

ПРОГНОЗ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ У БЕРЕМЕННЫХ ЖЕНЩИН С ВНУТРИМАТОЧНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Долгушина В.Ф., Курносенко И.В., Мезенцева Е.А., Феклюнина Е.С., Асташкина М.В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Челябинск, e-mail: dolgushinavf@yandex.ru

Цель исследования: разработать модель прогноза преждевременных родов у беременных женщин с внутриматочной инфекцией (ВМИ). Изучена диагностическая ценность анамнестических, клинических, инструментальных и лабораторных показателей у женщин с преждевременными родами, у которых по данным морфологического исследования последов была верифицирована внутриматочная инфекция (ВМИ). Проведено когортное проспективное исследование, в которое вошли 327 беременных женщин, взятых методом сплошной выборки. Морфологические признаки внутриматочного воспаления были установлены в 39,8 % (130), при этом у женщин с преждевременными родами – в 77,8 % случаев. Для составления модели прогноза преждевременных родов на фоне ВМИ 130 женщин с морфологически верифицированной ВМИ были разделены на две группы. В I группу вошли 109 женщин со своевременными родами, во II группу – 21 женщина с преждевременными родами. Выявлены значимые клинико-анамнестические и лабораторные предикторы преждевременных родов на фоне ВМИ, на основании которых построена математическая модель прогноза с возможностью применения в клинической практике (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016660265 от 09 сентября 2016).

Ключевые слова: преждевременные роды, внутриматочная инфекция.

PREDICTION OF PRETERM LABOR IN PREGNANT WOMEN WITH INTRAUTERINE INFECTION

Dolgushina V.F., Kurnosenko I.V., Mezenceva E.A., Feklunina E.C., Astashkina M.V.

SPEI HVE «South Ural State Medical University» of Health Ministry of the Russia, Chelyabinsk, e-mail: dolgushinavf@yandex.ru

The aim: to work out the model of preterm labor prediction on the background of intrauterine infection (IUI). We studied the diagnostic value of anamnestic, clinical, instrumental and laboratory indicators in woman with preterm labor, who had an IUI verified by morphological study of afterbirth. A prospective cohort study was made in 327 women by using a continuous sampling method. The morphological features of IUI were found in 39,8 % cases (130), among them 36,7% (109) were women with timely deliveries and 77,8 % (21) with preterm labor. To elaborate the model of preterm delivery prediction 130 women with morphology verified IUI were divided into two groups. 1 group: - 109 women with timely delivery, 2 group – 21 women with preterm delivery. Significant clinical – anamnestic and laboratory predictors of preterm delivery in women with IUI were detected and they were used as a basis for math model of preterm labor prediction that can be use in clinical practice (certificate of state registration of computer program №2016660265 from 09/09/2016).

Keywords: preterm birth, intrauterine infection.

В настоящее время большое количество исследований посвящено роли субклинической ВМИ в генезе преждевременных родов [9-15]. При невынашивании беременности по исследованиям зарубежных и отечественных авторов морфологические признаки ВМИ выявляются в 50–60 % случаев [7, 9, 13, 14]. Причиной ВМИ во время беременности может стать генитальная инфекция нижнего отдела репродуктивного тракта (восходящий путь инфицирования), а также персистенция микроорганизмов в эндометрии у женщин с хроническим эндометритом в анамнезе [5, 9, 14]. Вызывая локальный и/или системный воспалительный ответ, инфекционные агенты могут стать причиной

прерывания беременности на любом сроке, формирования плацентарной недостаточности, ВУИ плода и новорожденного.

