

На правах рукописи

ЖОЛОБОВ ЮРИЙ НИКОЛАЕВИЧ

**ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА
У ЖЕНЩИН С УГРОЖАЮЩИМИ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫМИ РОДАМИ**

14.01.01- акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Иваново 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор медицинских наук, профессор

Малышкина Анна Ивановна
Назаров Сергей Борисович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, главный врач
ГБУЗ Московской области
«Московский областной перинатальный центр»

Серова Ольга Федоровна

доктор медицинских наук, доцент,
заведующий акушерским наблюдательным
отделением ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр акушерства, гинекологии и
перинатологии имени академика В.И. Кулакова»
Минздрава России

Кан Наталья Енкиновна

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д208.028.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России, сайт: www.niimid.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Панова Ирина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Проблема охраны здоровья матери и ребенка в настоящее время рассматривается как важнейшая составная часть здравоохранения, имеющая первостепенное значение для формирования здорового поколения. Одной из наиболее актуальных проблем в современном акушерстве являются преждевременные роды (ПР), частота которых, по данным мировой литературы, составляет от 5 до 18% [Баранов И. И., 2014; Серова О.Ф., 2014; Савельева Г.М., 2015; Доброхотова Ю.Э., 2016; Romero R., 2014]. Преждевременные роды являются ведущей причиной неонатальной смертности и второй по частоте причиной смерти детей в течение первых 5 лет жизни [Liu L., 2012]. Преждевременные роды это «большой акушерский синдром», обусловленный патологическими процессами, приводящими в 70% случаев к ПР, половина из которых возникают самопроизвольно, 30% в результате преждевременного разрыва плодных оболочек и 20% индуцированы по медицинским показаниям. Практическое значение научных исследований по данной теме обусловлено наличием многочисленных факторов риска недонашивания беременности и отдаленными последствиями нарушения здоровья детей [Радзинский В. Е., 2009; Серова О.Ф. 2015; Romero R., 2014; Passini R.. 2015]. Несмотря на многочисленные исследования, применение новых технологий и лекарственных препаратов, лечение угрожающих ПР остается недостаточно эффективным [Баранов И. И., 2014; Di Renzo G. C., 2006]. В связи с этим в настоящее время большое внимание уделяется разработке методов первичной и вторичной профилактики данного осложнения беременности.

Степень разработанности темы

В настоящее время факторам риска преждевременных родов уделяется большое внимание. Выделены основные группы факторов, приводящие к реализации преждевременных родов [Баранов И. И., 2014; M. van Os , 2013]. Но, несмотря на многочисленные исследования, их изучение остается актуальным в связи с разными социально-экономическими параметрами регионов, изменяющимися во времени, генетической спецификой популяции.

В возникновении угрозы прерывания беременности определенную роль могут играть полиморфизмы генов факторов и компонентов системы гемостаза, приводящие к их аномальному синтезу или нарушению функциональной активности. Однако, данные разных авторов существенно противоречивы [Zahed L. F., 2006; Uvuz F., 2009; Zhang G., 2017].

Множество известных исследований беременности акцентировано на резистентности к антикоагулянтной системе протеина С, вызванной Лейденовской мутацией FV - FVL(+). Так, исследование [Hiltunen L. M., 2011]

показало, что врожденная тромбофилия теоретически может содействовать развитию преждевременных родов, но роль ее как фактора риска неизвестна. Мало исследована приобретенная резистентность к APC в отсутствие Лейденовской мутации (APCR(FVL-)). Известно, что женщины с приобретенной тромбофилией имеют повышенный риск потери беременности во II триместре [Lindqvist P. G., 2006]. Однако механизм потери беременности у этих женщин еще не изучен. Показатель резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину С (APCR) не изучался как прогностический фактор при угрожающих преждевременных родах. При развитии угрожающих преждевременных родов, вероятно, нарушается баланс про- и антикоагулянтных систем из-за активизации тромбофилических механизмов. Повышенная концентрация в плазме тромбина приводит к его утеротоническому действию на миометрий и провоцирует развитие преждевременных родов.

Понимание полиэтиологичности УПР в развитии тех или иных патогенетических механизмов их развития, требует персонифицированного подхода к профилактике УПР и дифференцированной терапии развившегося синдрома. В литературе имеются работы по изучению прогностических критериев УПР, но систематические обзоры показали, что точность тестов для прогнозирования ПР недостаточна. Количество исследований, объединяющих все возможные факторы риска, невелико.

Цель исследования: установить особенности гемостаза и полиморфизма генов системы гемостаза и генов, характеризующих функциональное состояние сосудистой стенки, у женщин с угрожающими преждевременными родами для разработки способа прогнозирования исхода беременности.

Задачи исследования

1. Уточнить факторы риска угрожающих преждевременных родов в современных условиях на основании клинико-эпидемиологического исследования.
2. Установить особенности продукции регуляторных газов (оксид азота и сероводород) и состояния гемостаза у беременных с угрожающими преждевременными родами.
3. Выявить особенности полиморфизма генов системы гемостаза и генов, характеризующих функциональное состояние сосудистой стенки, у женщин с угрожающими преждевременными родами.
4. Разработать способ прогнозирования исхода угрожающих преждевременных родов.

Научная новизна

Впервые установлен факт снижения продукции сероводорода при угрожающих преждевременных родах. Показано, что пролонгирование беременно-

сти более чем на 48 часов при проведении токолитической терапии гексопреналина сульфатом было характерно для женщин с повышенной продукцией сероводорода.

Установлены закономерные изменения функционального состояния гемостаза у беременных с угрожающими преждевременными родами, проявляющиеся тенденцией к гиперкоагуляции (укорочение АЧТВ и тромбинового времени, увеличение активности фактора Виллебранда) и усилению фибринолиза (повышение фибринолитической активности, увеличение концентрации РФМК и показателя LY30 по данным тромбоэластографии).

Доказано, что у пациенток с угрожающими преждевременными родами при эффективной токолитической терапии и пролонгации беременности на 48 часов и более, отклонения показателей гемостаза были менее выраженными по сравнению с женщинами, у которых беременность завершилась преждевременными родами.

Установлены особенности полиморфизма генов системы гемостаза и генов, характеризующих функциональное состояние сосудистой стенки, у женщин с угрожающими преждевременными родами: частота встречаемости варианта полиморфизма T/T гена *F13A1* и частота варианта полиморфизма 5G/5G гена *PAI-1-675* меньше, чем в контрольной группе. У женщин с угрожающими преждевременными родами, у которых беременность завершилась преждевременными родами реже встречается вариант полиморфизма гена *ITGA2 C807T* T/T и чаще вариант C/C.

Впервые получены данные о снижении показателя резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину C в плазме крови беременных женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов в сроках гестации 24-34 недели и доказана диагностическая значимость этого показателя для прогнозирования преждевременных родов у этих пациенток.

