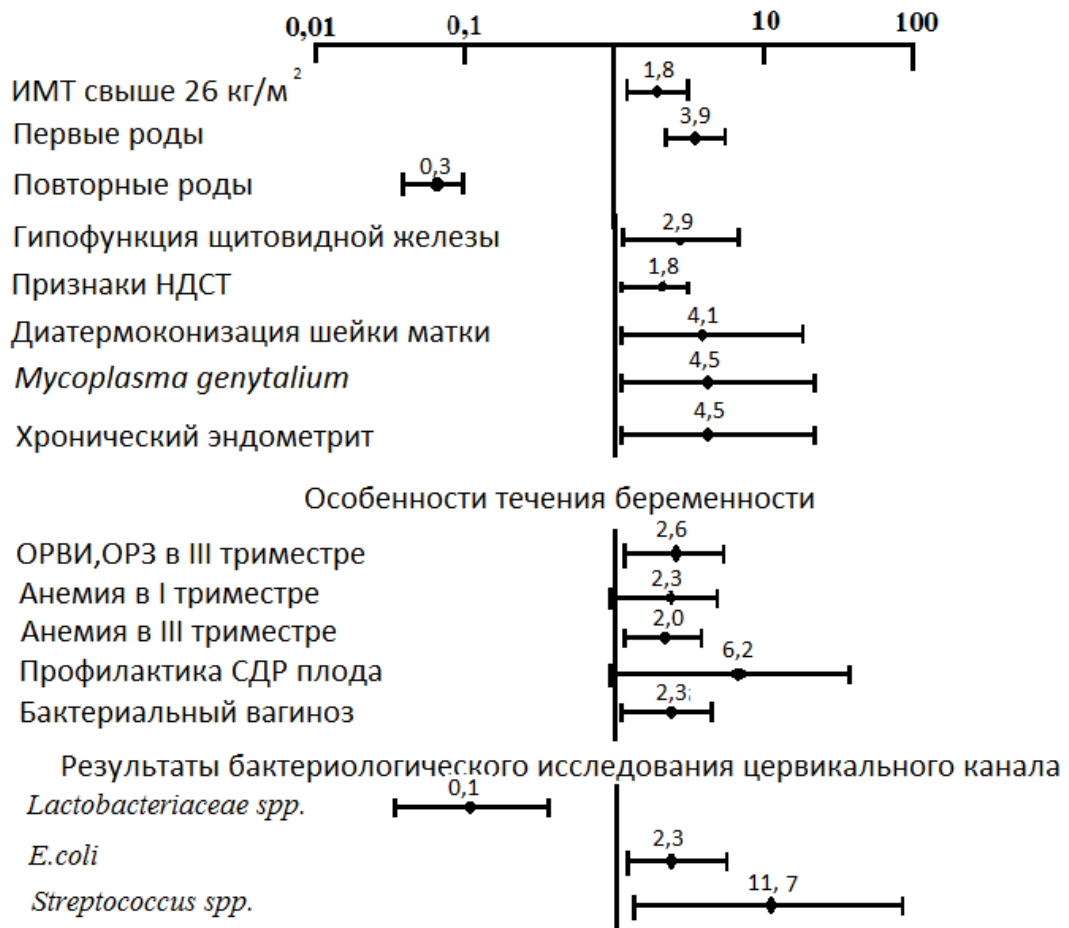


Рисунок 3 – Факторы риска ПРПО при доношенной беременности

С помощью многомерного математического анализа нами были выделены пороговые значения, при которых повышается вероятность ПРПО: *Lactobacillus spp.* ниже 99,3 %; анаэробная микрофлора более 0,55 %; из наиболее значимых облигатных анаэробов выделены *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* свыше 0,08 %, *Megasphaera spp.* + *Veillonella spp.* + *Dialister spp.* свыше 0,06 %. Однако 41,7 % пациенток с ПРПО в нашем исследовании не имели вышеперечисленных изменений биоценоза и по микробному пейзажу не отличались от группы контроля, что свидетельствует в пользу того, что дисбиотические изменения влагалища и цервикального канала являются не единственным патогенетическим механизмом ПРПО (Рисунок 4).

В околоплодных водах в основной группе медиана ОБМ составила 1148 ГЭ/мл, а в контрольной группе – 1047 ГЭ/мл ($p=0,902$), что было значимо ниже по сравнению с другими локусами (плацента, плодные оболочки и цервикальный канал), а в 55,0 % основной группы и 47,4 % контрольной группы ДНК микроорганизмов в околоплодных водах выявлена не была ($p=0,562$). Основным семейством микроорганизмов, характерным для амниотической жидкости, было семейство *Enterobacteriaceae spp.* (15,0 и 21,0 %, $p=0,469$). *Lactobacillus spp.* не являются типичными представителями амниотической жидкости: в 1 случае (5,3 %) при интактных плодных оболочках, при ПРПО *Lactobacillus spp.* выявлены не были.

Другие факультативные и облигатные анаэробы выявлены в единичных случаях с равной частотой в группах.

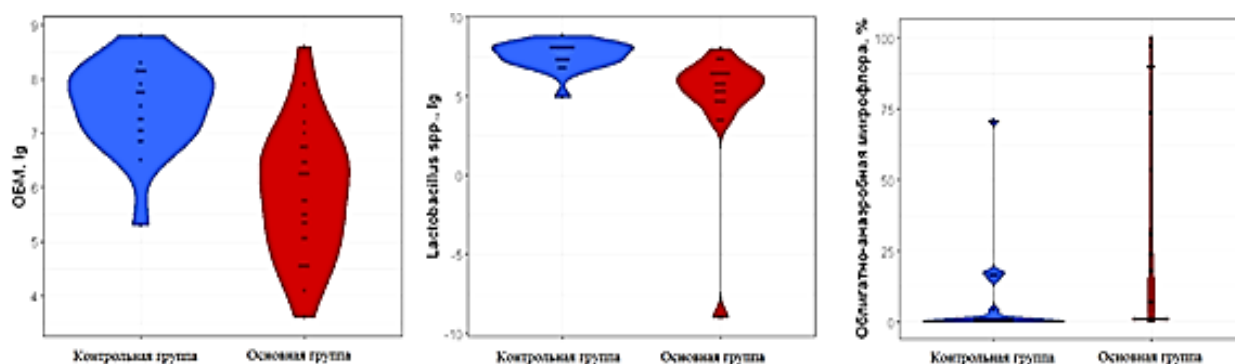


Рисунок 4 – Общая бактериальная масса, соотношение *Lactobacillus spp.* и облигатных анаэробов в цервикальном канале при доношенной беременности с ПРПО (основная группа) и с интактным плодным пузырем (контрольная группа)

Таким образом, в норме в околоплодных водах присутствует незначительное количество бактериальной ДНК, но при физиологически протекающей беременности это нежизнеспособная ДНК, не способная к размножению и формированию колоний, однако имеющая важнейший эволюционный смысл – презентирование ДНК микроорганизмов окружающего мира плоду и формирование его иммунной системы еще на внутриутробном этапе. В околоплодных водах в 20,0 % случаев основной группы и 36,8 % случаев контрольной группы, мы получили ОБМ, «не идентифицируемую» тестом «Фемофлор-16». Так как этот тест разработан для исследования влагилищного биотопа (при исследовании цервикального канала мы не обнаружили «неидентифицированной» ДНК), вероятно, часть микроорганизмов, «не идентифицированных» тестом «Фемофлор-16», имеет локализацию, характерную для ротовой полости и кишечника, что требует последующего изучения. Из нашего исследования, подкрепленного вышеприведенными результатами, можно сделать вывод, что детекция незначительного количества микробной массы (ОБМ около 1000 ГЭ/образце) при целом плодном пузыре методом ПЦР-РВ в околоплодных водах является вариантом нормы и не приводит к развитию клинически значимого воспаления. При ПРПО частота идентификации и количество микроорганизмов в околоплодных водах не выше, чем при интактных плодных оболочках, соответственно, причина ПРПО не связана с микробным обсеменением околоплодных вод (Рисунок 5).

Анализ микробиоты плодных оболочек и плаценты показал сходные результаты: в контрольной группе 73,6 % на плодных оболочках и 78,9 % в плаценте была выявлена лабораторная ОБМ, а идентифицированные с помощью теста «Фемофлор-16» микробы (преимущественно *Enterobacteriaceae spp.*) обнаружены только в 31,5 и 26,3 % случаев соответственно. В группе с ПРПО частота выявления лабораторной ОБМ была одинакова на плодных оболочках и в плаценте и составила 66,7 %, при этом расчетная ОБМ выявлена в 45,8 % случаев на плодных оболочках и 29,2 % – в плаценте, а анаэробы идентифицированы только в основной группе как

на плодных оболочках (25 %), так и в плаценте (16,7 %). Столь высокая частота выявления микробной ДНК не повлияла на материнские и перинатальные исходы: септических либо других осложнений в послеродовом периоде не наблюдалось, соответственно, выявление бактериальной массы, в составе которой определяются представители *Enterobacteriaceae spp.*, не является предиктором септических осложнений и представляет собой физиологическое течение беременности. Наличие облигатных анаэробов в тканях плаценты и плодных оболочек ассоциировано с ПРПО, однако не было отмечено совпадений между микробиотой цервикального канала и выявлением анаэробов в тканях плаценты и плодных оболочек.

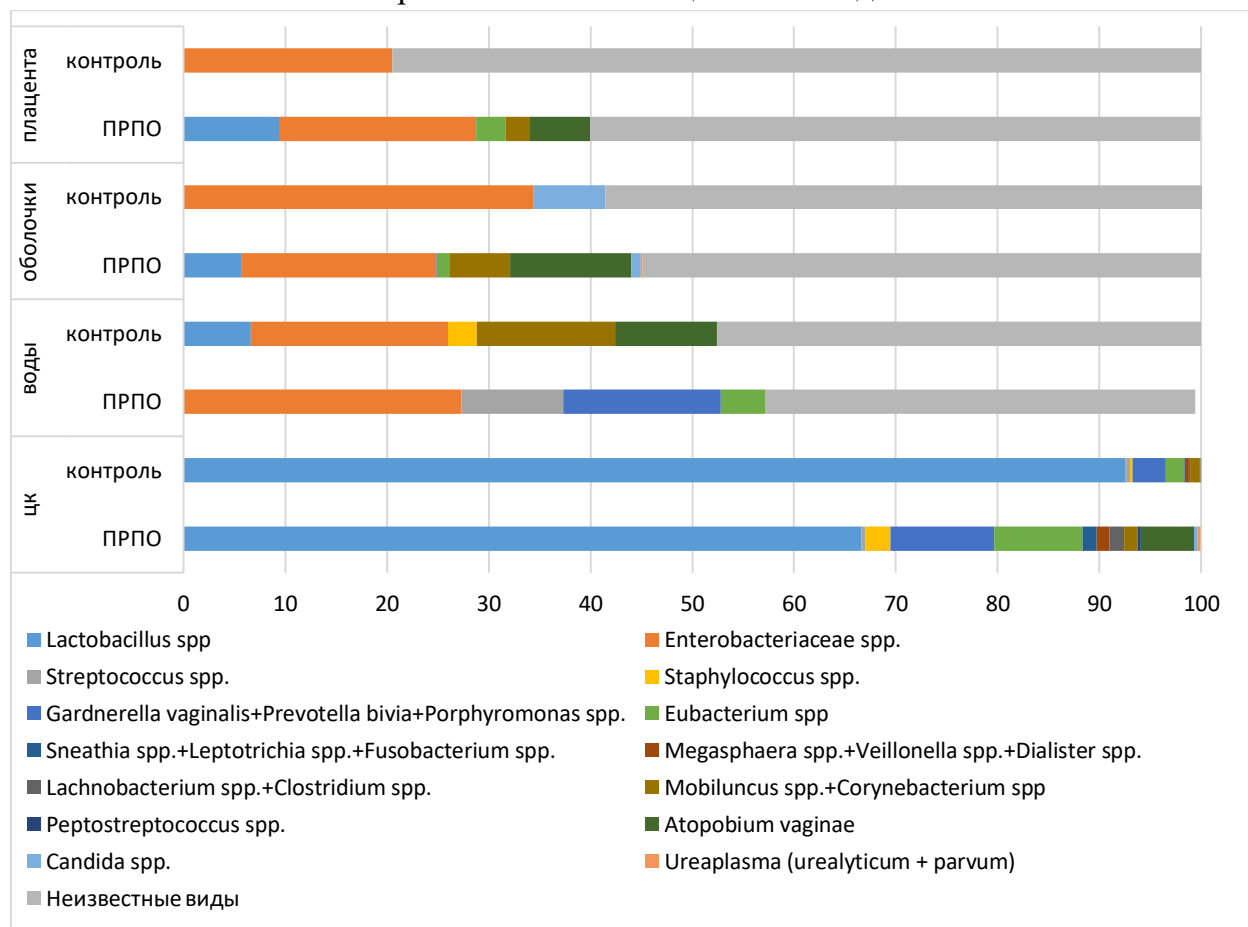


Рисунок 5 – Относительная частота выявления различных микроорганизмов методом ПЦР-РВ из цервикального канала (цк), околоплодных вод, плодных оболочек и плаценты у пациенток с преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) и с интактным плодным пузырем (контроль)

На основании нашего исследования мы не можем утверждать о восходящем инфицировании после нарушения целостности плодного пузыря, т. к. данные микроорганизмы были выделены из глубоких слоев плаценты при длительности безводного периода не более 2 часов. Возможно, инфицирование происходило еще до момента ПРПО и послужило триггером нарушения целостности фетальных мембран. В остальных 75 % случаев ПРПО анаэробы отсутствовали в плаценте и плодных оболочках, а в 33,3 % случаев ПРПО микрофлора не была

идентифицирована в плаценте и плодных оболочках, т. е. присутствовали другие патогенетические механизмы деструкции плодных оболочек.