Более важными во время беременности, чем непосредственное воздействие возбудителя инфекционного процесса, являются реакции материнской иммунной системы в ходе реализации противоинфекционного ответа [5]. На современном этапе обсуждается патогенез преждевременных родов, ассоциированных с инфекционным фактором. Воздействие бактериальных эндотоксинов через TLRs вызывает усиленную продукцию хемокинов и цитокинов, активацию протеаз, лейкоцитарную инфильтрацию децидуальной ткани и плодных оболочек, что в конечном итоге приводит к преждевременному началу родовой деятельности, преждевременному разрыву плодных оболочек (ППО), раскрытию шейки матки [2, 5]. Сегодня представлены современные доказательства влияния микробной инвазии амниотической полости, оксидантного стресса и клеточного апоптоза на повышение активности в околоплодных водах матриксных металлопротеиназ (ММП) [2, 4]. Кроме участия в деградации плодных оболочек и их преждевременном разрыве, ММП расщепляют коллаген и эластин во внеклеточном матриксе цервикального канала, способствуя его расширению [1, 4, 7].

Хронический воспалительный процесс в матке изначально оказывает негативное влияние на формирование плаценты, нарушая процессы плацентации и полноценного ангиогенеза ворсинчатого дерева [5, 6, 8]. Усиление выброса цитокинов в ответ на инфекцию может инициировать эффекторные функции цитотоксических клеток, макрофагов и нейтрофилов, способствуя повреждению плацентарных барьеров [8]. Сведения литературы об участии цитокинов в реакциях гемостаза дают основание предположить, что повышение провоспалительных цитокинов у беременных во многом определяет нарушения коагуляционного гомеостаза и микроциркуляции в маточно-плацентарном бассейне, что в дальнейшем приводит к развитию фетоплацентарной недостаточности (ФПН) и досрочному прерыванию беременности [5, 8].

Трудности, связанные с исследованиями морфологического субстрата во время беременности, являющегося непосредственным индикатором нарушений в фетоплацентарном комплексе, в частности развития внутриматочного воспаления, диктуют необходимость разработки неинвазивных методов, позволяющих прогнозировать реализацию гестационных осложнений. Учитывая патогенез изучаемого осложнения, в комплекс обследования беременных женщин целесообразно включать оценку иммунологических показателей.

Цель нашего исследования – разработать модель прогноза преждевременных родов у женщин с внутриматочной инфекцией (ВМИ).

Материалы и методы исследования

Проведено когортное проспективное исследование, в которое вошли 327 беременных женщин, взятых методом сплошной выборки. Комплексное обследование включало оценку анамнестических данных и результатов клинических, микробиологических, инструментальных, иммунологических методов исследования. Забор материала для микробиологического и иммунологического исследования проводился на сроке 12–16 недель беременности. Работа проходила на базах ГБУЗ ОПЦ и ГБУЗ ГКБ № 8 г. Челябинска, НИИ иммунологии ФГБОУ ВО ЮУГМУ в период с 2012 по 2015 год. Клинико-лабораторное обследование беременных женщин проводилось согласно приказу Минздрава России № 572н от 1 ноября 2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология».

Для определения микробного пейзажа нижнего отдела репродуктивного тракта использовалась технология «Фемофлор-16», основанная на проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) «в режиме реального времени» с количественной и качественной характеристикой нормальной и условно-патогенной флоры. Исследование проводилось с использованием набора реагентов «Фемофлор 16» фирмы «ДНК-Технология» (Россия). Инструментальное обследование включало: эхографическое исследование плода и доплерографию (на ультразвуковых сканерах AlokaSSD 3500 и Logiq 7 pro); кардиотокографию плода и наружную гистерографию (аппарат Oxford sonic aid team care); простую и расширенную кольпоскопию (видеокольпоскоп «Sensitec-SLC», Китай).