Теоретическая и практическая значимость

В результате проведенного клинико-эпидемиологического исследования уточнены факторы риска угрожающих преждевременных родов в современных условиях, которые позволяют сформировать группу риска среди общей популяции беременных женщин.

Акушерской практике предложен новый способ прогнозирования исхода беременности при угрожающих преждевременных родах, включающий определение в плазме крови беременных женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов в сроках гестации 24-34 недели до начала сохраняющей терапии показателя резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину C и при его значении, равном 0,94 или

менее, позволяющий прогнозировать преждевременные роды (патент на изобретение № 2630573, Российская Федерация, МПК G01 N 33/86, G01 N 33/48).

Применение данного метода позволит оптимизировать схему маршрутизации беременных женщин с угрожающими преждевременными родами для обеспечения преимущественно антенатального трансфера.

Методология и методы исследования

Работа выполнена на базе ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России (директор д.м.н., проф. А.И. Малышкина) с разрешения локального этического комитета (протокол № 1 от 09.01.2013г.). В соответствии с поставленной целью исследования было обследовано 176 беременных женщин в сроках гестации от 22 до 37 недель. Основную группу составили 103 женщины с клиническими признаками угрожающих ПР (код по МКБ X - O47.0 «Ложные схватки до 37 недель гестации»), контрольную - 73 женщины с физиологически протекающей беременностью, которая закончилась своевременными родами. Дизайн исследования представлен на рис. 1. В результате сплошного продольного клинико-эпидемиологического исследования при постановке на учет в ЖК № 1, 2, 3, 6, 7 г.Иваново по беременности было обследовано 748 женщин, из них у 125 женщин впоследствии были отмечены клинические проявления УПР и у 623 женщин отсутствовали признаки УПР на протяжении всей беременности.

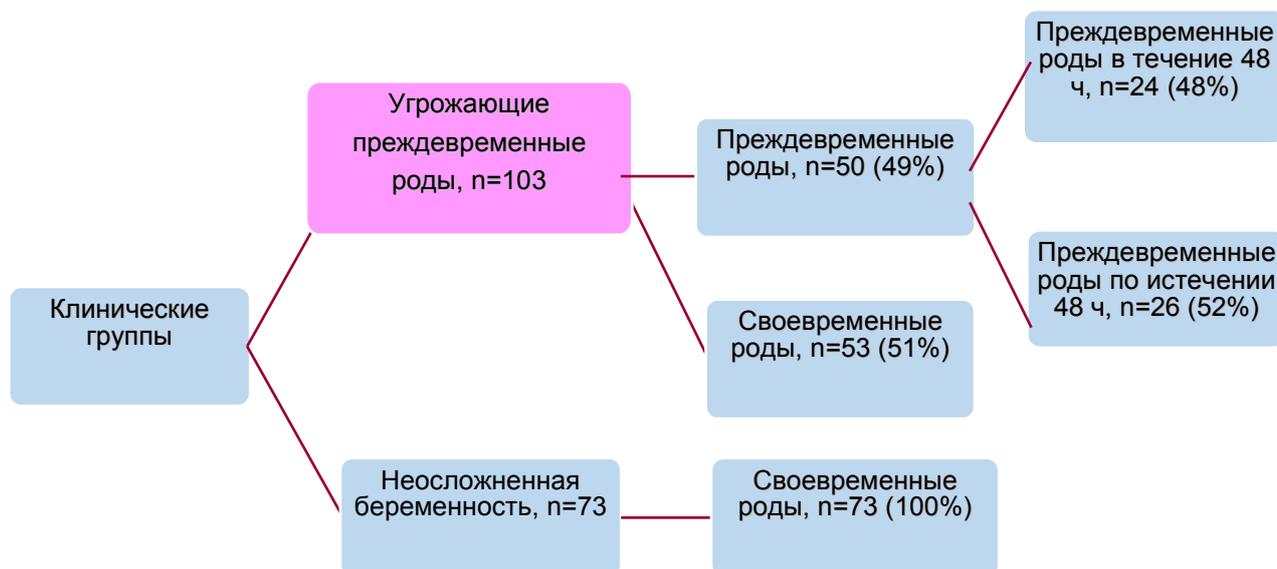


Рис.1. Дизайн исследования

Обследование и лечение женщин основной группы проводилось согласно Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинеколо-

гия (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)», клиническими рекомендациями «Преждевременные роды» (2013 г.).

С целью определения психологического компонента гестационной доминанты (ПКГД) проводилось анкетирование женщин по методу Добрякова И.В., 1996 г. Лабораторное обследование проводилось однократно при включении пациентки в исследование. Содержание суммарных нитратов и нитритов (NOx) в сыворотке крови оценивали путем восстановления нитратов в нитриты в присутствии хлорида ванадия [Miranda K.M., 2001]. Уровень NOx определяли на спектрофотометре SolarPV 1251С. Концентрацию сероводорода проводили методом Qu R., Chen C.P.L.H., Halliwell B. et al. (2006). Показатели гемостазиограммы определяли на приборе «STACompact» (Франция) с использованием реактивов фирмы «DiagnosticaStago». Тромбоэластографию проводили на тромбоэластографе TEG - 5000 («Haemoscope Corporation», США). Выделение тотальной геномной ДНК из 100 мкл цельной венозной крови проводили сорбентным методом с использованием набора «Проба-ГС-Генетика» («ДНК-технология», Россия). Однонуклеотидные полиморфизмы (*ADD1* G1378T, *AGT* T704C, *AGT* C521T, *AGTR1* A1166C, *AGTR2* G1675A, *CYP11B2* -344 C/T, *GNB3* C825T, *NOS3* -786 T/C, *NOS3* G894T) определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием прибора iCycler iQS (Bio-Rad) и набора «Кардиогенетика» («ДНК-технология», Россия).

Математические методы обработки полученных данных проводились с помощью программы Statistica 10.0 и указанием асимметрично результатов анализа в виде медианы, 25 и 75 перцентилей и вариационным размахом; применялись методы клинической эпидемиологии (расчет значений относительного риска – ОР, доверительного интервала – ДИ при уровне значимости 95%) с использованием системы OpenEpi. ROC-анализ проводили с помощью программы MedCalc v7.4.4.1. Различия показателей между группами сравнения определяли с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни, Колмогорова-Смирнова и считали достоверными при $p < 0,05$. Различия относительных показателей определяли с использованием критерия Стьюдента, Фишера, хи-квадрат и считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Положения, выносимые на защиту

Отдельные социальные и клиничко-анамнестические показатели, а также особенности течения настоящей беременности являются факторами риска угрожающих преждевременных родов в современных условиях.

При угрожающих преждевременных родах происходят закономерные изменения функционального состояния системы гемостаза, проявляющиеся тенденцией к гиперкоагуляции и усилению фибринолиза, ассоциированные с из-

менением частоты встречаемости полиморфизмов генов системы гемостаза и генов, характеризующих функциональное состояние сосудистой стенки.