Максимальное видовое разнообразие, оцененное с помощью индекса разнесения Симпсона, наблюдалось в околоплодных водах обеих групп и цервикальном канале у пациенток с ПРПО, тогда как в контрольной группе видовое разнообразие цервикального канала, плодных оболочек и плаценты стремилось к нулю (Рисунок 6).

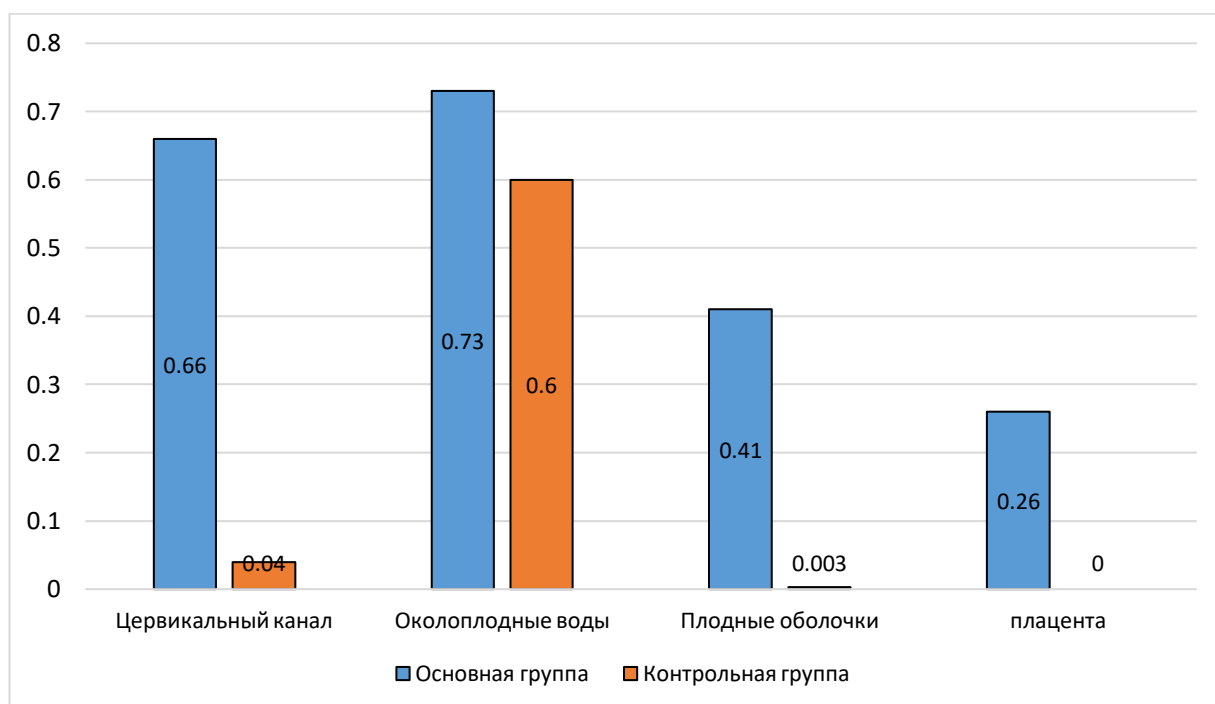


Рисунок 6 – Индекс Симпсона – видового разнообразия в цервикальном канале, околоплодных водах, на плодных оболочках и в плаценте

При биохимическом исследовании околоплодных вод у пациенток с ПРПО наблюдалось более высокое содержание общего белка ($p=0,03$) и СРБ ($p<0,001$), тогда как уровень креатинина ($p=0,03$), кальция ($p<0,001$) и калия ($p=0,04$) был ниже, чем у пациенток группы контроля (Таблица 2).

При корреляционном анализе биохимических показателей и видов микроорганизмов в околоплодных водах были выявлены следующие положительные корреляции: *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/ Porphyromonas spp.* с уровнем креатинина ($r=0,399$, $p=0,032$), *Enterobacteriaceae spp.* с уровнем калия ($r=0,378$, $p=0,043$), *Streptococcus spp.* с уровнем натрия ($r=0,383$, $p=0,040$). Нами не было отмечено значимого снижения уровня глюкозы при ПРПО, которая, согласно данным литературы, является признаком интраамниотического воспаления. В целом на момент родоразрешения у всех пациенток маркеры воспаления (глюкоза, СРБ) были в пределах нормы, что свидетельствует в пользу отсутствия воспалительного компонента в патогенезе ПРПО при доношенной беременности.

Таблица 2 – Биохимический анализ околоплодных вод в основной и контрольной группах

Показатель	Основная группа (n=24)		Контрольная группа (n=19)		p
	Me	Q1–Q3	Me	Q1–Q3	
Глюкоза	0,50	0,40–0,75	0,87	0,40–0,90	0,31
Общий белок	5,20	3,60–6,00	3,20	1,90–3,60	0,03
Мочевина	4,70	3,90–6,10	5,10	4,30–5,90	0,35
Креатинин	151,50	137,50–215,70	213,10	173,00–230,00	0,03
Кальций	1,48	1,30–1,60	2,10	2,01–2,16	<0,001
Калий	4,31	3,70–4,73	4,90	4,17–5,40	0,04
Натрий	122,00	114,37–125,00	116,00	113,91–125,20	0,61
Хлор	102,00	97,80–104,00	100,10	97,80–102,00	0,27
СРБ	0,04	0,01–0,10	0,00	0,00–0,01	<0,001

При доношенной, физиологически протекающей беременности, на фоне интактного плодного пузыря, нами установлена высокая частота экспрессии иммунологических показателей в цервикальном канале, особенно ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, ИЛ-23, CD68, TNF α , TGF β , RORC2, TLR2, TLR4, MMP9, GATA3, PTGS2. При доношенной физиологически протекающей беременности цервикальный канал характеризуется 100 %-ной экспрессией провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-18 и TNF α и противовоспалительного ИЛ-10, для плодных оболочек и плаценты данные транскрипты встречаются также с высокой частотой. Экспрессия ИЛ-4 выявлена только на плодных оболочках 4/16 (25 %) и в плаценте 2/16 (12,5 %), а экспрессия ИЛ-17 наблюдалась исключительно в цервикальном канале – 2/16 (12,5 %). Продукция ИЛ-17 не характерна для клеток фетоплацентарного комплекса. Экспрессия ИЛ-6 не наблюдалась в околоплодных водах в контрольной группе, однако присутствовала в других локусах: цервикальном канале – 7/16 обследованных (43,8 %), плодных оболочках – 6/16 беременных (37,5 %), плаценте – 9/16 (56,2 %).

Из транскрипционных факторов (ТФ) необходимо отметить, что GATA3 является наиболее распространенным ТФ, представлен практически со стопроцентной частотой экспрессии во всех локусах, за исключением околоплодных вод 8/12 пациенток (66,7 %). Экспрессия FOXP3 и RORC2 более характерна для плаценты: у 14/16 пациенток (87,5 %) и 12/16 пациенток (75,0 %) соответственно. В цервикальном канале экспрессия FOXP3 выявлена у 5/16 обследованных (31,3 %), а RORC2 – в 13/16 случаев (81,2 %), околоплодных водах – в 4/16 случаев (33,3 %) и 7/16 случаев (58,3 %), на плодных оболочках – в 7/16 случаев (43,8 %) и 8/16 случаев (50,0 %) соответственно. Минимальная экспрессия всех исследуемых ТФ наблюдалась в околоплодных водах, что связано с низким содержанием в околоплодных водах клеток продуцентов по сравнению с другими локусами.

Маркер макрофагов CD68 установлен во всех локусах в 100 % случаев, что говорит о присутствии макрофагов как в цервикальном канале, так и тканях фетоплацентарного комплекса. TGF β , PTGS2, MMP9 также обладали высокой частотой

экспрессии во всех локусах, за исключением околоплодных вод. MMP8 экспрессировалась у 2/3 обследованных во всех локусах. Гены Toll-подобных рецепторов относятся к категории высокоэкспрессируемых и выявлены почти в 100 % во всех локусах, за исключением околоплодных вод.

Количественные показатели экспрессии мРНК генов иммунологических показателей в изучаемых локусах представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Количественные показатели экспрессии мРНК генов провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, трансформирующих факторов, Toll-подобных рецепторов, металлопротеиназ, PTGS2, CD68 в цервикальном канале, околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте при физиологически протекающей доношенной беременности

Показатель	Цервикальный канал 1 (n=16)	Околоплодные воды 2 (n=12)	Плодные оболочки 3 (n=16)	Плацента 4 (n=16)	Критерий Краскела–Уоллиса	Критерий Манна–Уитни
	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)		
ИЛ-1	3625,0 (1270,0; 7464,3)	532,2 (310,0; 1115,6)	129,5 (47,8; 250,0)	61,3 (23,6; 121,9)	H=32,842 p <0,001	P ₁₋₂ =0,004 P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ <0,001 P ₂₋₃ =0,001 P ₂₋₄ <0,001
ИЛ-4	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	H =7,362 p =0,0612	–
ИЛ-6	0,0 (0,0;0,2)	0,0 (0;0)	0,0 (0,0;0,4)	0,1 (0,0;0,3)	H=8,546 p =0,0360	P ₁₋₂ =0,054 P ₂₋₄ =0,013
ИЛ-8	2380,0 (1035,0; 3922,4)	49,2 (0,0;150,9)	29,6 (4,7;102,5)	10,7 (6,6;34,2)	H=23,060 p <0,001	P ₁₋₂ <0,001 P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ <0,001
ИЛ-10	0,9 (0,2;2,3)	0,0 (0,0;0,4)	1,1 (0,2;3,3)	0,9 (0,6;1,7)	H=9,686 p =0,0214	P ₁₋₂ =0,031 P ₂₋₃ =0,019 P ₂₋₄ =0,002
ИЛ-17A	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0,0	H=5,594 p =0,133	-
ИЛ-18	2638,5 (634,0; 520,4)	73,8 (16,3;642,0)	4,0 (1,6;10,2)	5,2 (3,0;16,3)	H=34,348 p <0,001	P ₁₋₂ =0,002 P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ <0,001 P ₂₋₃ <0,001 P ₂₋₄ <0,001
ИЛ-23	4,2 (0,4;12,9)	0,0 (0,0;0,3)	0,0 (0;0)	0,0 (0,0;0,1)	H=20,334 p <0,001	P ₁₋₂ =0,005 P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ =0,003
IFN-g	0,0 (0;0)	0,0 (0;0)	0,0 (0,0;2,9)	1,3 (0,0;3,3)	H=10,941 p =0,012	P ₁₋₄ =0,009 P ₂₋₄ =0,039
TNFα	30,6 (16,4; 109,2)	14,1 (0,0;54,2)	4,0 (1,4;9,0)	3,2 (1,7;9,0)	H=16,045 p =0,001	P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ =0,002

Продолжение Таблицы 3

Показатель	Цервикальный канал 1 (n=16)	Околоплодные воды 2 (n=12)	Плодные оболочки 3 (n=16)	Плацента 4 (n=16)	Критерий Краскела–Уоллиса	Критерий Манна–Уитни
	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)	Me (Q1;Q3)		
TGFβ	1035,9 (271,9; 4874,5)	200,0 (138,4; 308,6)	112,5 (36,7; 182,5)	433,3 (262,7; 800,0)	H=17,176 p =0,001	P ₁₋₂ =0,051 P ₁₋₃ =0,003 P ₂₋₄ =0,035 P ₃₋₄ <0,001
FOXP 3	0,0 (0,0;0,1)	0,0 (0,0;0,5)	0,0 (0,0;0,4)	1,1 (0,3;2,1)	H=17,720 p <0,001	P ₁₋₄ <0,001 P ₂₋₄ =0,009 P ₃₋₄ =0,014
RORC 2	0,8 (0,2;1,6)	0,55 (0,0;6,5)	0,1 (0,0;0,9)	0,5 (0,1;1,7)	H =4,034 p =0,257	–
TLR2	10,0 (2,4;15,2)	2,0 (0,0;10,0)	5,2 (0,6;10,0)	6,2 (2,3;10,0)	H=3,311 p =0,346	–
TLR4	6,6 (1,9;16,9)	0,0 (0,0;1,3)	6,5 (1,8;11,4)	7,1 (5,0;8,7)	H=13,462 p =0,003	P ₁₋₂ =0,007 P ₂₋₃ =0,003 P ₂₋₄ =0,001
TLR7	0,04 (0,0;0,1)	0,0 (0,0;0,6)	1,7 (0,1;3,4)	4,3 (2,7;5,0)	H=21,532 p <0,001	P ₁₋₃ =0,035 P ₁₋₄ =0,001 P ₂₋₃ =0,015 P ₂₋₄ <0,001 P ₃₋₄ =0,033
PTGS 2	19,5 (1,5;85,0)	0,3 (0,0;5,9)	9,8 (1,3;35,9)	10,0 (1,5;30,0)	H=6,446 p =0,091	P ₁₋₂ =0,037 P ₂₋₄ =0,020
MMP 8	1,7 (0,1;5,2)	2,5 (0,0;18,0)	0,5 (0,0;19,5)	2,4 (0,6;12,5)	H=0,878 p =0,831	-
MMP 9	15,0 (7,9;39,2)	10,0 (0,0;55,0)	7,4 (1,5;35,0)	10,0 (4,1;14,9)	H=1,859 p =0,602	-
CD68	1232,1 (409,3; 3249,0)	359,8 (156,4; 1416,6)	152,4 (99,5; 389,6)	145,3 (84,0; 243,2)	H=21,834 p <0,001	P ₁₋₂ =0,054 P ₁₋₃ <0,001 P ₁₋₄ <0,001 P ₂₋₃ =0,039 P ₂₋₄ =0,037
GATA 3	259,0 (82,6; 812,1)	27,8 (0,0;56,7)	78,6 (35,2; 348,8)	336,1 (255,6; 895,0)	H=22,1931 7 p <0,001	P ₁₋₂ =0,001 P ₂₋₃ =0,019 P ₂₋₄ <0,001 P ₃₋₄ =0,009

В цервикальном канале при ПРПО наблюдается увеличение частоты экспрессии ИЛ-6 почти в 2 раза по сравнению с группой контроля, а в количественном соотношении – в 48 раз (p=0,02), ИЛ-10 (в 2,52 раза, p=0,06), снижение ИЛ-18 (в 59,7 раза, p<0,001), CD68 (в 7,7 раза, p=0,001), GATA3 (в 11,9 раза, p=0,002) и тенденция к повышению TLR2 (в 1,7 раза, p=0,054), PTGS (в 3,7 раза, p=0,055).