Материалом для иммунологического исследования были периферическая кровь и цервикальная слизь. В периферической венозной крови определяли: абсолютное число лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, субпопуляции лимфоцитов (Т-лимфоциты, Т-хелперы, Т-цитотоксические, NK-лимфоциты, В-лимфоциты) и нейтрофилов (CD66b, CD62L и CD11b), факторы гуморального иммунитета (IgA, M, G, ЦИК, компоненты комплемента (C₃/C₅)), уровни ингибитора тканевого фактора (TFPI), ангиотензина-II, эндотелина (1-21). В периферической крови и цервикальной слизи изучалась функциональная активность нейтрофилов (лизосомальная активность, внутриклеточная кислородзависимая бактерицидность в НСТ-тесте, фагоцитоз, формирование внеклеточных ловушек), оценивались уровни цитокинов (IL-1 β , IL-8, IL-17, IL-4, IL-10, RAIL-1, IF- γ , TGF- β), sTREM-1 (растворимая форматриггерного рецептора-1 миелоидных клеток), альфа-дефензинов 1-3, белка BPI (humanbactericidalpermeabilityincreasingprotein), sVE-кадгерина. Отдельно, в выделенной фракции определялась функциональная активность моноцитов (лизосомальная, НСТ-редуцирующая, фагоцитарная активность, количество внеклеточных ловушек).

После родов во всех случаях проводилось морфологическое исследование последов. Диагноз ВМИ ставился на основании выявления признаков, отражающих различные общепатологические процессы в плаценте: воспаление, расстройство кровообращения, нарушение адаптации. Воспалительные изменения выражались в характерной клеточной инфильтрации различных структур плаценты: хориальной пластинки, базальной и париетальной децидуальных оболочек, амниона, стромы ворсин.

На первом этапе работы была изучена диагностическая ценность анамнестических, клинических, инструментальных и лабораторных показателей у женщин с морфологически верифицированной ВМИ. Все 327 женщин с учетом результатов морфологического исследования последов после родов были разделены на две группы: в I группу вошли 130 женщин с ВМИ, во II группу – 197 женщин без ВМИ. На втором этапе у 130 пациенток с ВМИ те же показатели были вновь оценены уже в зависимости от исхода беременности. С данной целью все пациентки с морфологическим подтверждением данного диагноза (130 женщин) были разделены на две подгруппы. В IA группу вошли 109 женщин, роды у которых произошли в срок, во IB группу – 21 женщина с преждевременными родами.

Обработка полученных данных проводилась общепринятыми методами вариационной статистики с использованием статистического пакета SPSSStatisc 17.0. Для оценки статистической значимости различий был использован критерий χ^2 и точный тест Фишера. Для изучения изолированного влияния каждого фактора с учетом его взаимосвязи с другими и выбора наиболее значимых предикторов риска преждевременных родов у женщин с ВМИ был проведен регрессионный анализ. Все предикторы являлись дихотомическими переменными. Была построена модель логистической регрессии (метод построения – пошаговый с включением переменных в модель), рассчитывались коэффициенты уравнения регрессии B и $\exp(B)$. Для изучения иммунологических предикторов были отобраны показатели, имеющие достоверные отличия между группами женщин со своевременными и преждевременными родами на фоне ВМИ, после чего определялась их диагностическая ценность с помощью ROC-анализа и расчета показателей чувствительности и специфичности теста.

Результаты

На первом этапе работы были установлены клиничко-иммунологические критерии внутриматочной инфекции (ВМИ) у беременных женщин [3]. С данной целью после родов был проведен сопоставительный анализ результатов комплексного обследования 327 женщин, проведенном во II триместре, с заключениями морфологического исследования последов. Гистологические признаки внутриматочного воспаления были выявлены в 39,8 % случаев (130), при этом у женщин, родивших в срок – в 36,7 % (109), у женщин с