Развитие преждевременных родов у беременных женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов в сроках гестации 24-34 недели сопровождается снижением показателя резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину С в плазме крови, что позволяет использовать данный тест в качестве прогностического.

Внедрение результатов работы в практику

Разработанный способ прогнозирования исхода беременности при угрожающих преждевременных родах (патент на изобретение № 2630573, Российская Федерация, МПК G01 N 33/86, G01 N 33/48), прошел предрегистрационные испытания в акушерской клинике ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения РФ. Материалы диссертации используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ив НИИ МиД им. В.Н. Городкова» Минздрава России, кафедры акушерства и гинекологии, медицинской генетики ФГБОУ ВО "Ивановская государственная медицинская академия" Минздрава России.

Апробация диссертации

Основные результаты работы представлены на Международном конгрессе по перинатальной медицине (Москва, 2013); VIII Междисциплинарной конференции по акушерству, перинатологии, неонатологии «Здоровая женщина – здоровый новорожденный» (Санкт-Петербург, 2013); XV, XVII Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и дитя» (Москва, 2014, 2016); Межрегиональной научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека» (Иваново 2014, 2015); Региональной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Генетический контроль сосудистого и гемостатического гомеостаза и его роль в акушерстве» (Иваново 2014); Межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные вопросы здоровья матери и ребенка» (Иваново 2015, 2017); III Межрегиональной научно-практической конференции врачей ЦФО с международным участием, посвященной 85-летию ИвГМА (Иваново, 2015); Межрегиональной научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Городковские чтения», посвященной 35-летию со дня основания института (Иваново, 2015); IX, X, XI Региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Сочи, 2016; Геленджик, 2017; Ярославль, 2018).

Публикации: по теме диссертации опубликовано 22 печатные работы, из них 7 в рецензируемых журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

Личное участие автора

Автор самостоятельно проводил отбор пациенток, клиническое обследование, с последующим наблюдением за течением беременности, анализ, интерпретацию, систематизацию, статистико-математическую обработку данных, анализ и описание полученных результатов; сформулировал выводы, практические рекомендации.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 182 страницах машинописного текста, содержит введение, обзор литературы, 3 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации и библиографию. Список литературы включает 318 источников, в том числе 116 отечественных и 202 зарубежных. Работа иллюстрирована 32 таблицами и 10 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение

Для оценки факторов риска УПР в рамках работы проведено два вида исследований. Первый вид был поперечным исследованием, в которое женщины включались в поздние сроки беременности по факту наличия ($n=103$) или отсутствия ($n=73$) признаков УПР. Во втором случае было проведено продольное исследование, в которое женщины включались в момент взятия на учет в ЖК по беременности ($n=748$), разделение на группы осуществлялось с учетом фактического течения беременности и возникновения УПР.

Результаты наших исследований показали, что средний возраст женщин контрольной и основной групп не имел достоверных отличий и составил соответственно $27,48 \pm 0,47$ и $26,36 \pm 0,5$ лет ($p=0,05$). Для беременных с УПР было характерно общее образование женщины не выше среднего (ОШ 7,95) и среднемесячный доход равный прожиточному минимуму (ОШ 2,47). У пациенток, беременность которых осложнилась УПР и закончилась спонтанными родами до 37 недель гестации, чаще встречались среднее образование и социальная незащищенность (статус домохозяйки, незарегистрированный брак). Результаты нашего исследования подтверждают данные ранее проведенных исследований, показавших, что женщины из семей с низким доходом имеют почти в два раза больший риск преждевременных родов [Premji S. S., 2015; Carmichael S. L., 2017].

При анализе условий труда выявлено, что женщины с УПР чаще отмечали воздействие пыли на рабочем месте. В отдельных статьях установлено не-

благоприятное влияние условий труда женщины на исход беременности и родов. Pore и соавт. 2010 при изучении отрицательного влияния загрязнения воздуха рабочих и домашних помещений на беременных женщин установили повышение риска мертворождений и низкой массы ребенка при рождении на 20%. По данным других авторов производственный стресс, хроническое воздействие шума и вибрация неблагоприятно влияют на течение беременности [Fujiwara K., 2004].

По нашим данным, женщины с УПР, завершившимися преждевременными родами, чаще беременность не планировали, их анамнез был отягощен медицинскими абортами. В целом, пациентки основной группы характеризовались более низкой медицинской активностью по сравнению с пациентками группы контроля.

Психо-эмоциональное стрессовое состояние у беременной женщины может рассматриваться как одна из причин ПР. Общеизвестно, что с ПР связаны такие стрессовые факторы, как ухудшение социально-экономического положения и насилие со стороны полового партнера [Малышкина, А. И., 2015; Hegarty K., 2004 Kagami M., 2012]. Для оценки психологического состояния беременных женщин с УПР нами произведено определение состояния гестационной доминанты по методу И.В. Добрякова (1996). Установлено, что у женщин с УПР чаще встречались гипогностический и тревожный типы психологического компонента гестационной доминанты. При исходе УПР в преждевременные роды у пациенток чаще встречался тревожный тип психологического компонента гестационной доминанты (ОШ 4,9 [1,2-24,3]).

Известно, что факторы риска, присутствующие до беременности, с большой вероятностью будут сохраняться и в течение всего срока гестации. Ряд авторов утверждают, что физический и психологический стресс реализуется путем активации гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, в связи с чем увеличивается выработка кортизола в крови у матери [Nakano Y., 2013; Shapiro G. D., 2013]. Кроме того, женщины, испытывающие психологический стресс, чаще подвержены и другим факторам риска, таким как табакокурение и употребление алкоголя, и реже обращаются за медицинской помощью [McCubbin J. A., 1996]. Активное сексуальное поведение этих женщин повышает риск нежелательных беременностей и ИППП [Lawn J. E., 2013].

По нашим данным, у женщин с УПР чаще встречается приверженность к курению табака (ОШ 2,7 [1,24-5,7]). В случае продолжения курения во время беременности риск УПР повышается более значимо (ОШ 7,9 [2,3-27,2]). В этом случае значительно повышена вероятность исхода беременности в ПР (ОШ 10,0 [2,7-36,9]). Анализ данных литературы показывает, что механизмы влияния курения табака на возникновение УПР мало изучена. Наибольшая часть исследо-

ваний посвящена риску развития ПР [Bloch M., 2008; Ко Т. J., 2014]. Учитывая, что данный фактор риска УПР является управляемым, необходимо уделить особое внимание профилактике табакокурения среди женщин. Требуется решение вопроса об оказании психологической помощи курящим женщинам при постановке на учет по беременности в женской консультации.