С помощью построения логистической регрессии с пошаговым исключением методом Вальда были выявлены наиболее значимые

иммунологические предикторы в прогнозировании риска ПРПО: снижение ИЛ-18 и повышение TLR2. Уравнение логистической регрессии имело вид:

$$P = 1 / (1 + e^{(-0,92 \times X1 + 88,2 \times X2)}),$$

где $X1$ – значение уровня экспрессии мРНК гена ИЛ-18 в относительных единицах; $X2$ – значение уровня экспрессии мРНК гена TLR-2 в относительных единицах; P – вероятность события (ПРПО), при значении P , большем или равном 0,5, риск оценивают как высокий; при значении P меньше 0,5 – как низкий.

В основной группе относительно группы контроля в зависимости от биоценоза влагалища установлено, что при нормоценозе наблюдается значимое снижение экспрессии мРНК ИЛ-18 (в 77,9 раза; $p=0,003$), GATA (в 11,3 раза; $p=0,015$), CD68 (в 14,6 раза; $p=0,016$), тогда как при снижении уровня *Lactobacillus spp.* отличительной особенностью являлось значительное повышение экспрессии ИЛ-6 (в 123 раза; $p=0,001$) и снижение TGF β (в 7,4 раза; $p=0,031$) (Рисунок 7).

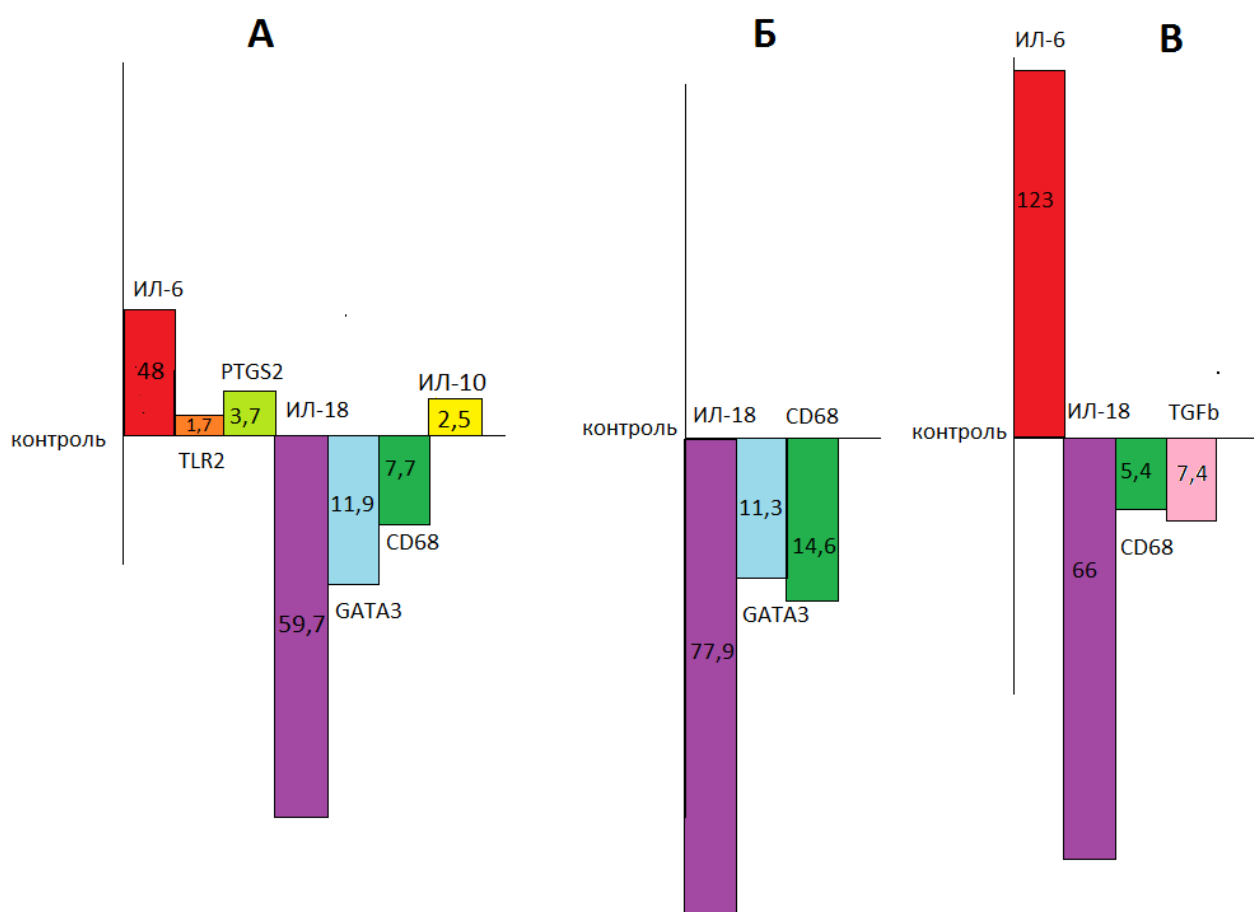


Рисунок 7 – Особенности экспрессии мРНК генов иммунологических показателей при ПРПО по сравнению с группой контроля (А), при уровне *Lactobacillus spp.* $\geq 99,3$ % (Б), *Lactobacillus spp.* $< 99,3$ % (В) в цервикальном канале

В околоплодных водах при ПРПО наблюдается появление экспрессии ИЛ-6 у 10/24 (41,7 %), которая отсутствовала в группе контроля ($p=0,009$); экспрессия

ИЛ-18 снижалась в 4,11 раза ($p=0,044$), происходило повышение экспрессии ИЛ-8 в 14 раз ($p=0,004$), наблюдалась тенденция к повышению TLR4 в 3,6 раза ($p=0,056$). Экспрессия MMP9 чаще наблюдалась в основной группе 21/24 (87,5 %, $p=0,036$) и в количественном соотношении превышала экспрессию в группе контроля в 3,3 раза ($p=0,050$).

Нами был проведен анализ особенностей экспрессии генов мРНК цитокинов у пациенток в группах в зависимости от наличия и отсутствия ОБМ. При сравнении в контрольной группе все показатели (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, TNF α , ИЛ-17A, ИЛ-18, ИЛ-23, IFN-g, ИЛ-4, ИЛ-10, TLR2, TLR4, TLR7, GATA3, RORC2, FOXP3, TGF β , CD68, PTGS2, MMP8, MMP9) не различались. В основной группе в околоплодных водах наблюдалась экспрессия ИЛ-6 в 10 случаях (41,7 %), и в 8 из них присутствовала ОБМ в околоплодных водах (80 %). При сравнении количественных эквивалентов отмечено повышение ИЛ-10 в 25 раз ($p=0,043$), TNF α – в 78,92 раза ($p=0,004$), TLR2 – в 6,9 раза ($p=0,005$), PTGS2 – в 13,7 раза ($p=0,003$), RORC2 – в 41 раз ($p=0,032$).

Анализ взаимосвязи микроорганизмов по семействам и особенностей экспрессии мРНК цитокинов показал повышение экспрессии мРНК GATA3 в 12,7 раза ($p=0,003$) – при выявлении в околоплодных водах *Enterobacteriaceae spp.*; повышение ИЛ-1 в 17,9 раза ($p=0,008$), TNF α – в 21,3 раза ($p=0,019$), PTGS2 в 6,9 раза – при выявлении анаэробов в околоплодных водах ($p=0,026$), а экспрессия ИЛ-6 наблюдалась только при выявлении анаэробов в околоплодных водах. Экспрессия ИЛ-8 и MMP9 не зависела от наличия ОБМ, *Enterobacteriaceae spp.*, анаэробов в околоплодных водах, но значимо повышалась при ПРПО, что говорит в пользу универсальности изменения данных показателей при любых этиопатогенетических стимулах ПРПО (Рисунок 8).

Для оценки взаимосвязей ОБМ околоплодных вод, экспрессии мРНК и биохимических параметров ОВ, а также СРБ крови нами был проведен корреляционный анализ Спирмена. ОБМ в водах статистически значимо коррелировала с СРБ в водах ($r=0,37$) и СРБ в крови ($r=0,48$), а также с большинством провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 ($r=0,38$), ИЛ-6 ($r=0,57$), ИЛ-8 ($r=0,34$), ИЛ-10 ($r=0,40$), ИЛ-17 ($r=0,38$), TNF α ($r=0,61$), RORC2 ($r=0,42$), TLR2 ($r=0,50$), PTGS ($r=0,51$). Данные результаты получены независимо от целостности плодного пузыря и демонстрируют единый механизм запуска провоспалительного каскада в присутствии бактериальной массы в околоплодных водах с активацией TLR2, играющего важную роль в реализации антибактериального врожденного иммунитета. При этом значимые положительные корреляции между собой имел треугольник СРБ крови/СРБ околоплодных вод/ИЛ-6.

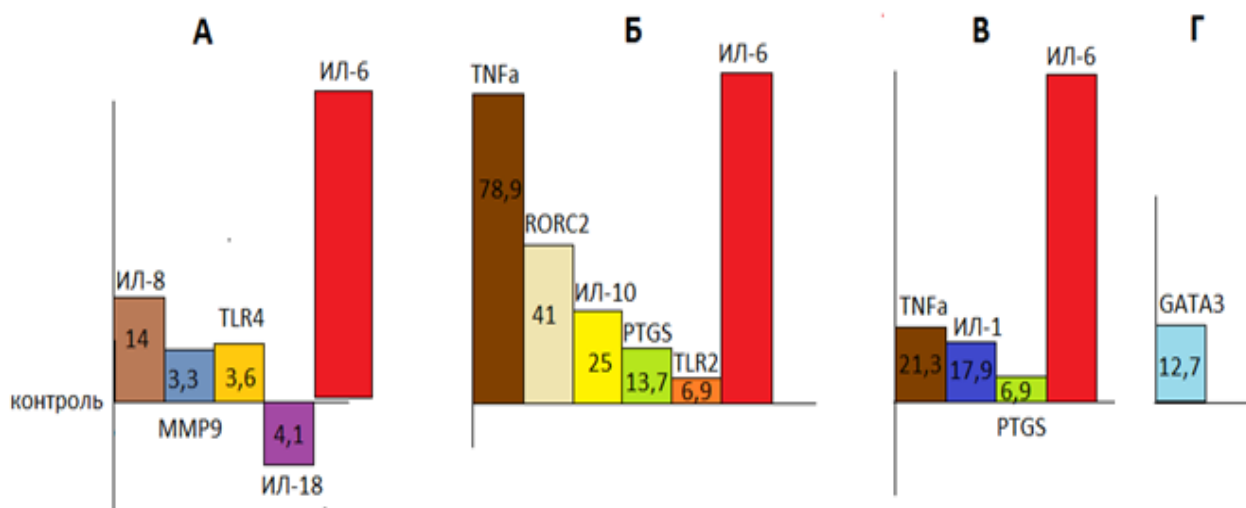


Рисунок 8 – Особенности экспрессии мРНК генов иммунологических показателей при ПРПО по сравнению с группой контроля (А) в зависимости от наличия ОБМ (Б), с преобладанием облигатных анаэробов (В), представителей семейства *Enterobacteriaceae spp.* (Г) в околоплодных водах

В плодных оболочках при ПРПО наблюдалось повышение экспрессии мРНК генов ИЛ-8 в 3,15 раза ($p=0,022$), $TGF\beta$ – в 1,92 раза ($p=0,024$), MMP8 – в 1,93 раза ($p<0,001$). Значимых различий в группах в зависимости от наличия ОБМ выявлено не было, но при анализе изолированно представителей семейства *Enterobacteriaceae spp.* было отмечено снижение таких показателей воспалительного процесса, как ИЛ-6 ($p=0,020$), ИЛ-8 ($p=0,013$), MMP8 ($p=0,024$), а также ТФ: FOXP3 ($p=0,017$), RORC2 ($p=0,013$). Учитывая тот факт, что представители семейства *Enterobacteriaceae spp.* были выявлены в 16,7 % основной группы и 26,3 % контрольной группы ($p=0,25$), можно сделать выводы, что наличие *Enterobacteriaceae spp.* является физиологическим процессом и, наоборот, стабилизирует провоспалительный каскад во время беременности. Возможно, антигенное презентирование данного вида микроорганизмов происходит на протяжении всей беременности и является нормой течения беременности и никак не связано ни с активацией родовой деятельности, ни с ПРПО.

Только в основной группе у 25,0 % обследованных на плодных оболочках выявлены анаэробы, мы наблюдали у этих пациенток по сравнению с группой контроля увеличение экспрессии ИЛ-1 в 5,8 раза ($p=0,001$), ИЛ-8 в 16,9 раза ($p=0,042$), $TNF\alpha$ в 4,8 раза ($p=0,042$), $TGF\beta$ в 2,9 раза ($p=0,008$), TLR2 в 3,8 раза ($p=0,034$), а MMP8 в 60 раз ($p=0,046$). Для плодных оболочек при отсутствии анаэробов по сравнению с контролем наблюдалось только значимое повышение MMP8 в 28,2 раза ($p=0,026$). Таким образом, универсальным механизмом ПРПО является повышение экспрессии в плодных оболочках MMP8, к которому могут приводить разные механизмы, так, в случае присутствия анаэробов активируется провоспалительный каскад (Рисунок 9).