преждевременными родами – в 77,8 % (21) случаев. После построения модели логистической регрессии, были установлены пять независимых маркеров диагностики ВМИ во время беременности: отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (2 и более искусственных аборт, неразвивающиеся беременности, самопроизвольные выкидыши, преждевременные роды в анамнезе); стойкая угроза прерывания; наличие цервицита; изменения в структуре плаценты и количестве околоплодных вод по данным УЗИ; нарушение маточно-плодового кровотока по доплерометрии. Каждому маркеру был присвоен 1 балл. При сумме 4–5 баллов – риск наличия ВМИ составил 81–100 %. При сумме 1–3 балла тот же риск был не выше 76 % и требовал дополнительного обследования пациенток, в качестве которого были использованы иммунологические показатели периферической крови и цервикальной слизи. Наилучшими показателями чувствительности и специфичности (ROC-анализ) обладали следующие показатели: $1\beta > 1,75$ пг/мл, IL-10 $< 3,8$ пг/мл, IL-17 $> 1,2$ пг/мл в периферической крови и sVEкадгерин < 6 пг/мл, α -дефензины < 155.000 пг/мл в цервикальной слизи. Также был проведен дискриминантный анализ иммунологических показателей, на основании которого была построена математическая модель и разработана программа прогнозирования ВМИ у беременных женщин.

На втором этапе работы после анализа результатов клинического, микробиологического, инструментального обследования женщин в зависимости от исхода беременности, были установлены факторы риска преждевременных родов на фоне ВМИ. Был также проведен регрессионный анализ с построением модели логистической регрессии (построение модели было остановлено на шестом шаге, R^2 модели составил 0,447, $p < 0,00001$). В результате в модель вошли шесть переменных: преждевременные роды в анамнезе, угроза прерывания беременности в I триместре; патологическая обсемененность нижнего отдела репродуктивного тракта *Gardnerella vaginalis*, *Enterobacteriaceae* / *Staphylococcus spp.*; наличие хронической субкомпенсированной и декомпенсированной плацентарной недостаточности (ХПН). Результаты приведены в таблице

Модель логистической регрессии для прогноза преждевременных родов у женщин с ВМИ

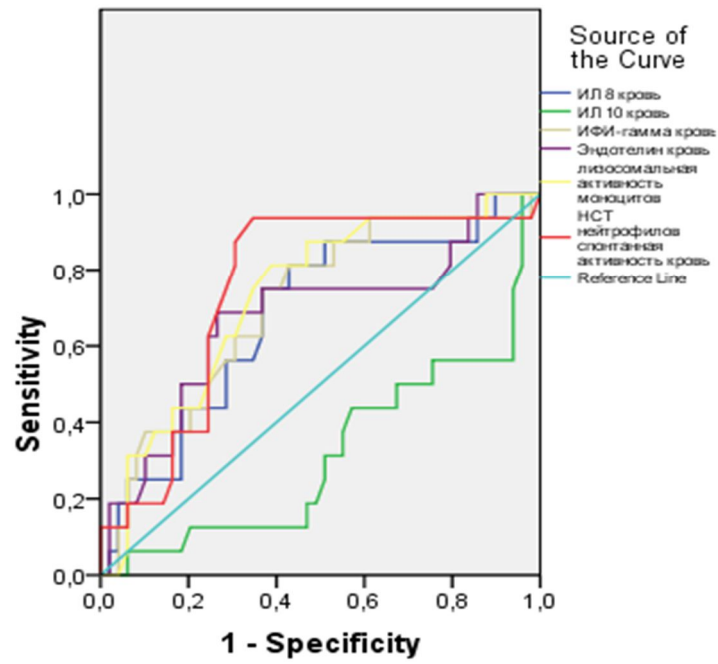
	Коэффициент уравнения регрессии В	Стандартная ошибка коэффициента SE(B)	p
Преждевременные роды в анамнезе	4,265	1,512	0,005
Угроза в I триместре	3,018	1,219	0,013

Gardnerella vaginalis	3,733	1,236	0,003
Enterobacteriaceae / Staphylococcuspp. в титрах $>10^4$ ГЭ/ мл	4,094	1,485	0,006
ХПН субкомпенсированная и декомпенсированная	4,245	1,501	0,005
Constant	-8,365	2,235	0,000