По результатам проведенного продольного клинико-эпидемиологического исследования нами уточнены факторы риска УПР, которые позволяют формировать группу риска уже на этапе взятия на учет на ранних сроках беременности. Установлено 4 социальных фактора риска: недостаточная площадь жилья как причина семейных конфликтов (ОШ 4,54), частое психологическое напряжение на работе (ОШ 1,64), недостаточно благоприятные материально-бытовые условия (ОШ 1,64) и запыленность на рабочем месте (ОШ 1,58).

Среди клинико-анамнестических факторов повышают риск развития УПР: преждевременные роды в анамнезе (ОШ 21,6), низкая медицинская активность (ОШ 3,9), язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки (ОШ 3,4), наличие аборт в анамнезе (ОШ 2,4), самооценка состояния здоровья как удовлетворительного, а не хорошего (ОШ 1,6) и отсутствие контрацепции до беременности (ОШ 1,5).

Установлены факторы риска УПР, связанные с течением настоящей беременности. К ним относятся задержка роста плода (ОШ 3,9), угроза прерывания беременности в ранние сроки (ОШ 3,6), гипертензивные расстройства при беременности (ОШ 3,4-3,5) и ФПН (ОШ 1,8).

По нашим данным угроза ПР чаще развивалась у повторнобеременных женщин. Пациентки основной группы чаще имели в анамнезе самопроизвольные выкидыши и ПР. По данным литературы известно, что у женщин, имеющих ПР в анамнезе, риск ПР при последующих беременностях увеличивается в два раза [van Os M., 2013; De Franco E. A., 2014; Kozuki N., 2015; Gaucher N., 2018].

Анализ данных анамнеза пациенток показал, что длительная частая заболеваемость в детском возрасте существенно увеличивает риск возникновения УПР (ОШ 3,0). Реализация угрозы ПР увеличивалась у женщин, перенесших в первом триместре беременности ОРЗ. Хронический цистит и анемия до наступления данной беременности чаще наблюдались в группе женщин с УПР, что могло способствовать изменению иммунной защиты и вызывать нарушение противовоспалительного ответа [Малышкина, А. И., 2015]. Во время беременности у женщин основной группы чаще встречались бессимптомная бактериурия и гестационный пиелонефрит.

По данным литературы инфекционный фактор является основным, ведущим к ПР [Савельева Г.М., 2015; Малышкина, А. И.2013; Макаров О. В., 2014].

Ряд авторов утверждает, что хламидийная инфекция, бактериальный вагиноз и бессимптомная бактериурия повышает риск УПР в несколько раз [Сидельникова В. М., 2006; Макаров О. В., 2014]. Литературные данные нашли подтверждение и в нашем исследовании. Женщины с УПР чаще указывали на перенесенный до настоящей беременности эндометрит и кольпит, а пациентки с реализацией ПР достоверно чаще имели до беременности признаки инфицирования цитомегаловирусом и ВПГ II типа по данным ИФА.

Эхо-признаки внутриутробного инфицирования при настоящей беременности чаще были выявлены у женщин с УПР, в большей степени у тех, у кого произошли ПР. У пациенток с УПР, реализовавшимися в ПР, были диагностированы ПЦР-маркеры хламидий, микоплазм, ЦМВ в отделяемом цервикального канала, а также имели место неспецифический кольпит на ранних сроках гестации и герпетическая инфекция во 2 и 3 триместре беременности. Это подтверждает роль вирусов в инициации восходящего пути бактериальной инфекции [Racicot K., 2013].

Таким образом, результаты проведенного нами исследования в регионе Центрального Федерального округа Российской Федерации в 2012-2018 годах позволили уточнить вопрос о факторах риска УПР в современных условиях. Ряд выявленных факторов риска совпали с ранее описанными в литературе. Вместе с тем, по нашим данным, не подтвердилось значение целого ряда факторов, выявленных в ранее проведенных исследованиях: избыточная или недостаточная масса тела, ИППП и дисменорея в анамнезе, возраст и национальная принадлежность матери, физическая активность, особенности питания, анемия [Thangaratinam S., 2011; Yonkers K. A., 2017; McGee D., 2107; Soysal S., 2017]. Одновременно нами выявлены факторы, не нашедшие достаточного отражения в доступной нам литературе. К ним относятся низкая медицинская активность, наличие язвенной болезни 12-перстной кишки и недостаточно хорошее здоровье по результатам самооценки. Следует отметить, что повышение медицинской активности девочек-подростков и молодых женщин необходимо рассматривать как управляемый фактор риска УПР и включать меры по ее повышению в образовательные программы по пропаганде здорового образа жизни. При наличии язвенной болезни до наступления беременности следует обеспечить стойкую ремиссию данного заболевания.

С целью изучения механизмов развития УПР проведена оценка особенностей продукции регуляторных газов, состояния гемостаза и полиморфизма генов, ответственных за состояние сосудистой стенки и гемостаза.

По нашим данным показатель продукции оксида азота у женщин с угрожающими преждевременными родами был достоверно выше группы контроля и составил 66,00[52,00; 81,00] мкмоль/л против 55,50 [44,00; 63,00] мкмоль/л,

зависимости от исхода беременности его продукции выявлено не было. Наши данные совпадают с полученными ранее результатами в нашем институте об усилении продукции оксида азота при УПР [Воробьева Ю.С., 2005]. Оксид азота в патогенезе УПР может выступать, с одной стороны, в качестве индуктора изменений шейки матки, с другой стороны, в качестве миорелаксанта. Вместе с тем, выявленные изменения можно рассматривать как проявления компенсаторной реакции организма беременной, поскольку в литературе имеются данные о возможной клинической эффективности донаторов оксида азота при УПР [Conde-Agudelo A., 2013].

Изучению связи изменений продукции сероводорода при преждевременных родах посвящены единичные работы. По нашим данным показатель продукции сероводорода у женщин с угрожающими преждевременными родами был достоверно ниже группы контроля и составил 54,00 [47,00; 62,00] мкмоль/л ($p=0,001$), что согласуется с результатами Sun Q. et al. отмечающими снижение активности сероводород-продуцирующих энзимных систем при преждевременных родах [Sun Q., 2018]. По данным литературы в эксперименте на мышах с индуцированными инъекцией LPS преждевременными родами введение H_2S препятствовало их наступлению [Liu W., 2016]. Анализ зависимости содержания сероводорода от исхода беременности показал, что пролонгирование беременности при токолитической терапии на 48 часов и более ассоциировано с усиленной продукцией сероводорода по сравнению с женщинами, родившими в первые 48 ч от начала терапии (рис.2) ($p=0,02$). Это может быть обусловлено наличием у сероводорода релаксирующего влияния на сократительную активность миометрия [Фассо F., 2011].