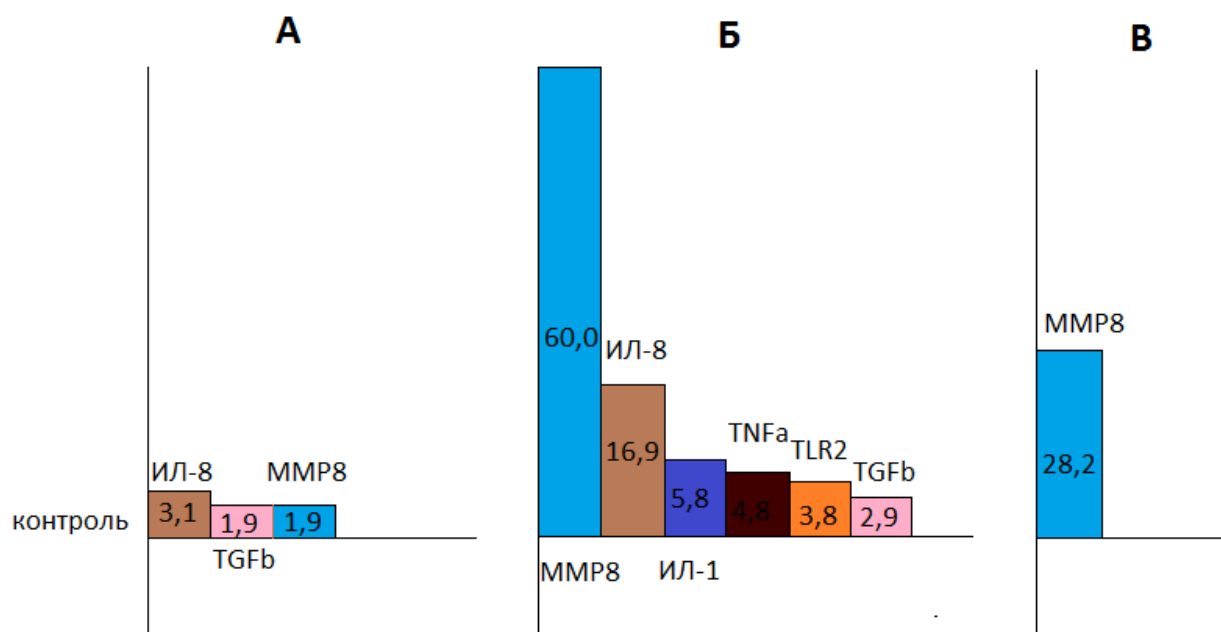


Рисунок 9 – Особенности экспрессии мРНК генов иммунологических показателей при ПРПО по сравнению с группой контроля (А), в зависимости от наличия облигатных анаэробов (Б) и их отсутствия (В) на плодных оболочках

При анализе иммунологических параметров экспрессии мРНК в плаценте при ПРПО обращает на себя внимание повышение ИЛ-4 в 2,5 раза ($p=0,045$) по сравнению с группой контроля. По экспрессии мРНК других генов в плаценте значимых различий не выявлено.

В плаценте в присутствии представителей *Enterobacteriaceae spp.* в обеих группах наблюдалось значимое снижение экспрессии мРНК FOXP3 в 1,7 раза ($p=0,02$) и повышение TLR2 в 2,0 раза ($p=0,02$), что закономерно, т. к. TLR2 являются первыми рецепторами, реагирующими на бактериальное вторжение. В присутствии анаэробов, наоборот, наблюдалось повышение экспрессии мРНК FOXP3 в 6,9 раза относительно группы контроля ($p=0,02$). Выявление «неидентифицированной» бактериальной массы в плаценте в составе других представителей микроорганизмов наблюдалось в 24 случаях из 42 обследованных (50 %), при этом в моновиде они выявлены у 20 родоразрешенных из 42 обследованных (47,6 %), у этих пациенток наблюдалась сниженная экспрессия мРНК TNFα в 3,5 раза ($p=0,01$), TGFβ в 3,5 раза ($p=0,02$), TLR2 в 2,2 раза ($p=0,03$), PTGS2 в 7,1 раза ($p=0,01$), MMP9 в 3,1 раза ($p<0,001$), CD68 ($p=0,03$). Три из них относятся к маркерам воспаления, и их снижение можно расценить двояко. Одна гипотеза: истощение резервов провоспалительных цитокинов на борьбу с присутствием микроорганизмов. Другая гипотеза: исходно низкая экспрессия провоспалительных цитокинов позволяет микроорганизмам беспрепятственно находиться в тканях плаценты.

Таким образом, можно предположить два патогенетических механизма развития ПРПО. Первый вариант связан с увеличением пула анаэробной микрофлоры, причем не всегда дисбиоз на уровне цервикального канала и влагалища был ассоциирован с наличием анаэробов на плодных оболочках и плаценте, что говорит о более раннем

проникновении данных микроорганизмов, а не в момент нарушения целостности плодного пузыря, возможно их проникновение в глубинные структуры плаценты и плодных оболочек происходит с ранних сроков гестации контактным, лимфогенным или гематогенным путем. В пользу данного положения свидетельствует выявление таких факторов риска в анамнезе, как хронический эндометрит, генитальный микоплазмоз. В этом случае в плодных оболочках происходит активация экспрессии провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-8, TLR2, TNF α , компенсаторная активация противовоспалительного цитокина TGF β , что приводило к росту MMP8 – универсального фермента, приводящего к деградации внутриклеточного матрикса и разрушающего структуру плодных оболочек.

В основе второго варианта лежит преждевременное старение плодных оболочек либо своевременное, но на фоне нарушения процесса созревания шейки матки и активации родовой деятельности, о чем свидетельствуют такие факторы риска, как эндокринопатия (высокий ИМТ, гипотиреоз), оперативные вмешательства на шейке матки, наличие признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани. При реализации второго механизма нами было выявлено только повышение MMP8, что подтверждает его универсальную роль в патогенезе ПРПО.

Повышение экспрессии ИЛ-4 в плаценте наблюдалось независимо от состава микробиоты только у пациенток с ПРПО. Экспрессию ИЛ-4 мы можем интерпретировать как активацию Th2 звена, т. к. он является фактором роста Т- и В-лимфоцитов, промотором IgE-опосредованных реакций и роста тучных клеток, которые, в свою очередь, направлены на поддержание гомеостаза соединительной ткани, этот механизм можно считать, с одной стороны, направленным на активацию родов согласно данным литературы (G. Naouat и соавт., 1999), с другой – ИЛ-4 играет защитную роль при беременности и снижается при инфекции (Д. Е. Беглов и соавт., 2022). Учитывая изменения в плодных оболочках и околоплодных водах на фоне ПРПО, повышение ИЛ-4 в плаценте при ПРПО свидетельствует об активации защитных реакций со стороны плаценты, компенсирующих микробное воздействие и влияние провоспалительных цитокинов на плод.

При морфологическом исследовании плацент и плодных оболочек элитных групп в области разрыва у пациенток с ПРПО чаще наблюдались отек – 25 случаев (96,1 %, $p < 0,001$), инволютивно-дистрофические изменения в плодных оболочках (92,3 %, $p < 0,001$) и зоны асептических некрозов (38,5 %; $p = 0,036$) по сравнению с контрольной группой (Рисунок 10). Наличие очагового базального децидуита наблюдалось в обеих группах в 46,1 % и 42,1 % ($p = 0,788$), а частота париетального ХА была значимо выше в группе с ПРПО 92,3 и 15,8 % ($p < 0,001$), но во всех случаях изменения носили очаговый характер. В 2 случаях (7,7 %) в основной группе и в 1 случае (6,2 %) в контрольной группе выявлены признаки воспаления в пуповине (фуникулит/флебит/васкулит), однако негативных последствий у плода не наблюдалось.

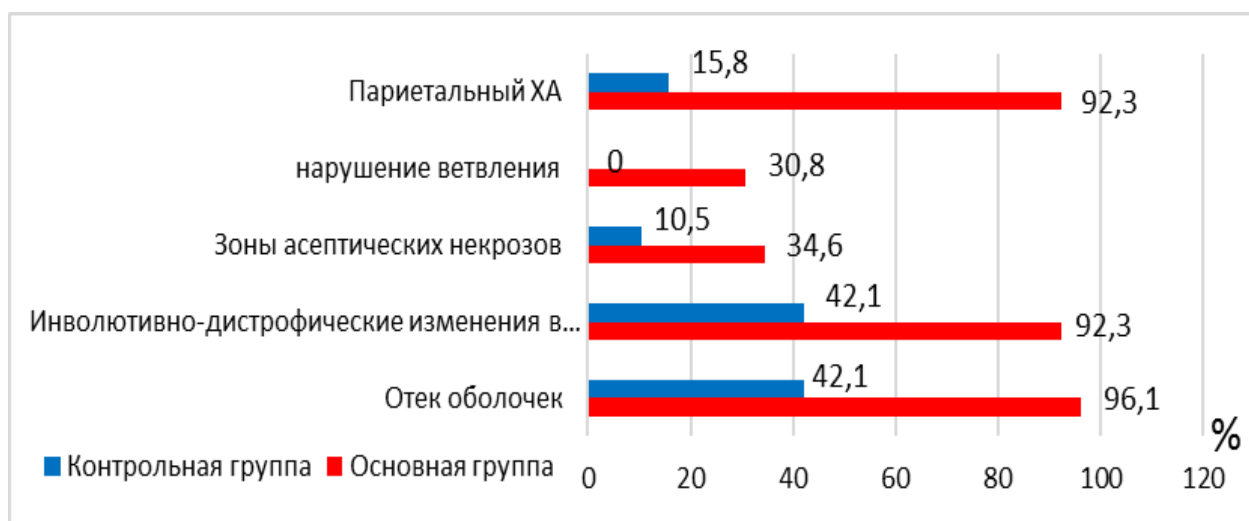


Рисунок 10 – Особенности морфологических изменений плаценты и плодных оболочек при ПРПО по сравнению с интактным плодным пузырем при доношенной беременности в элитных группах

В процессе родов увеличивается частота стеноза сосудов пуповины и опорных ворсин в основной группе – 78 случаев (21,8 %), тогда как в группе сравнения – 5 случаев (4,7 %; $p < 0,001$), фуникулита/флебита/васкулита – 46 случаев (16,7 %) и в 8 случаях в группе контроля (7,5 %; $p = 0,021$), диффузных форм плацентарного ХА и базального децидуита – 18 случаев (6,5 %) и 1 случай (0,9 %; $p = 0,041$) соответственно.

Таким образом, мы можем считать, что первичны при ПРПО инволютивно-дистрофические изменения плодных оболочек с их лейкоцитарной инфильтрацией и признаками париектального ХА, что может соответствовать гистологической картине ПРПО при любом этиологическом факторе (не обязательно инфекционного генеза), а дальнейшие изменения зависят уже от развития родовой деятельности, продолжительности безводного периода, сопутствующей микробиоты и особенностей иммунной системы матери и плода. Гистологически развитый ХА 2-й стадии (согласно Амстердамским критериям, 2015 г.) в элитных группах в основной группе наблюдался в 19/26 последах (73,1 %) и в контрольной группе – 9/19 последов (47,3 %, $p = 0,003$), у 190/275 пациенток основной группы (69,2 %) и у 66/106 пациенток (62,3 %) группы сравнения ($p = 0,224$). Признаков гистологического ХА 3 стадии выявлено не было. Наличие общепринятых критериев гистологического ХА не всегда ассоциировано с присутствием истинных воспалительных изменений в плаценте и плодных оболочках и может быть вариантом физиологической активации родového процесса. Морфологическими изменениями последа и плодных оболочек, выявленными при клиническом ХА, были: диффузный плацентарный ХА – 5/9 случаев (55,6 %), диффузный базальный децидуит – 3/9 случаев (33,3 %) и фуникулит/флебит/васкулит – 6/9 случаев (66,7 %), тогда как в норме частота данных изменений была значимо ниже: 14/372 последов (3,8 %; $p < 0,001$), 16/372 последов (4,3 %; $p < 0,001$), 48/372 последов (12,9 %; $p < 0,001$) соответственно. В случаях диагностирования признаков ВУИ

плода нами также выявлено увеличение частоты диффузного плацентарного ХА и диффузного базального децидуита 4/33 (12,1 %), а самое основное виллузита/интервиллузита 6/33 случаев (18,2 %), тогда как у новорожденных без признаков ВУИ данные изменения в последах наблюдались в 15/348 (4,3 %; $p=0,028$) и в 22/348 (6,3 %; $p=0,013$) случаев, а виллузит/интервиллузит отсутствовал. Таким образом, диффузные поражения плаценты в виде ХА и базального децидуита, а также фуникулита/флебита/васкулита и виллузита/интервиллузита можно считать прогностически неблагоприятными относительно клинических проявлений ХА и последующей реализации ВУИ, остальные изменения укладываются в картину, наблюдаемую при физиологическом течении родов.

При сопоставлении морфологических изменений с особенностями микробиоты цервикального канала было выявлено, что при плацентарном ХА наблюдалось увеличение ОБМ в цервикальном канале ($Me 10^9$) и околоплодных водах ($Me 10^7$; $p=0,011$) за счет увеличения облигатных анаэробов: *Gardnerella vaginalis*+*Prevotella bivia*+*Porphyromonas spp.* ($Me 10^7$; $p=0,026$) и *Eubacterium spp.* ($Me 10^6$; $p=0,012$). При выявлении изменений, характерных для ПРПО (отек плодных оболочек, инволютивно-дистрофические изменения, париетальный ХА), наблюдалось, наоборот, снижение ОБМ ($Me 10^6$; $p=0,043$), *Lactobacillus spp.* ($Me 10^6$; $p=0,003$), и отсутствие представителей *Enterobacteriaceae spp.* ($p=0,042$) в цервикальном канале (Рисунок 11).

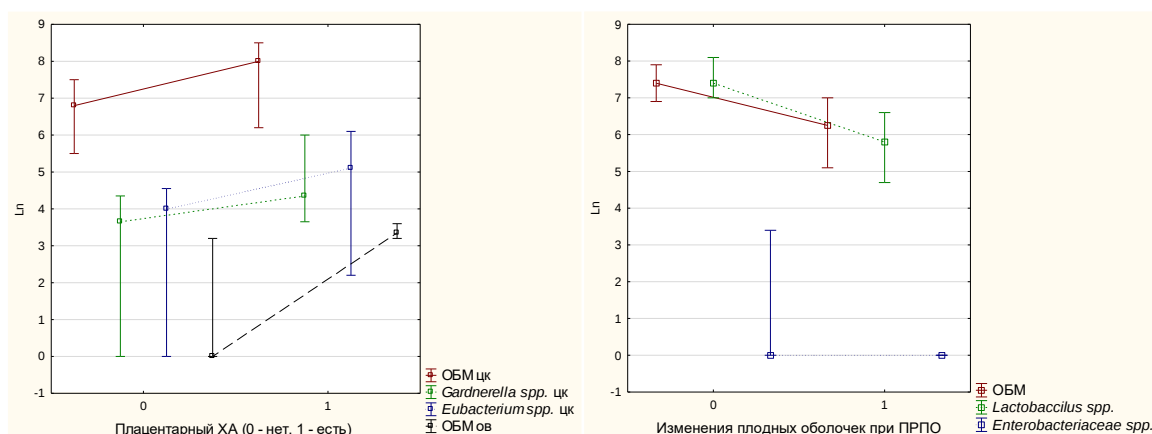


Рисунок 11 – Взаимосвязь особенностей микробиоты цервикального канала (цк), околоплодных вод (ов), плодных оболочек и плаценты с их морфологическими изменениями

Нами был проведен анализ особенности экспрессии перечисленных выше иммунологических показателей в различных локусах в зависимости от морфологических изменений плаценты и плодных оболочек, результаты представлены на Рисунке 12.

Гистологические изменения плаценты и плодных оболочек не зависели от наличия в них ОБМ в целом и неидентифицированных видов в частности. Присутствие облигатных анаэробов в плаценте и на плодных оболочках всегда сочеталось с париетальным ХА ($p<0,001$) и в 3 раза чаще с зонами асептического некроза (66,7 % против 22,2 %; $p=0,042$).

Так как одним из критериев, ограничивающих выжидательную тактику, является риск септических осложнений, нами проведен анализ послеродовых осложнений, в результате которого выявлено, что лейкоцитоз наблюдался в основной группе в 3 раза чаще после родов. Данный факт в сочетании с длительным безводным периодом послужил показанием к антибиотикопрофилактике в 44,3 % случаев ($p < 0,001$) и антибиотикотерапии в 44,8 % случаев ($p < 0,001$) в отличие от группы сравнения (2,6 и 1,7 %). Клинически ХА наблюдался только в основной группе в 10 случаях, что составило 3,2 % ($p = 0,051$). Во всех остальных случаях применение антибиотиков основывалось на изменениях в анализах крови (повышении лейкоцитов $15 \times 10^9/\text{л}$ и СРБ свыше 5 мг/л) и продолжительности безводного периода более 18 часов, таких пациенток в нашем исследовании было 139 человек (44,8 %). Лейкоцитоз в позднем послеродовом периоде наблюдался у 49 пациенток основной группы (15,8 %) и у 4 женщин группы сравнения (3,5 %, $p = 0,001$). Наиболее значимыми предикторами клинического ХА являются: перенесенное ОРВИ в III триместре (ОШ 35,9; 95 %ДИ 0,945–1368,0), более 8 влагалищных исследований (ОШ 96,3; 95 %ДИ 18,4; 503,4), уровень СРБ 12,4 мг/л и выше (при норме менее 5 мг/л) на момент поступления (ОШ 371,6; 95 %ДИ 41,3; 3346,2). Критерием постановки диагноза клинического ХА на основании лабораторных анализов следует считать уровень СРБ свыше 4 норм (ОШ 16,5; 95 %ДИ 3,3; 82,4), который оценен нами на момент 18 часов безводного периода. Уровень лейкоцитов крови являлся крайне нечувствительным и неспецифичным показателем (Рисунок 13).

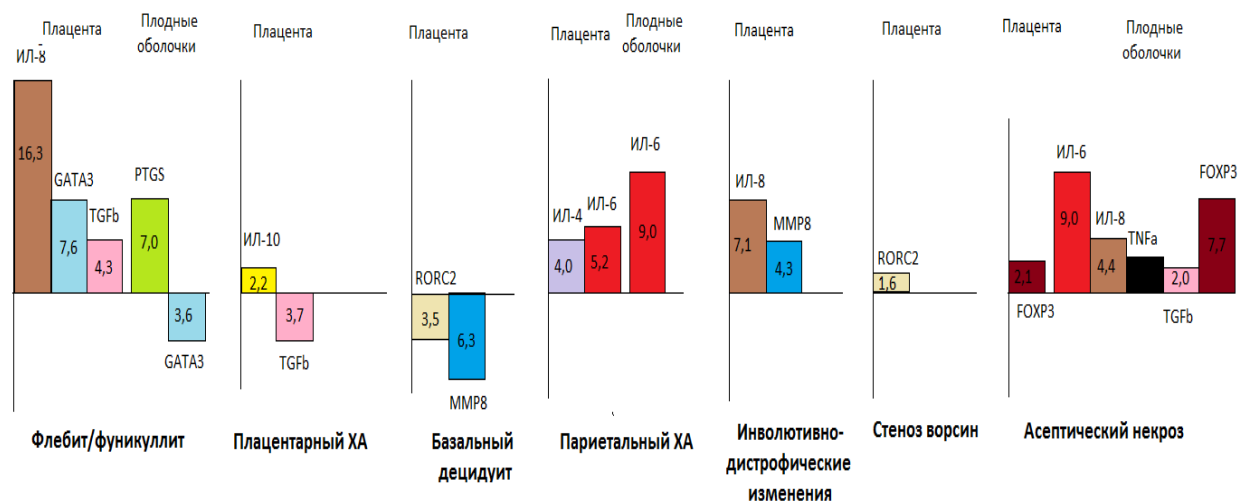
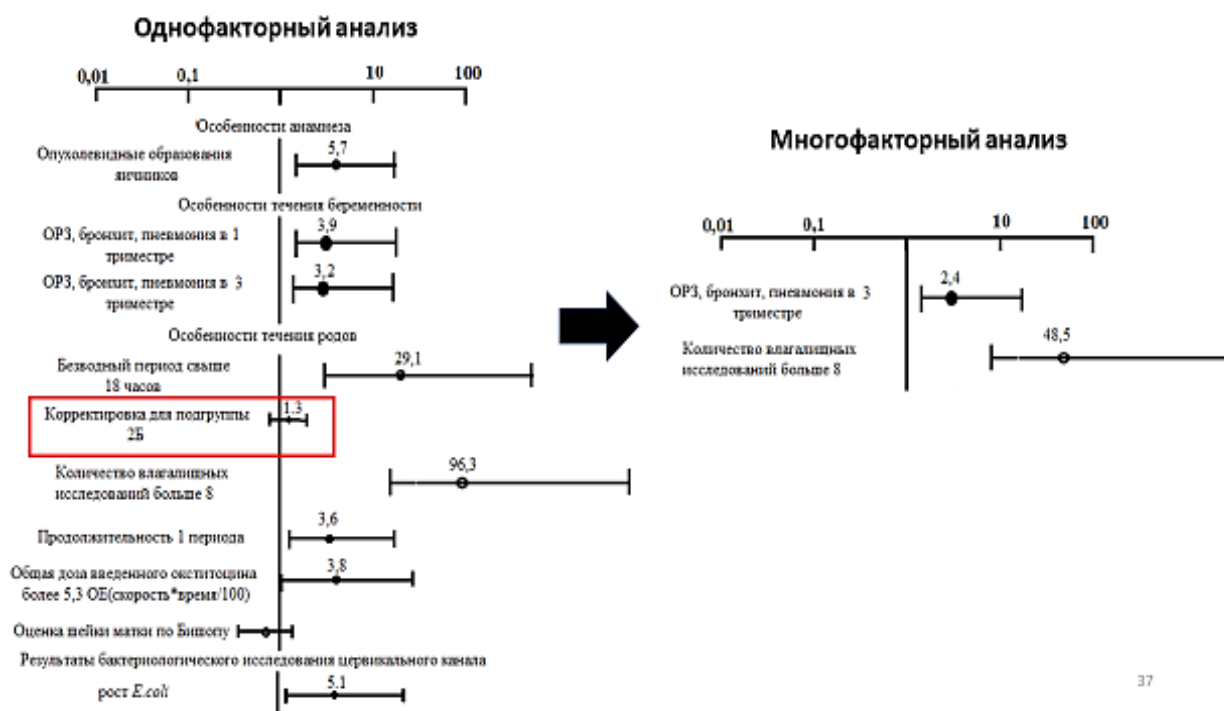


Рисунок 12 – Взаимосвязь особенностей экспрессии иммунологических показателей в плаценте и плодных оболочках при наличии в них морфологических изменений

Нами не выявлено статистически значимых различий в группах по частоте таких осложнений, как гематометра, послеродовые кровотечения, субинволюция матки, метроэндометрит. Значимо чаще в основной группе в родах на основании данных КТГ был выставлен диагноз «Интранатальный дистресс» плода – в 41 случае (13,2 %) против 4 пациенток группы сравнения (3,4 %), что впоследствии послужило показанием к оперативному родоразрешению: экстренное кесарево сечение – 28 случаев (9,0 %) либо

вакуум-экстракция плода – 13 случаев (4,2 %), а также эпизиотомия – 75 случаев (29,5 %). Тогда как в группе сравнения частота эпизиотомий составила лишь 24 случая (21,2 %, $p=0,099$). Также частота разрывов шейки матки была практически в 3 раза выше: в основной группе – 40 случаев из 256 самопроизвольных родов (15,6 %), в группе сравнения – 4 случая (3,54 %, $p=0,021$).



37

Рисунок 13 – Факторы риска развития клинического ХА на основании данных анамнеза и клинико-лабораторных данных

При оценке распределения перинатальной заболеваемости в группах получена более высокая частота кефалогематом (6,5 и 0,9 %, $p=0,018$), значимых различий по частоте септических осложнений у новорожденных не наблюдалось (9,4 и 5,2 %, $p=0,169$) (Таблица 4).

Факторы риска развития ВУИ новорожденного представлены на Рисунке 14, из которого следует, что риск ВУИ не зависел от факта ПРПО и длительности безводного промежутка.

В рамках исследования нами проведен анализ особенностей течения латентного периода и родов у пациенток с доношенной беременностью и преждевременным излитием околоплодных вод в зависимости от оценки шейки матки по шкале Бишопа на момент поступления по подгруппам. В подгруппе 1 у 82 человек (75,2 %) в течение 6 часов началась спонтанная родовая деятельность, у 49 пациенток из них (59,7 %) применение окситоцина не потребовалось, оставшимся 33 пациенткам проводилось родоусиление окситоцином. У 18 рожениц спонтанная родовая деятельность развилась в промежуток до 18 часов, и только у 8 из них потребовалось родоусиление. У 1 пациентки родовая деятельность развилась в промежутке 18–24 часа и родоусиление не потребовалось.

Таблица 4 – Перинатальная заболеваемость в группах (МКБ-10)

Признак	Основная группа (n=310)	Группа сравнения (n=115)	Примечания
	N (%)	N (%)	
Кефалогематома при родовой травме (P12.0)	20 (6,5)	1 (0,9)	$X^2=5,565$; $df=1$; $p=0,018$
Замедленный рост и недостаточность питания плода (P05.0)	15 (4,8)	8 (7,0)	$X^2=0,735$; $df=2$; $p=0,391$
Неонатальная желтуха неуточненная за исключением ГБН (P59.9)	35 (11,3)	7 (6,1)	$X^2=2,550$; $df=1$; $p=0,110$
Средняя и умеренная асфиксия при рождении (P21.1)	9 (2,9)	5 (4,3)	$X^2=2,015$; $df=2$; $p=0,365$
Тяжелая асфиксия при рождении (P21.0)	4 (1,3)	0	
Другие инфекционные болезни, специфичные для перинатального периода (P39.9)	29 (9,4)	6 (5,2)	$X^2=1,9$; $df=2$; $p=0,169$

Таким образом, у всех пациенток подгруппы 1, избравших выжидательную тактику, во временной промежуток до 24 часов развилась спонтанная регулярная родовая деятельность, и только у 41 пациентки (39,6 %) из 101 пациентки со спонтанной родовой деятельностью потребовалось родоусиление окситоцином (Рисунок 15).



Рисунок 14 – Факторы риска ВУИ плода и новорожденного

У пациенток с недостаточно зрелой и незрелой шейкой матки (по Бишопу – менее 8 баллов) на фоне приема первой таблетки мифепристона (n=201) развилась регулярная родовая деятельность в течение последующих 6 часов в 85 случаях (42,3 %), впоследствии из них родоусиление потребовалось у 40 женщин. У 14 пациенток после первой таблетки мифепристона через 6 часов была диагностирована зрелая шейка

матки и начато родовозбуждение окситоцином. После приема второй таблетки мифепристона в течение еще 6 часов родовая деятельность развивалась у 28 пациенток, из них родоусиление выполнено в 22 случаях. У 16 было начато родовозбуждение (спустя 12 часов после 1 таблетки мифепристона). 8 пациенток было прооперировано в связи с отсутствием эффекта от подготовки шейки матки к родам. В подгруппе 2Б в 50 случаях продолжалась выжидательная тактика в течение еще 12 часов. В течение 24 часов от начала преиндукции еще 26 пациенток самостоятельно вступили в роды, родоусиление выполнено у 19 из них, а в 5 случаях было выполнено родовозбуждение, из них только у 1 пациентки без эффекта.