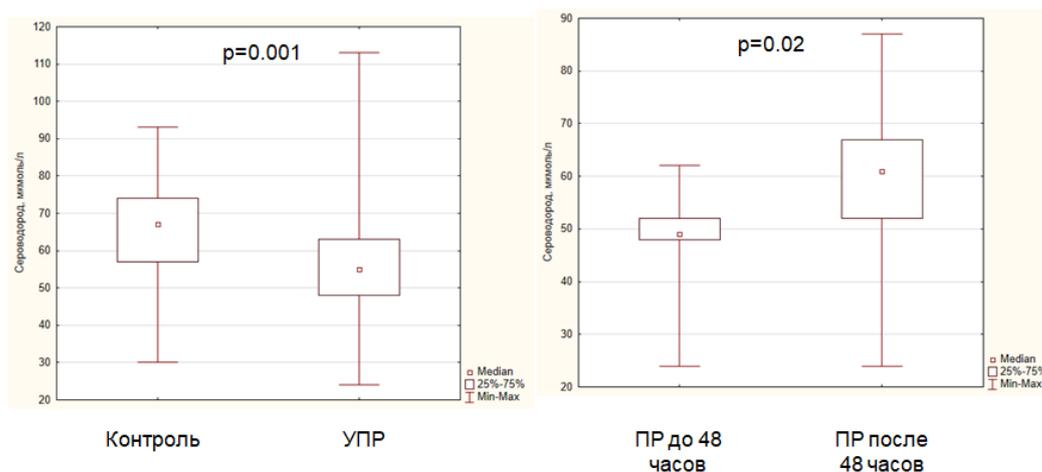


Рис.2. Изменение продукции сероводорода при угрожающих преждевременных родах

Особую роль среди значимых причин развития осложнений беременности играет повышенное тромбообразование [Макацария А.Д., 2011; Simchen M. J.,

2010; Lykke J. A. , 2011]. Данные об изменениях в системе гемостаза при преждевременных родах противоречивы. Ситуация усугубляется тем, что за последнее десятилетие существенно изменились подходы к диагностике и лечебной тактике при УПР, что затрудняет сопоставление данных, полученных в разные годы. В связи с этим нами было проведено исследование состояния гемостаза у женщин с УПР с использованием основных коагулометрических показателей и тромбоэластографии.

По нашим данным у женщин с угрожающими преждевременными родами отмечаются признаки гиперкоагуляции, проявляющиеся укорочением АЧТВ ($p=0,001$) и тромбинового времени ($p=0,016$). Активность фактора Виллебранда у женщин с УПР превышает значение этого показателя по сравнению с пациентками контрольной группы ($p=0,021$). Одновременно отмечается повышение фибринолитической активности ($p=0,005$) и увеличение концентрации РФМК ($p=0,04$). Данные тромбоэластографии подтвердили выявленные изменения, продемонстрировав увеличение показателя LY30 ($p=0,04$), который вычисляется как изменение площади под кривой тромбоэластограммы на 30-й минуте (МА 30 мин) по отношению к площади под кривой тромбоэластограммы без признаков лизиса (прямоугольник с высотой МА), выраженное в процентах (%) и представляет собой характеристику процесса растворения сгустка – лизиса. Сочетание этих изменений свидетельствует о наличии признаков хронического ДВС-синдрома. При анализе показателей коагулограммы в зависимости от исхода УПР (своевременные или преждевременные роды) существенных отличий установлено не было.

Принципиально важным было выявление особенностей состояния гемостаза у женщин с УПР в зависимости от эффективности токолитической терапии, то есть при наступлении родов до или после 48 часов от начала терапии. Этот период определяет успешность проведения и завершения профилактики РДС. Эффективность лечения УПР ассоциировалась с более продолжительным АЧТВ ($p=0,04$), более низким значением концентрации фибриногена ($p=0,04$) и Д-димера ($p=0,01$) в плазме крови. Выявленные изменения подтверждаются данными тромбоэластографии, согласно которым у женщин с эффективной терапией УПР наблюдается меньшая прочность сгустка крови ($p=0,04$). Таким образом, развитие УПР, наступление преждевременных родов в первые 48 часов от начала лечения сопровождается признаками хронического ДВС-синдрома в фазе гиперкоагуляции.

Исследование прогностической значимости рутинных показателей коагулограммы и тромбоэластограммы в отношении прогнозирования исхода УПР при помощи ROC-анализа не выявило прогностической значимости для этих показателей. Нами впервые изучены закономерности изменения показателя ре-

зистентности активного V фактора свертывания крови (FVa) к активированному протеину С (APC). Установлено значительное снижение этого показателя в группе женщин с УПР и исходом в преждевременные роды. В результате проведения ROC-анализа доказана прогностическая значимость этого показателя. Так, при отношении резистентности активного V фактора свертывания крови (FVa) к активированному протеину С (APC) менее 0,94 прогнозируются преждевременные роды с точностью 75,6% и специфичностью 85,7%. На основании этого разработан способ прогнозирования исхода беременности при угрожающих преждевременных родах (патент на изобретение № 2630573, Российская Федерация, МПК G01 N 33/86, G01 N 33/48) (рис.3).

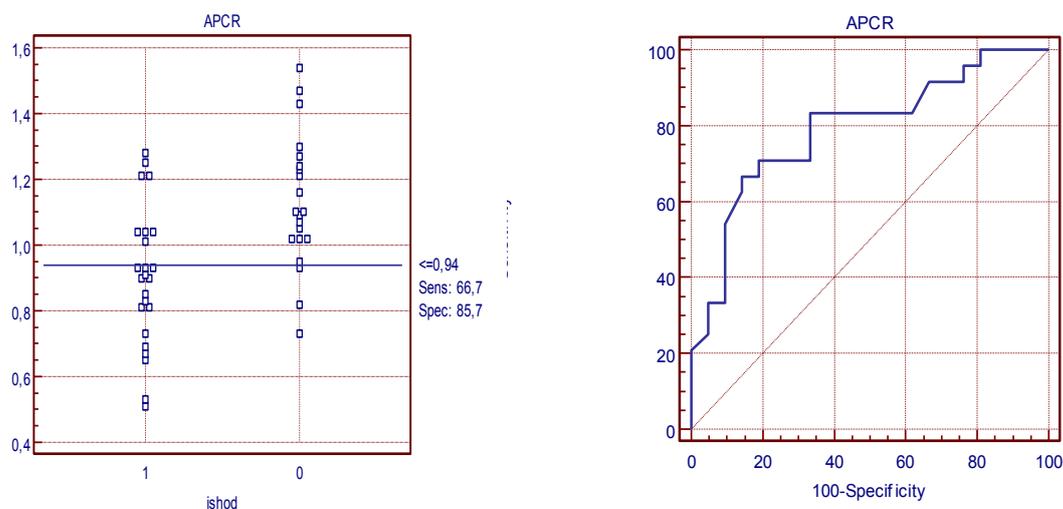


Рис.3. Результаты ROC-анализа показателя резистентности активного V фактора свертывания крови (FVa) к активированному протеину С (APC) у беременных с симптомами угрожающих преждевременных родов в сроке 24-34 недель гестации (исход: 1 – преждевременные роды, 0 – своевременные роды)

Изменения состояния гемостаза при ряде патологических процессов ассоциировано с полиморфизмом генов. В связи с этим нами проведено исследование полиморфизма генов системы гемостаза и «сосудистой стенки» у женщин со своевременными и преждевременными родами.