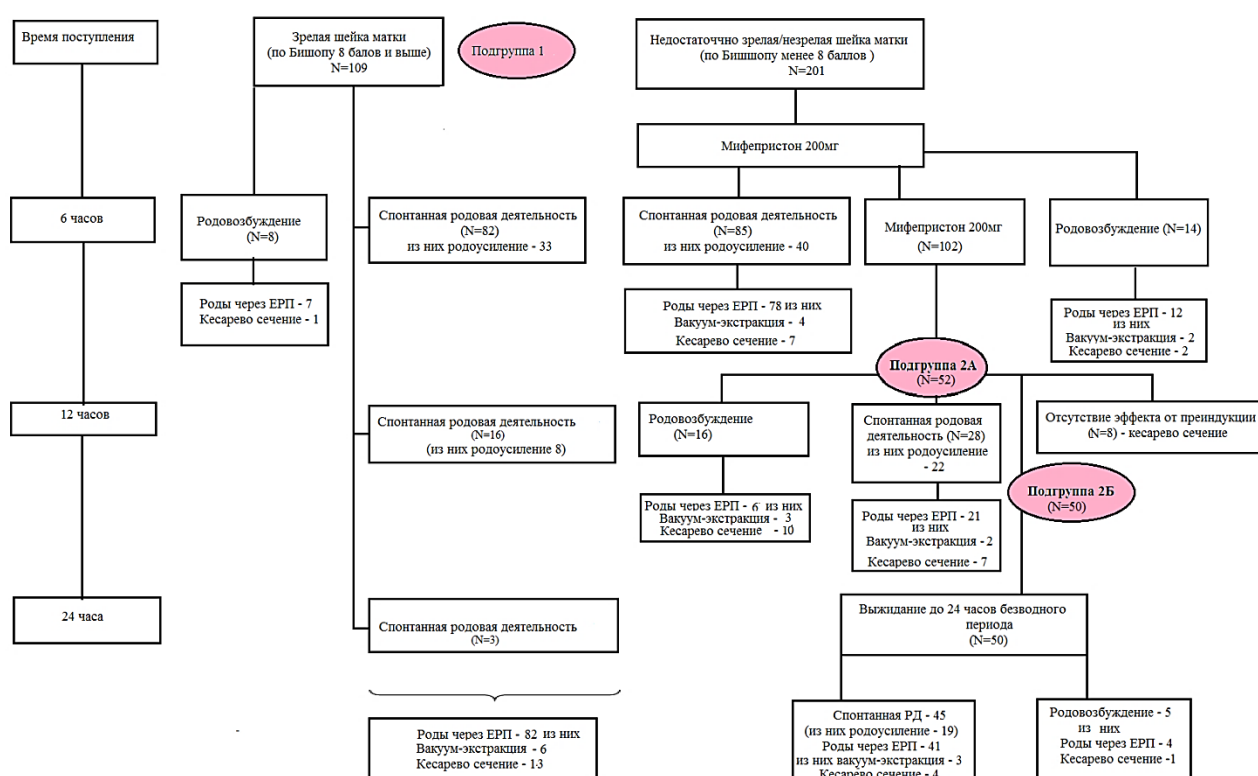


Рисунок 15 – Особенности родоразрешения в подгруппах в зависимости от степени зрелости шейки матки и выбранной тактики

Частота самопроизвольного начала родов в подгруппах со зрелой шейкой матки 8 баллов и более (подгруппа 1) и с незрелой и недостаточно зрелой шейкой матки менее 8 баллов с промежутком без родовозбуждения до 24 часов (подгруппа 2Б) была сопоставима. Максимальная частота родовозбуждения и родоусиления окситоцином наблюдалась в подгруппе 2А, в этой же подгруппе потребовался максимальный процент комбинированных анальгезий и нейроаксиальных методов обезболивания, что повлияло на увеличение кратности влагалищных исследований и частоты кесаревых сечений. Из погруппы 2Б 84 % пациенток родили самопроизвольно, что было сопоставимо с пациентками со зрелой шейкой матки (подгруппа 1), частота кесаревых сечений в этой группе была минимальна, по сравнению с пациентками с активно-выжидательной тактикой до 12 часов (подгруппа 2А) наблюдалось снижение частоты кесарева сечения на 13 % в подгруппе 2Б.

Значимых различий по количеству септических осложнений, анестезиологических осложнений, а также родовому травматизму в подгруппах получено не было, соответственно, увеличение продолжительности безводного периода и выжидательная тактика до 24 часов у пациенток с использованием мифепристона не приводит к увеличению частоты септических осложнений. Почти все пациентки получали антибиотикопрофилактику (94 %) и антибактериальную терапию (98 %), что связано с регламентирующими документами, где 18 часов безводного периода при доношенной беременности являются показанием к назначению антибиотикопрофилактики, а затем, учитывая длительный безводный период, пациенткам группы 2Б была назначена антибактериальная терапия (Рисунок 16).

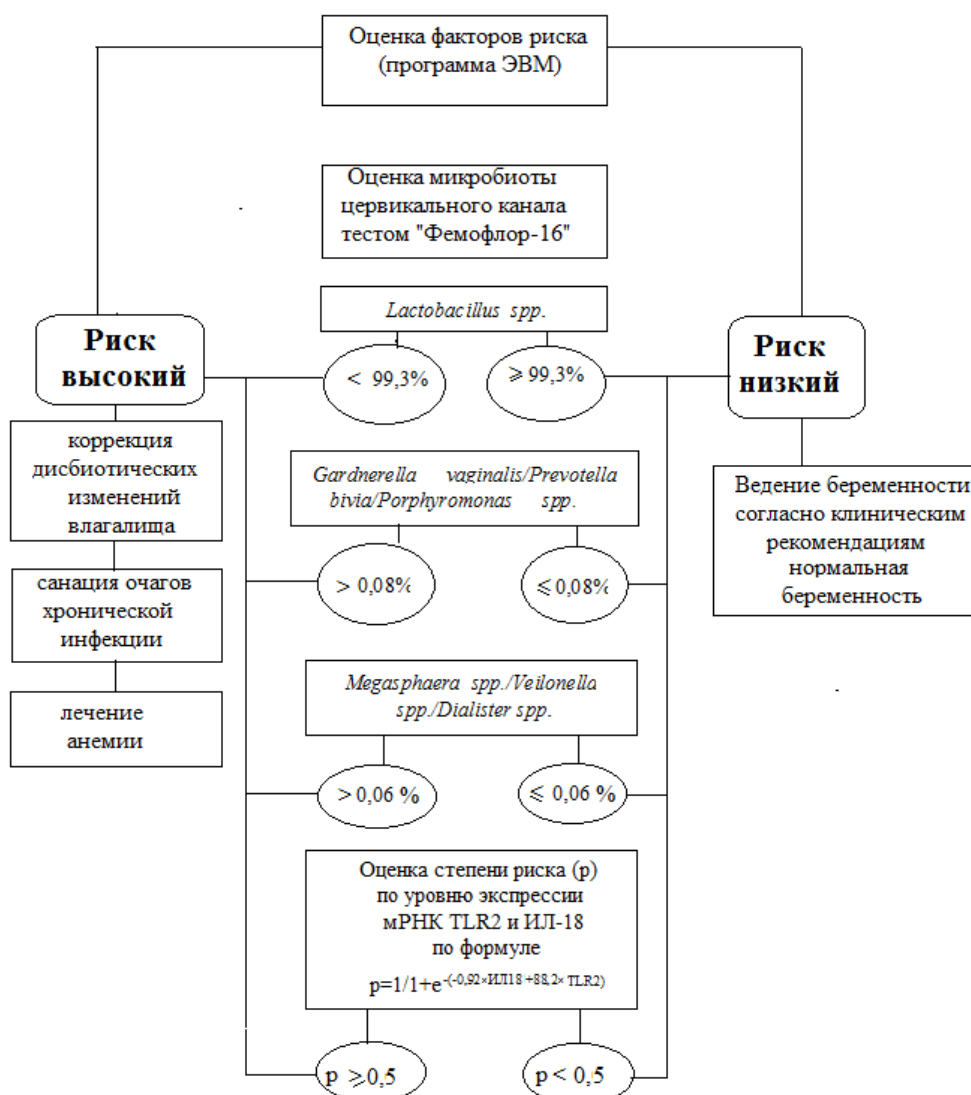


Рисунок 16 – Алгоритм ведения беременных на амбулаторном этапе (срок беременности 35–37 недель) в аспекте выявления риска ПРПО

Относительно перинатальных исходов: в подгруппе 2А – 3 новорожденных родилось в тяжелой асфиксии (2,0 %) и 6 в асфиксии средней степени (4,0 %), что несколько выше, чем в других подгруппах (подгруппа 1 – по 1 случаю (0,9 %) и подгруппа 2Б - 2 случая средней асфиксии (4,0 %); $p=0,444$), частота перевода в ОРИТ и ОПН была сопоставима в подгруппах. Обращает на себя внимание более

высокий процент кефалогематом в подгруппе 2А – 9,9 % ($p=0,03$) и неонатальной желтухи – 15,9 % ($p=0,03$) по сравнению с другими подгруппами.

Следовательно, пролонгация до 24 часов активно-выжидательной тактики безводного периода у женщин группы низкого риска септических осложнений является безопасной и оптимальной тактикой ведения родов.

Исходя из результатов проведенного исследования, нами был создан алгоритм по формированию высокой группы риска по преждевременному разрыву плодных оболочек при доношенной беременности (Рисунок 16) и разработаны практические рекомендации для группы высокого риска.

А также разработан алгоритм ведения родов при ПРПО и доношенной беременности в зависимости от степени зрелости шейки матки и признаков воспалительного процесса (Рисунок 17).

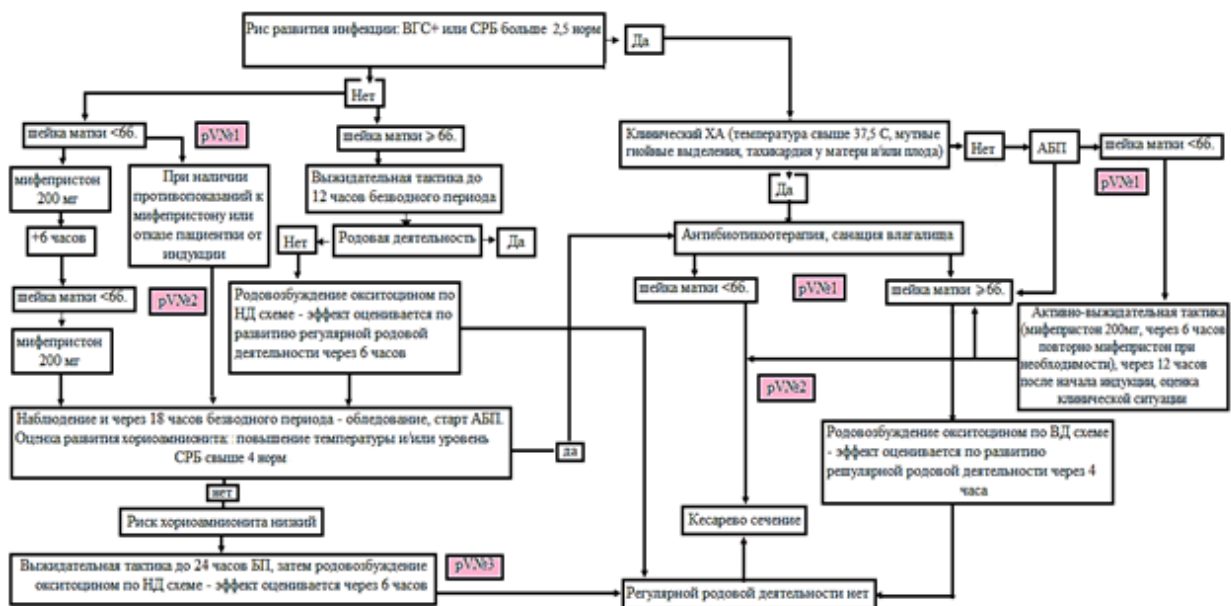


Рисунок 17 – Алгоритм ведения беременности и родов при ПРПО и доношенной беременности

Итоги выполненного исследования (выводы)

1. При проспективном анализе 7450 родов частота ПРПО при доношенной беременности составила 13 %. При ПРПО при доношенной беременности частота кесарева сечения возрастает на 16,4 % ($p<0,001$), частота аномалий родовой деятельности на 29,6 % ($p<0,001$), применения окситоцина – на 22 % ($p<0,001$), антибактериальной терапии ($p<0,001$) и антибиотикопрофилактики – на 40 % ($p<0,001$), применения медикаментозного обезболивания в родах – на 40 % ($p<0,001$), частота кефалогематом у новорожденных – на 5,4 % ($p=0,018$), частота перевода на второй этап выхаживания – на 5,5 % ($p=0,003$), клиники хориоамнионита – 3,2 % ($p=0,050$) по сравнению с родами со своевременным излитием околоплодных вод.

2. Факторами риска ПРПО при доношенной беременности на основании многофакторного анализа являются: наличие в посеве из цервикального канала *Streptococcus spp.* (в 11,7 раза, $p=0,021$), перенесенные в анамнезе: *Mycoplasma genitalium* (в 4,5 раза, $p=0,027$), хронический эндометрит (в 4,5 раза, $p=0,027$), диатермоконизация шейки матки (в 4,1 раза, $p=0,046$); проведение профилактики СДР плода во время беременности (в 6,2 раза, $p=0,007$), первые роды (в 3,9 раза, $p<0,001$), гипофункция щитовидной железы (в 2,9 раза, $p=0,036$), ОРВИ в 3 триместре (в 2,6 раза, $p=0,009$), бактериальный вагиноз в сроке 37 недель и выше (в 2,3 раза, $p=0,022$), анемия в I триместре (в 2,3 раза, $p=0,047$), наличие в посеве из цервикального канала *E. coli* (в 2,4 раза, $p=0,043$), анемия в III триместре беременности (в 2,0 раза, $p=0,012$), клинические признаки недифференцированной дисплазии соединительной ткани (в 1,8 раза, $p=0,046$), индекс массы тела более 26 кг/м² (в 1,8 раза, $p<0,001$). Протективными факторами, снижающими вероятность ПРПО, являются повторные роды (в 4,0 раза, $p<0,001$), наличие в посеве из цервикального канала *Lactobacillae spp.* (в 9,1 раза, $p<0,001$).

3. При доношенной беременности с ПРПО микрофлора цервикального канала, изученная методом ПЦР-РВ, характеризуется снижением ОБМ до $10^{6,0}$ ГЭ/мл ($p<0,001$), снижением *Lactobacillae spp.* до $10^{5,3}$ ГЭ/мл ($p<0,001$). Многомерным математическим анализом установлено, что фактором риска ПРПО при доношенной беременности являются: количество *Lactobacillus spp.* менее 99,3 %; *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* более 0,08 %; *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* более 0,06 % в общем пуле микроорганизмов цервикального канала.

4. Независимо от целостности плодного пузыря микрофлора околоплодных вод, изученная методом ПЦР-РВ, характеризуется: минимальным количеством ОБМ (Ме 0 (0; $10^{3,06}$) ГЭ/образце при ПРПО и ОБМ (Ме 0 (0; $10^{3,02}$) ГЭ/образце – при интактном плодном пузыре ($p<0,001$) по сравнению с цервикальным каналом, с плодными оболочками и плацентой. Методом ПЦР-РВ ОБМ определяется в околоплодных водах на 21,7 % реже, чем в плодных оболочках ($p=0,05$) и на 24,0 % – чем в плаценте ($p=0,03$). Наблюдалось максимальное видовое разнообразие микроорганизмов в околоплодных водах (обратный индекс видового разнообразия Симпсона в околоплодных водах – 0,73 при ПРПО и 0,6 при интактном плодном пузыре) по сравнению с плодными оболочками ($p=0,008$) и плацентой ($p<0,001$). У 55,0 % пациенток с ПРПО и у 47,4 % пациенток с интактным плодным пузырем микроорганизмы в околоплодных водах выявлены не были ($p=0,562$). Наиболее характерными видами микроорганизмов, обитающими в амниотической жидкости, являются представители семейства *Enterobacteriaceae spp.*: при ПРПО – Ме $10^{3,18}$ ГЭ/образце и при интактном плодном пузыре – Ме $10^{2,59}$ ГЭ/образце ($p>0,05$); не установлена взаимосвязь между фактом ПРПО и особенностями микробиоты околоплодных вод.

5. Общая бактериальная масса в плаценте выявлена у 66,7 % пациенток при ПРПО и у 78,9 % при интактном плодном пузыре, с медианой равной $10^{3,2}$ ГЭ/образце при ПРПО и $10^{3,3}$ ГЭ/образце при целом плодном пузыре ($p=0,309$), и минимальным видовым разнообразием (обратный индекс видового разнообразия Симпсона 0,26 и 0,0 соответственно, $p<0,001$). Основными представителями в плаценте были микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae spp.*: Ме $10^{3,2}$ ГЭ/образце при ПРПО и Ме $10^{3,2}$ ГЭ/образце - при интактном плодном пузыре ($p>0,05$). *Lactobacillus spp.* определялись в плаценте только в группе с ПРПО у 8,3 % пациенток. Микробиота плаценты отличалась от микробиоты цервикального канала. Не идентифицированные тестом «Фемофлор-16» микроорганизмы установлены у 50,0 % пациенток с ПРПО с Ме $10^{2,1}$ ГЭ/образце, что значимо выше, чем в плодных оболочках ($p=0,01$), и у 63,2 % пациенток с интактным плодным пузырем с Ме $10^{3,2}$ ГЭ/образце, что значимо выше, чем в околоплодных водах ($p=0,05$). Не установлено взаимосвязи между ПРПО и особенностями микробиоты плаценты.

6. Общая бактериальная масса на плодных оболочках выявлена у 66,7 % пациенток с ПРПО и у 73,6 % с интактным плодным пузырем, с медианой $10^{3,1}$ ГЭ/образце при ПРПО и $10^{3,2}$ ГЭ/образце при интактном плодном пузыре ($p=0,49$). При ПРПО выявлено увеличение видового разнообразия микроорганизмов (обратный индекс видового разнообразия Симпсона 0,41 при ПРПО и 0,003 при интактном плодном пузыре, $p<0,001$). В плодных оболочках лидировали представители семейства *Enterobacteriaceae spp.*: Ме $10^{3,5}$ ГЭ/образце при ПРПО, и Ме $10^{3,3}$ ГЭ/образце при интактном плодном пузыре ($p>0,05$). Установлено увеличение частоты выявления облигатных анаэробов на плодных оболочках (25,0 %) при ПРПО ($p=0,02$).

7. При доношенной беременности и интактном плодном пузыре в цервикальном канале выявлена максимально выраженная экспрессия провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, $p<0,001$; ИЛ-8, $p<0,001$; ИЛ-18, $p<0,001$; ИЛ-23, $p=0,003$), CD68 ($p<0,001$ по сравнению с плацентой и плодными оболочками; $p=0,054$ по сравнению с околоплодными водами), отсутствовала экспрессия ИЛ-4. При ПРПО в цервикальном канале наблюдалась более высокая экспрессия ИЛ-6 (в 48,0 раза, $p=0,002$), TLR2 (в 1,7 раза, $p=0,054$), снижение экспрессии ИЛ-18 (в 59,7 раза, $p<0,001$), CD68 (в 7,7 раза, $p=0,001$), GATA3 (в 11,9 раза, $p=0,002$). С помощью логистической регрессии было установлено, что наиболее значимыми предикторами ПРПО являлись снижение ИЛ-18 и повышение TLR2 в цервикальном канале.

8. При наличии уровня *Lactobacillus spp.* менее 99,3 % в цервикальном канале наблюдается повышение экспрессии ИЛ-6 в 123,0 раза ($p=0,001$), снижение экспрессии ИЛ-18 в 66,0 раз ($p=0,001$), TGF β – в 7,4 раза ($p=0,031$) и CD68 – в 5,4 раза ($p=0,008$).

9. Вне зависимости от целостности плодного пузыря в околоплодных водах выявлена высокая частота экспрессии (100 %) ИЛ-1, ИЛ-18, CD68. В околоплодных

водах наблюдалась минимальная экспрессия GATA3 по сравнению с плацентой ($p < 0,001$), цервикальным каналом ($p = 0,001$), плодными оболочками ($p = 0,019$); TLR4 по сравнению с плацентой ($p = 0,001$), плодными оболочками ($p = 0,003$), цервикальным каналом ($p = 0,007$). При ПРПО в околоплодных водах наблюдается экспрессия ИЛ-6 (при целом плодном пузыре экспрессии не было, $p = 0,046$), повышение ИЛ-8 (в 14,0 раз, $p = 0,004$), MMP9 (в 3,3 раза, $p = 0,050$) и снижение экспрессии ИЛ-18 (в 4,1 раза, $p = 0,044$). Присутствие ОБМ в околоплодных водах активирует экспрессию ИЛ-6, RORC2, TLR2, PTGS2, TNF α и ИЛ-10. Активация экспрессии ИЛ-8, MMP9 является универсальной при ПРПО, не зависящей от присутствия ОБМ в околоплодных водах.

10. Вне зависимости от целостности плодного пузыря в плодных оболочках выявлена высокая частота экспрессии (100 %) ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-18, TNF α , CD-68, GATA3, отсутствовала экспрессия ИЛ-17. При ПРПО на плодных оболочках происходит увеличение хемоаттрактанта ИЛ-8 в 3,1 раза ($p = 0,022$), TGF β – в 1,9 раза ($p = 0,024$), MMP8 – в 1,9 раза ($p < 0,001$). При выявлении на плодных оболочках микроорганизмов, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae spp.*, независимо от целостности плодного пузыря отсутствует экспрессия ИЛ-6 ($p = 0,020$), FOXP3 ($p = 0,017$), RORC2 ($p = 0,013$), снижена ИЛ-8 в 12,0 раз ($p = 0,013$), MMP8 в 28,2 раза ($p = 0,024$), следовательно, присутствие *Enterobacteriaceae spp.* расценивается иммунной системой как состояние равновесия и является нормальной микробиотой плодных оболочек. При выявлении облигатных анаэробов на плодных оболочках наблюдалась активация провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β в 5,8 раза ($p = 0,001$), TNF α в 4,8 раза ($p = 0,042$), TLR2 в 3,8 раза ($p = 0,034$).

11. Вне зависимости от целостности плодного пузыря в плаценте выявлены высокая частота экспрессии (100 %) ИЛ-1 β , ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, TNF α , MMP9, CD68, GATA3; отсутствие экспрессии ИЛ-17. При ПРПО в плаценте отмечалось повышение экспрессии ИЛ-4 в 2,5 раза ($p = 0,045$). В присутствии ОБМ в плаценте наблюдалось снижение экспрессии ИЛ-1 β в 1,7 раза ($p = 0,041$), TNF α в 3,6 раза ($p = 0,032$), PTGS2 в 3,5 раза ($p = 0,036$), MMP9 в 5,0 раз ($p < 0,001$). При выявлении *Enterobacteriaceae spp.* в плаценте экспрессия FOXP3 практически отсутствовала ($Me = 0,00$, $p = 0,02$) и наблюдалось повышение экспрессии TLR2 в 2,0 раза ($p = 0,02$), а при выявлении облигатных анаэробов повышение экспрессии FOXP3 – в 6,9 раза ($p = 0,02$).

12. При ПРПО при доношенной беременности в плаценте преобладают нарушение ветвления ворсин (30,8 %, $p = 0,008$), очаговый париеальный ХА (92,3 %, $p < 0,001$), инволютивно-дистрофические изменения (92,3 %, $p < 0,001$), зоны асептического некроза (38,5 %, $p = 0,036$) и отек плодных оболочек (96,1 %, $p < 0,001$) в сравнении с интактным плодным пузырем.

13. Признаки гистологического хориоамнионита выявлены в 69,2 % случаях при ПРПО и 62,5 % с интактным плодным пузырем ($p = 0,224$). Наличие общепринятых

критериев гистологического ХА не всегда ассоциировано с наличием истинных воспалительных изменений в плаценте и плодных оболочках и может быть вариантом физиологической активации родового процесса.

14. Присутствие в околоплодных водах ОБМ ассоциировано с повышением частоты плацентарного ХА – 21,0 % ($p=0,031$). Присутствие анаэробов в плаценте и на плодных оболочках в 100 % случаев ассоциировано с париетальным ХА ($p<0,001$), и при этом чаще наблюдаются зоны асептических некрозов в плаценте (66,7 %, $p=0,042$). Вне зависимости от целостности плодного пузыря париетальный ХА ассоциирован со снижением уровня *Lactobacillus spp.* (менее $10^{6,4}$ ГЭ/образце, или 27,83 %) и *Enterobacteriaceae spp.* (менее $10^{3,3}$ ГЭ/образце, или менее 0,5 % в общем пуле микроорганизмов) в цервикальном канале.

15. Вне зависимости от целостности плодного пузыря при выявлении гистологических признаков фуникулита/флебита отмечалось повышение экспрессии в плаценте генов мРНК ИЛ-8 (в 16,3 раза, $p=0,02$), TGF β (в 4,3 раза, $p=0,02$), GATA3 (в 7,6 раза, $p=0,04$), на плодных оболочках повышение PTGS2 (в 7,0 раз, $p=0,042$), снижение GATA3 (в 3,6 раза, $p=0,042$). При выявлении гистологических признаков плацентарного ХА отмечалось значимое повышение экспрессии в плаценте генов мРНК ИЛ-10 (в 2,2 раза, $p=0,03$) и снижение TGF β (в 3,7 раза, $p=0,02$). При выявлении гистологических признаков базального децидуита отмечалось значимое снижение экспрессии в плаценте генов мРНК RORC2 (в 3,5 раза, $p=0,03$), MMP8 (в 6,2 раза, $p=0,04$). При наличии лейкоцитарной инфильтрации плодных оболочек наблюдалось значимое повышение ИЛ-4 в плаценте в 4 раза ($p=0,009$). Экспрессия ИЛ-6 при лейкоцитарной инфильтрации повышалась как в плаценте – в 5,2 раза ($p=0,027$), так и в плодных оболочках в 9,0 раз ($p=0,037$). При стенозе ворсин пуповины/опорных ворсин отмечалось повышение RORC2 в плаценте в 1,6 раза ($p=0,029$). При выявлении зон асептического некроза – повышение FOXP3 в плаценте в 2,1 раза ($p=0,038$), в плодных оболочках – повышение ИЛ-6 в 9,0 раз ($p=0,032$), ИЛ-8 в 4,4 раза ($p=0,028$), TNF α в 2,6 раза ($p=0,016$), TGF β в 2,0 раза ($p=0,042$), FOXP3 в 7,7 раза ($p=0,044$). С отеком плодных оболочек было ассоциировано повышение экспрессии ИЛ-8 на плодных оболочках в 8,8 раза ($p<0,001$), с инволютивно-дистрофическими изменениями повышение ИЛ-8 на плодных оболочках в 7,1 раза ($p=0,012$) и MMP-8 в 4,3 раза ($p=0,043$).

16. У пациенток с ПРПО в околоплодных водах наблюдались более высокое содержание общего белка ($p=0,03$) и СРБ до 0,04 ($p<0,001$) и снижение уровня креатинина ($p=0,03$), кальция ($p<0,001$) и калия ($p=0,04$) без изменения уровня глюкозы. Наблюдались положительные корреляции между *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* и уровнем креатинина ($r=0,399$, $p=0,032$), *Enterobacteriaceae spp.* и уровнем калия ($r=0,378$, $p=0,043$), *Streptococcus spp.* и уровнем натрия ($r=0,383$, $p=0,040$).