Анализ данных показал, что частота встречаемости мутантного аллеля *F13A1* T в контрольной группе была достоверно выше, чем у пациенток с УПР (38,4 и 25,2% соответственно, $p=0,015$). Обращает на себя внимание факт, что гетерозиготное носительство варианта *F13A1* T во всех обследованных группах было сходным, однако, гомозиготное носительство аллеля *F13A1* T у женщин контроля практически в четыре раза превышало аналогичный показатель у пациенток с УПР ($p=0,007$) (рис.4). Ген *F13A1* кодирует белок – фибринстабилизирующий фактор, ответственный за конечную стадию в каскаде свертывания крови. При генотипе *F13A1* T/T изменяется способность белка «сшивать» фибриновые мономеры, вследствие чего фибриновые сгустки становятся более

тонкими и нестабильными, что препятствует развитию гиперкоагуляции [Макария А. Д., 2011]. Анализ генных и генотипических частот по гену серпина (ингибитор активатора плазминогена-1, *PAI-1* -675 5G/4G) показал, что частота генотипа *PAI-1* -675 5G/5G, не ассоциированного с нарушением фибринолитической системы крови и повышением риска тромбозов, у женщин с физиологическим течением беременности достоверно выше, чем у пациенток с УПР (28,57 и 14,85% соответственно, $p=0,032$).

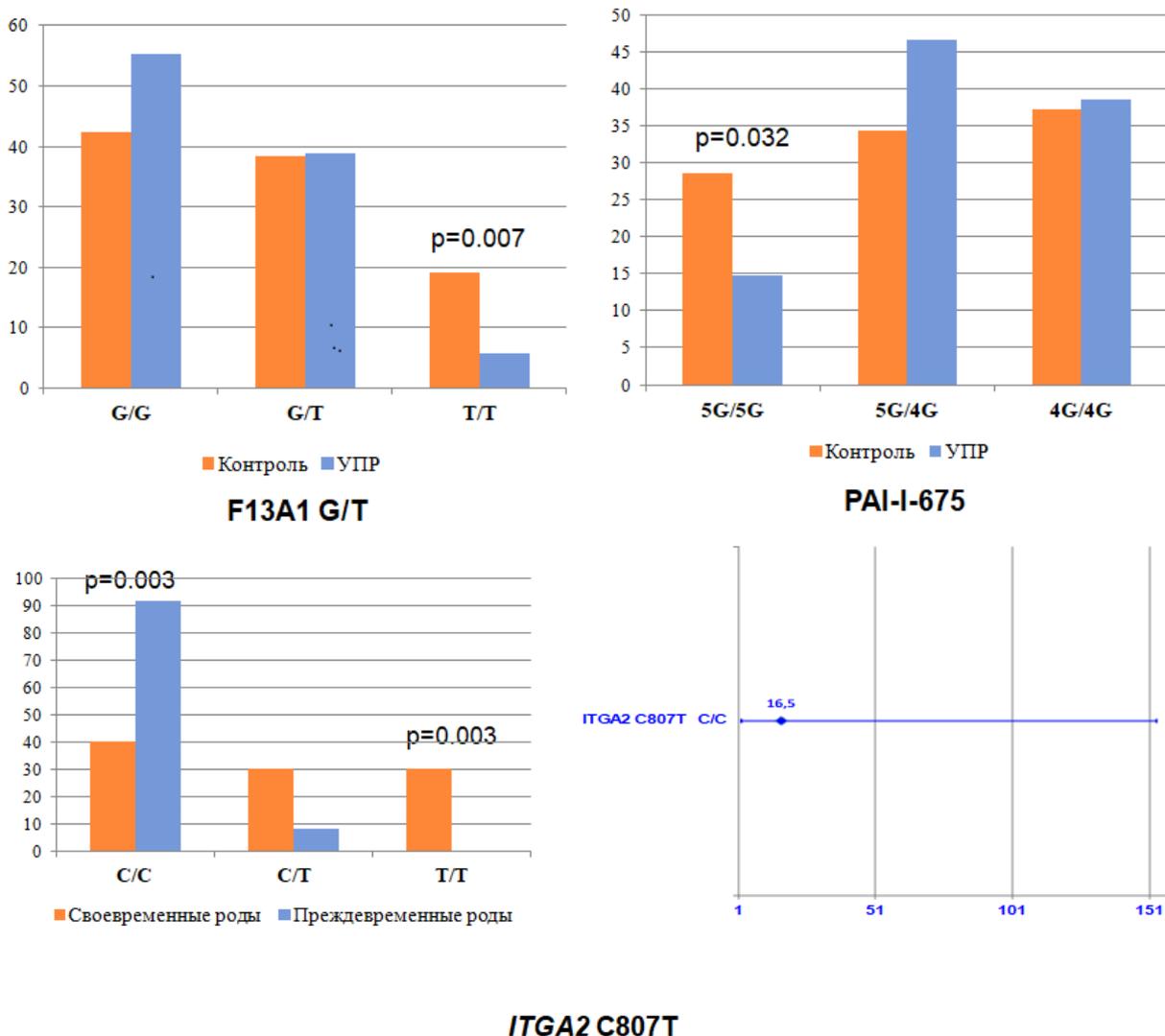


Рис.4. Особенности полиморфизма генов системы гемостаза и генов, характеризующих функциональное состояние сосудистой стенки, при угрожающих преждевременных родах

Анализ распределения частот полиморфных вариантов в гене тромбоцитарного рецептора к коллагену (*ITGA2*, $\alpha 2$ интегрин) показал, что у женщин с угрожающими преждевременными родами, у которых беременность завершилась преждевременными родами реже встречается вариант полиморфизма гена тромбоцитарного рецептора к коллагену *ITGA2* C807T T/T и чаще вариант C/C. Доля гомозиготных носительниц по условно «здоровому» аллелю *ITGA2* 807C среди пациенток с досрочным прерыванием беременности составила 91,67%,

что достоверно выше аналогичного показателя в контрольной группе (41,4%, $p=0,003$). Такое носительство является фактором риска УПР при отношении шансов - 16.5 (рис.4).

Суммируя данные молекулярно-генетического исследования, следует отметить, что в генотипе пациенток с угрожающими преждевременными родами имеет место накопление полиморфных вариантов генов системы гемостаза, вероятно, причастных к нарушению маточно-плацентарного кровообращения вследствие изменения фибринолитической активности крови. Полиморфизмы генов, негативно влияющие на состояние сосудистой стенки, широко распространены у женщин в популяции Ивановской области. Ряд из них достоверно чаще встречается у пациенток с угрожающими ПР. Вероятно, это вносит определенный вклад в течение гестационного процесса и может быть причастно к нарушению маточно-плацентарного кровообращения и развитию угрожающих ПР. Вместе с тем, следует учитывать, что реализация неблагоприятного генетического фона сопряжена с участием определенных внешнесредовых факторов, комбинация которых индивидуальна. Это диктует необходимость продолжения дальнейших молекулярно-генетических исследований у данного контингента женщин.