17. Частота клинического хориоамнионита при преждевременном разрыве плодных оболочек при доношенной беременности составляет 3,2 % ($p=0,051$), значимыми предикторами являются перенесенное ОРВИ в III триместре, более 8 влагалищных исследований, уровень СРБ 12,4 мг/л (при норме менее 5 мг/л) на момент поступления. Критерием постановки диагноза клинического ХА на основании лабораторных анализов следует считать уровень СРБ свыше 4 норм на момент 18 часов безводного периода. Каждое влагалищное исследование повышает вероятность развития клинического ХА в 5,4 раза ($p=0,006$).

18. Разработан алгоритм персонифицированного ведения родов при ПРПО и доношенной беременности с патогенетическим обоснованием принципов оптимизации выжидательной тактики при ПРПО и доношенной беременности (анализ ведения родов, материнской и перинатальной заболеваемости, исходов родов), позволяющий снизить частоту абдоминального родоразрешения на 13,2 % ($p=0,044$) без увеличения осложнений для матери и плода. Факторами, повышающими риск абдоминального родоразрешения, являлись оперативные вмешательства на шейке матки в анамнезе (ДЭК) – в 45,7 раза ($p<0,001$), дистонии шейки матки – в 30,8 раза ($p<0,001$), слабость родовой деятельности – в 6,9 раза ($p<0,001$); факторы, снижающие риск абдоминального родоразрешения: повторные роды – в 6,8 раза ($p=0,008$) и размеры плода от 3000 до 4000 г – в 4,4 раза ($p=0,001$).

Практические рекомендации

1. На прегравидарном этапе с учетом выявленных факторов риска рекомендовано: нормализация ИМТ, соблюдение здорового рациона питания, активный образ жизни, строгая оценка показаний к хирургическим вмешательствам на шейке матки; выявление и лечение гипофункции щитовидной железы, санация хронических очагов инфекции: мочевыводящих путей, ЛОР-органов, ротовой полости.

2. Беременным в сроке 36–37 недель необходимо проводить оценку риска ПРПО с помощью программы ЭВМ «Способ расчета риска преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности», оценку содержимого цервикального канала тестом «Фемофлор-16» либо с использованием методики определения экспрессии генов мРНК ИЛ-18 и TLR2 в цервикальном канале с дальнейшим расчетом по формуле.

3. При выявлении уровня *Lactobacillus spp.* менее 99,3 % и/или *Gardnerella vaginalis/Prevotella bivia/Porphyromonas spp.* более 0,08 %, и/или *Megasphaera spp./Veillonella spp./Dialister spp.* более 0,06 тестом «Фемофлор-16», беременная относится к группе высокого риска ПРПО, и ей рекомендована коррекция дисбиотического процесса с использованием препаратов, не подавляющих рост *Lactobacillus spp.*

4. При повышении экспрессии мРНК TLR2 и снижении ИЛ-18 в цервикальном канале или при выявлении расчетного показателя разработанной формулы свыше 0,5 пациентка относится в группу высокого риска ПРПО.
5. При установлении диагноза ПРПО при доношенной беременности необходимо минимизировать количество влагалищных исследований до 5 раз, за счет исключения влагалищных исследований на период выжидательной тактики (при условии отсутствия других показаний), использование эпидуральной анестезии с анестетиками длительного действия.
6. Для оценки риска развития хориоамнионита при ПРПО и доношенной беременности использовать следующие критерии: перенесенное ОРВИ (ОРЗ) в третьем триместре гестации, СРБ свыше 12,4 мг/л (при норме менее 5 мг/л) в первые 2 часа от момента отхождения вод, более 8 влагалищных исследований за период ведения родов. Критерием постановки диагноза клинического хориоамнионита следует считать гипертермию свыше 37,5 °С (при исключении других причин), мутные выделения (патологическое окрашивание вод), тахикардию матери и/или плода, СРБ свыше 4 норм (при исключении других причин).
7. При наличии признаков хориоамнионита на фоне антибиотикотерапии при незрелой шейке матки родоразрешить путем операции кесарева сечения; при недостаточно зрелой/зрелой шейке матки начать родовозбуждение окситоцином по высокодозированной схеме.
8. В случае отсутствия признаков хориоамнионита при зрелой шейке матки показана выжидательная тактика до 12 часов безводного периода, затем при отсутствии родовой деятельности – индукция родов окситоцином по низкодозированной схеме, максимальный промежуток выжидания развития адекватной регулярной родовой деятельности 6 часов.
9. В случае отсутствия признаков хориоамнионита при исходно недостаточно зрелой/незрелой шейке матки рекомендована выжидательная тактика до 24 часов безводного периода с возможной преиндукцией мифепристоном 200 мг, с последующей повторной дозой мифепристона 200 мг через 6 часов.
10. Рекомендовано роженицам с ПРПО разрешить прием пищи, жидкости на период выжидательной тактики с возможностью нахождения в палате родового наблюдения, свободное положение и передвижение. Необходимо предусмотреть немедикаментозные методы обезболивания, в ночное время обезболивание непродуктивных схваток и предоставление сна-отдыха, при развитии регулярной родовой деятельности предпочтительно применение эпидуральной анестезии с использованием анестетиков длительного действия.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Выявленные закономерностей формирования и динамического изменения микробиоты в околоплодных водах, плодных оболочках и плаценте в течение беременности и в родах в сочетании с изучением иммунологических показателей

открывает перспективы исследований с целью расширения знаний о патогенезе ПРПО не только при доношенной беременности, но и при недоношенной, и создания усовершенствованных методик первичной профилактики ПРПО, оптимизации течения родов и профилактики септических осложнений на основании динамики провоспалительных и противовоспалительных цитокинов, транскрипционных факторов иммунокомпетентных клеток, локализованных в плаценте, плодных оболочках и околоплодных водах. Необходимо продолжить изучение особенностей гистологической структуры плаценты и плодных оболочек при ПРПО и своевременном излитии околоплодных вод для уточнения клинически значимых критериев воспалительных изменений в аспекте прогнозирования негативных последствий для матери и плода.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Метаболическая терапия в комплексном лечении и профилактике гестационных осложнений / Н. В. Спиридонова, О. И. Линева, С. В. Нестеренко, А. В. Казакова // *Врач.* – 2017. – № 9. – С. 78–81.
2. Анализ показаний к оперативному родоразрешению путем операции кесарево сечение на примере родильного отделения 2 уровня / Н. В. Спиридонова, Н. Г. Денисова, С. В. Сыресина, М. Г. Петров, И. А. Панина // *Клинические и медико-организационные решения по сохранению репродуктивного здоровья семьи: сборник статей* / под ред. профессора Ю. В. Тезикова, профессора И. С. Липатова. – Самара: Вектор, 2017. – С. 323–326.
3. Предикторы неблагоприятных неонатальных исходов при доношенной беременности / Н. Г. Денисова, С. В. Сыресина, И. В. Казанкова, Е. С. Ахмерова, Ю. А. Артюх // *Клинические и медико-организационные решения по сохранению репродуктивного здоровья семьи: сборник статей* / под ред. профессора Ю. В. Тезикова, профессора И. С. Липатова. – Самара: Вектор, 2017. – С. 326–327.
4. Плацента и плодные оболочки при дородовом излитии околоплодных вод и доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, Т. В. Ларина, Д. С. Бесков, Ю. В. Зотова, С. В. Сыресина // *Аспирантский вестник Поволжья.* – 2018. – № 5–6. – С. 57–65.
5. Анализ особенностей течения родов и перинатальных исходов при изолированном маловодии / Н. В. Спиридонова, С. А. Нестеренко, Н. Г. Денисова, С. В. Сыресина, Ю. А. Артюх, О. Ю. Гурьянова // *Аспирантский вестник Поволжья.* – 2019. – № 5–6. – С. 39–43.
6. Особенности микробиоты цервикального канала при дородовом излитии околоплодных вод и доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, А. В. Казакова, О. О. Девятова, Д. А. Галкина, О. Н. Головина // *Акушерство и гинекология.* – 2019. – № 5. – С. 77–84.
7. Анализ перинатальных исходов и материнской заболеваемости при оперативном влагалищном родоразрешении с применением вакуум-экстракторов / Н. В. Спиридонова, Т. И. Каганова, С. В. Сыресина, О. О. Девятова, Д. А. Галкина, О. Н. Головина // *Акушерство и гинекология.* – 2019. – № 10. – С. 92–99.
8. Features of Production of Interleukin 17 in Full-term Pregnancy / N. Spiridonova // 13 Congress of the European society of Gynecology (16–19 October 2019). – Vienna, 2019. – P. 5.

9. Особенности микробиоты плаценты при преждевременном излитии околоплодных вод и доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, В. О. Катюшина // **Практическая медицина**. – 2020. – Т. 18, № 6. – С. 13–19.
10. Влияние микробиоты мочевыводящих путей на преждевременный разрыв плодных оболочек при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, О. О. Девятова // **Практическая медицина**. – 2020. – Т. 18, № 2. – С. 35–41.
11. Особенности микробиоты околоплодных вод при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, Л. К. Медведчикова-Ардия // **Пермский медицинский журнал**. – 2020. – Т. 37, № 6. – С. 13–24.
12. Микробиота мочевыводящих путей и цервикального канала при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии**. – 2020. – Т. 19, № 1. – С. 68–76.
13. Особенности течения родов при преждевременном разрыве плодных оболочек и «зрелой» шейке матке в сроке 37 недель и выше / Н. В. Спиридонова, А. А. Безрукова, О. М. Медникова, Л. К. Медведчикова-Ардия // **Акушерство, гинекология и репродукция**. – 2020. – № 14 (6), – С. 646–658.
14. Особенности микробиоты плаценты при доношенной беременности / А. А. Безрукова, Н. В. Спиридонова, Д. А. Галкина // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2020. – № 5–6. – С. 7–14.
15. Анализ факторов, влияющих на продолжительность латентного промежутка от момента отхождения околоплодных вод до развития родовой деятельности / Н. В. Спиридонова // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2020. – № 5–6. – С. 15–24.
16. Анаэробный дисбиоз цервикального канала как фактора риска преждевременного разрыва плодных оболочек / Н. В. Спиридонова, В. А. Петянова, Н. Г. Денисова, С. В. Сыресина, М. Г. Петров, Н. А. Родионова, Л. С. Инюшева // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – № 1–2. – С. 100–109.
17. Особенности экспрессии генов врожденного иммунитета тканями плаценты и плодными оболочками при доношенной беременности // **Аспирантский вестник Поволжья**. – 2021. – № 5–6. – С. 191–199.
18. Микробиота плодных оболочек при интактном плодном пузыре и доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, Е. А. Махлина // **Journal of Siberian Medical Sciences**. – 2021. – № 1. – С. 4–11.
19. Микробиологическая и биохимическая характеристика амниотической жидкости при доношенной беременности, осложнившейся преждевременным излитием околоплодных вод / Н. В. Спиридонова, Л. К. Медведчикова-Ардия, С. В. Михальченко, С. А. Нестеренко, В. О. Катюшина // **Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии**. – 2021. – № 20 (6). – С. 56–64.
20. Особенности экспрессии генов Toll-подобных рецепторов в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности, осложнившейся преждевременным излитием околоплодных вод // **Практическая медицина**. – 2021. – Т. 19, № 2. – С. 55–60.
21. Воспалительные изменения плаценты в аспекте экспрессии мРНК генов транскрипционных факторов при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова // **Акушерство и гинекология**. – 2022. – № 3. – С. 49–58.
22. Хориоамнионит, спорные вопросы терминологии и диагностики / Н. В. Спиридонова // **Практическая медицина**. – 2022. – Т. 20, № 3. – С. 20–27.

23. Особенности экспрессии генов Toll-подобных рецепторов в плаценте и плодных оболочках при доношенной беременности, осложнившейся преждевременным излитием околоплодных вод / Н. В. Спиридонова, С. В. Михальченко, М. Г. Петров // XVI Международный конгресс по репродуктивной медицине (18–21 января 2022): сборник тезисов. – Москва, 2022. – С. 86–87.
24. Интерлейкин 17 при доношенной беременности в цервикальном канале и различных локусах фетоплацентарного комплекса / Н. В. Спиридонова, Н. Г. Денисова, С. В. Сыресина, Ю. А. Артюх // XVI Международный конгресс по репродуктивной медицине (18–21 января 2022): сборник тезисов. – Москва, 2022. – С. 85–86.
25. Бактериальный вагиноз и вульвовагинит у беременных при истмико-цервикальной недостаточности. Дифференцированный подход к медикаментозной терапии / Н. В. Спиридонова, О. О. Девятова, А. А. Безрукова // **Доктор Ру. Гинекология.** – 2022. – № 5 (21). – С. 25–30.
26. Сравнительный анализ микробиоты цервикального канала и фетоплацентарного комплекса при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, С. В. Михальченко // **Российский вестник акушера-гинеколога.** – 2022. – № 5 (22). С. 15–21.
27. Особенности экспрессии мРНК генов транскрипционных факторов при физиологической доношенной беременности / Н. В. Спиридонова // **Проблемы репродукции.** – 2022. – №5 (28). С. 6-13.

Объекты интеллектуальной собственности

1. Способ оценки риска преждевременного разрыва плодных оболочек у беременных / Н. В. Спиридонова, А. А. Безрукова, Д. А. Галкина, О. О. Девятова, Л. К. Медведчикова-Ардя, О. М. Медникова. Патент на изобретение 2740950 С1, 21.01.2021.
2. Программа для оценки факторов риска преждевременного разрыва плодных оболочек при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, С. В. Михальченко, Л. К. Медведчикова-Ардя, Д. Д. Гусева, С. А. Нестеренко, О. М. Медникова. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2021669307, 26.11.2021.
3. Устройство для сбора околоплодных вод / Н. В. Спиридонова. Патент на полезную модель 198317 U1, 30.06.2020.
4. Способ прогноза риска родового излития околоплодных вод при доношенной беременности / Н. В. Спиридонова, Д. А. Галкина, О. О. Девятова, Л. К. Медведчикова-Ардя, О. М. Медникова, А. А. Безрукова. Патент на изобретение 2739123 С1, 21.12.2020.