Таким образом, в результате комплексного клинического, эпидемиологического и лабораторного обследования беременных получены новые данные о факторах риска УПР, особенностях функции системы гемостаза и некоторых новых генетических факторах этого заболевания. В современных условиях по результатам поперечного и продольного социально-гигиенического исследования выявлены факторы риска УПР, связанные с социальными и клинико-анамнестическими особенностями, а также с течением настоящей беременности.

Доказано, что система гемостаза при УПР функционирует в условиях дисбаланса про- и антикоагулянтных механизмов с тенденцией к гиперкоагуляции и появлением лабораторных признаков хронического ДВС-синдрома. Активность прокоагулянтных механизмов наиболее повышена при исходе УПР в ПР, особенно при возникновении ПР в первые 48 часов от начала токолитической терапии.

При исследовании полиморфизма генов системы гемостаза и «сосудистой стенки» получены данные о том, что полиморфизмы, ассоциированные со снижением свертывания крови, обладают протективным эффектом в отношении возникновения УПР и ПР (в генах *F13A1* и *PAI-1*).

Полученные данные о факторах риска УПР позволяют формировать группу риска беременных по развитию УПР, начиная с ранних сроков беременности. Данные об особенностях функционирования системы гемостаза и роли

полиморфизмов отдельных генов обосновывают перспективность изучения эффектов антикоагулянтов и дезагрегантов при лечении УПР.

ВЫВОДЫ

1. В результате проведенного сплошного продольного клинико-эпидемиологического исследования уточнены факторы риска угрожающих преждевременных родов в современных условиях. Основными факторами риска являются социальные факторы: недостаточная площадь жилья как причина семейных конфликтов (ОШ 4,54), частое психическое напряжение на работе (ОШ 1,64), недостаточно благоприятные материально-бытовые условия (ОШ 1,64), запыленность на рабочем месте (ОШ 1,58); клинико-анамнестические факторы: УПР при предыдущих беременностях (ОШ 21,6), низкая медицинская активность (ОШ 3,9), язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки (ОШ 3,43), наличие медицинских аборт в анамнезе (ОШ 2,41), самооценка состояния здоровья как недостаточно хорошего (ОШ 1,6), отсутствие контрацепции до беременности (ОШ 1,5); особенности течения настоящей беременности: ЗРП (ОШ 3,9), угрожающий выкидыш (ОШ 3,64), существующая ранее гипертензия с присоединившейся протеинурией (ОШ 3,51), преэклампсия (ОШ 3,43), ФПН (ОШ 1,81).
2. У пациенток с угрожающими преждевременными родами выявляются сдвиги в системе регуляторных газов: увеличение продукции оксиды азота и уменьшение образования сероводорода. Пролонгирование беременности при проведении токолитической терапии на 2 суток и более ассоциировано с усиленной продукцией сероводорода по сравнению с женщинами, родившими в первые 48 ч от начала терапии.
3. Для беременных с угрожающими преждевременными родами по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью характерны изменения состояния гемостаза, проявляющиеся тенденцией к гиперкоагуляции (укорочение АЧТВ и тромбинового времени, увеличение активности фактора Виллебранда) и усилению фибринолиза (повышение фибринолитической активности, увеличение концентрации РФМК и показателя LY30 по данным тромбоэластографии), что в совокупности может быть проявлением хронического ДВС-синдрома.
4. У женщин с угрожающими преждевременными родами в случаях, когда токолитическая терапия была эффективной и беременность пролонгировалась на 48 часов или более, отклонения показателей гемостаза были менее выраженными (более продолжительное АЧТВ, более низкая концентрация фибриногена и Д-димера в плазме крови, меньшая прочность сгустка крови по данным тромбоэластографии) по сравнению с женщинами, у которых бере-

менность завершилась преждевременными родами в течение менее 48 часов от начала лечения.

5. У пациенток с угрожающими преждевременными родами частота встречаемости гомозиготного генотипа Т/Т гена *F13A1* и генотипа 5G/5G гена *PAI-1-675* была меньше, чем в контрольной группе. У женщин с угрожающими преждевременными родами, у которых беременность завершилась преждевременными родами, реже встречался гомозиготный генотип Т/Т гена *ITGA2* и чаще генотип С/С.
6. Показатель резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину С в плазме крови беременных женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов в сроках гестации 24-34 недели 0,94 или менее является прогностическим критерием ПР с точностью 75,6 %, специфичностью 85,7 %, чувствительностью 66,7 %.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При постановке на учет беременных женщин необходимо выделять группу риска на возникновение угрожающих преждевременных родов с учетом следующих факторов риска: социальные факторы (недостаточная площадь жилья как причина семейных конфликтов, частое психологическое напряжение на работе, недостаточно благоприятные материально-бытовые условия, неблагоприятный профессиональный фактор (запыленность)) и клинико-анамнестические факторы (УПР в анамнезе, низкая медицинская активность, язвенная болезнь желудка или 12-перстной кишки, наличие медицинских абортов в анамнезе, самооценка состояния здоровья как недостаточно хорошего, отсутствие контрацепции до беременности). По мере прогрессирования беременности дополнительными факторами риска угрожающих преждевременных родов являются: ЗРП, угроза прерывания данной беременности до 22 недель, существующая ранее гипертензия с присоединившейся протеинурией, преэклампсия, ФПН.
2. Для прогнозирования исхода беременности у женщин с клиническими признаками угрожающих преждевременных родов в сроках гестации 24-34 недели рекомендуется до начала сохраняющей терапии в плазме крови определять показатель резистентности активного V фактора свертывания крови к активированному протеину С и при его значении, равном 0,94 или менее, прогнозировать преждевременные роды. Используя полученные данные, следует оптимизировать организационно-лечебные мероприятия для обеспечения наиболее благоприятного исхода преждевременных родов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертаций

1. Малышкина А.И., Назарова А.О., Батрак Н.В., Жолобов Ю.Н., Козырина А.А., Кулиева Е.Ю., Назаров С.Б. Особенности пищевого поведения беременных женщин // Российский вестник акушера-гинеколога.- Т.14, №3.- 2014.- С.73-75
2. Малышкина А.И., Назарова А.О., Батрак Н.В., Жолобов Ю.Н., Козырина А.А., Кулиева Е.Ю., Назаров С.Б. Медико-социальная характеристика беременных женщин Иваново. // Российский вестник акушера-гинеколога.- Т.14, №4.- 2014.- С.9-12.
3. Малышкина А.И., Назарова А.О., Жолобов Ю.Н., Батрак Н.В., Козырина А.А., Кулиева Е.Ю., Назаров С.Б. Социально-гигиеническая характеристика беременных, проживающих в центральной части европейской территории Российской Федерации // Российский вестник акушера-гинеколога.- 2015.- Т.15, №5.- С.32-35
4. Малышкина А.И., Назарова А.О., Козырина А.А., Жолобов Ю.Н., Назаров С.Б. Медико-социальная характеристика женщин с угрожающими преждевременными родами // Акушерство. Гинекология. Репродукция.- 2016.- Т.10, № 2.- С.37-43
5. Малышкина А.И., Назарова А.О., Кулида Л.В., Козырина А.А., Назаров С.Б., Жолобов Ю.Н. Патоморфологические особенности плацент у женщин с угрожающими преждевременными родами в зависимости от исхода беременности // Российский вестник акушера-гинеколога.- 2016.- № 5.- С.4-9
6. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Назарова А.О., Жолобов Ю.Н., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С., Назаров С.Б. Полиморфизм генов, участвующих в регуляции функций сосудов, у женщин с угрожающими преждевременными родами // Тромбоз, гемостаз и реология.- 2017.- № 3.- С.82-87
7. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Жолобов Ю.Н., Назарова А.О., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С., Назаров С.Б. Полиморфизм генов системы гемостаза у женщин с угрожающими преждевременными родами // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2018.- Т.12, № 1.- С.11-21

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций и тезисы докладов

1. Malyshkina A., Nazarova A., Zolobov Yu., Nazarov S. Bioelectrical activity of the uterus and nitric oxide production while threatening preterm labor // Journal of perinatal medicine.- 2013.- vol.41- RU231
2. Ситникова О.Г., Клычева М.М., Козырина А.А., Жолобов Ю.Н., Назаров С.Б. Содержание сероводорода и оксида азота в крови у здоровых фертильных женщин // Российский иммунологический журнал.- 2013.- Т.7(16), № 2-3. – С.157.

3. Малышкина А.И., Ситникова О.Г., Клычева М.М., Козырина А.А., Жолобов Ю.Н., Назаров С.Б. Содержание сероводорода и оксида азота в крови у женщин при физиологической беременности // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им.В.А.Алмазова.- 2013.- С.58
4. Назарова А.О., Малышкина А.И., Жолобов Ю.Н., Козырина А.А., Батрак Н.В., Назаров С.Б. Социально-гигиеническая характеристика беременных женщин в современных условиях. // XV Всероссийский научный форум «Мать и дитя».- Москва.- 2014.- С.420-421
5. Фетисова И.Н., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Назарова А.О., Жолобов Ю.Н., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С. Полиморфизм генов, ассоциированных с риском развития тромбофилии и артериальной гипертензии, у женщин с неосложненным течением беременности в популяции в Ивановской области // Актуальные вопросы акушерства, гинекологии, неонатологии и педиатрии: сборник научных трудов - Иваново.- 2015.- С.22-27
6. Козырина А.А., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Назарова А.О., Ситникова О.Г., Клычева М.М., Жолобов Ю.Н. Показатели регуляторных газов крови и адренореактивности у женщин с физиологической беременностью и угрозой преждевременных родов // Новости дерматовенерологии и репродуктивного здоровья. – Узбекистан, Ташкент.- 2015.- № 2.- С.161
7. Малышкина А.И., Назарова А.О., Жолобов Ю.Н. Факторы риска преждевременных родов в современных условиях // IX региональный научно-образовательный форум «Мать и дитя».- Сочи.- 2016.- С.40-42
8. Малышкина А.И., Назарова А.О., Кулида Л.В., Козырина А.А., Назаров С.Б., Жолобов Ю.Н. Патоморфологические изменения в плацентах у женщин с угрожающими преждевременными родами // Материалы XVII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя – 2016».- М., 2016. – С.67
9. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Жолобов Ю.Н., Назарова А.О., Назаров С.Б., Ратникова С.Ю., Фетисов Н.С. Полиморфизм гена коагуляционного фактора крови FVII у женщин с угрожающими преждевременными родами // Материалы XVII Всероссийского научно-образовательного форума «Мать и Дитя – 2016».- М., 2016. – С.68
10. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Жолобов Ю.Н., Назаров С.Б. Особенности полиморфизма генов системы гемостаза у женщин с угрожающими преждевременными родами // Гемостаз и репродукция: сборник тезисов Всероссийской конференции с международным участием – Санкт-Петербург.- 2017.- С.26-28
11. Назарова А.О., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Жолобов Ю.Н., Попова И.Г., Кузьменко Г.Н. Определение показателя резистентности фактора VA к активированному протеину С у женщин с угрожающими преждевременными родами // Микроциркуляция и гемореология: XI международная конференция посвященная 100-летию со дня рождения академика А.М.Чернуха.- Ярославль.- 2017.- С.103
12. Назарова А. О., Малышкина А. И., Жолобов Ю. Н., Назаров С. Б. Социально-биологические особенности женщин с угрожающими преждевремен-

- ными родами // Материалы V Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики, ранней диагностики, лечения и медицинской реабилитации больных с неинфекционными заболеваниями и травмами» - Иваново.- 2017.- С.29-31
13. Назарова А. О., Малышкина А. И., Фетисова И. Н., Жолобов Ю. Н., Ратникова С. Ю., Фетисов Н. С., Назаров С. Б. Особенности полиморфизма генов системы гемостаза у женщин с угрожающими преждевременными родами // Материалы V Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы профилактики, ранней диагностики, лечения и медицинской реабилитации больных с неинфекционными заболеваниями и травмами» - Иваново.- 2017.- С.31-33
14. Малышкина А.И., Фетисова И.Н., Жолобов Ю.Н., Назаров С.Б., Фетисов Н.С. Генетические факторы риска преждевременных родов // Мать и дитя: материалы X юбилейного регионального научнообразовательного форума.- Геленджик.- 2017.- С.88-89
15. Малышкина А.И., Назарова А.О., Назаров С.Б., Козырина А.А., Жолобов Ю.Н. Способ объективной диагностики угрожающих преждевременных родов // Успехи современной науки.- 2017.- Т.9, № 4.- С.203-206

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВУИ	внутриутробное инфицирование
ДИ	доверительный интервал
ЗРП	задержка развития плода
ИМТ	индекс массы тела
ИППП	инфекции, передающиеся половым путем
ОР	относительный риск
ПИ	протромбиновый индекс
ПОНРП	преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ПР	преждевременные роды
РДС	респираторный дистресс синдром
РФМК	растворимые фибриномономерные комплексы
УПР	угрожающие преждевременные роды
ФПН	фетоплацентарная недостаточность
АСЕ	ангиотензинпревращающий фермент
АРС	антикоагулянтная система протеина С
FVL	V фактор свертывания крови
NO	оксид азота
РС	протеин С