Было установлено, что шесть переменных являются значимыми независимыми факторами риска преждевременных родов у беременных женщин с ВМИ. Также был предпринят поиск иммунологических предикторов. После проведения ROC-анализа мы выявили значимые качественные и количественные иммунологические критерии в периферической крови и цервикальной слизи у женщин с преждевременными родами, ассоциированными с ВМИ. Было установлено, что в IV группе женщин достоверные изменения касались тех же иммунологических показателей, которые имели диагностическую ценность для расчета риска наличия ВМИ, но с еще более выраженными отклонениями от референтных значений «нормы». Вместе с тем были выделены дополнительные иммунологические предикторы, которыми стали: лизосомальная активность моноцитов > 212 у.е., НСТ-спонтанная активность нейтрофилов > 37 %, IL-8 $> 2,25$ пг/мл, IFN- γ $> 6,4$ пг/мл, IL-10 $< 3,5$ пг/мл, эндотелин $> 0,60$ пг/мл в периферической крови; общее количество лейкоцитов $> 30 \times 10^9$ /л., лизосомальная активность нейтрофилов > 177 у.е., IL-8 > 2175 пг/мл, IL-4 < 4 пг/мл, IFN- γ < 25 пг/мл, BPI < 80000 пг/мл, α -дефензины < 115000 пг/мл в цервикальной слизи.

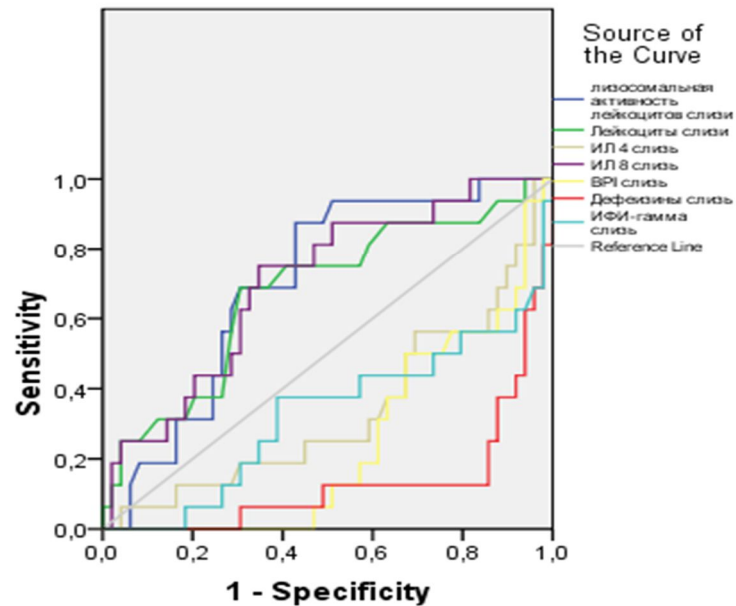
Таким образом, у женщин с ВМИ, у которых в последующем произошли преждевременные роды, был установлен высокий «провоспалительный ответ» клеток врожденного иммунитета периферической крови и цервикальной слизи на фоне дефицита противомикробных пептидов. Повышение уровня эндотелина в периферической крови у женщин с преждевременными родами не противоречит данным, полученным в эксперименте и доказывающим влияние данного пептида на тонус гладкомышечной мускулатуры матки через активацию MMP-1 [15].

ROC Curve



Diagonal segments are produced by ties.

ROC Curve



Diagonal segments are produced by ties.

ROC-кривые для показателей периферической крови и цервикальной слизи

Для удобства использования построенных нами многофакторных моделей в клинической практике, была создана программа для ПЭВМ (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016660265 от 09 сентября 2016).

Заключение. Морфологические признаки внутриматочного воспаления были установлены в 39,8 % случаев (130) среди всех родивших, при этом в 77,8 % (21) среди женщин с преждевременными родами. На первом этапе обследования беременных пациенток мы считаем оправданным определение степени риска наличия ВМИ, используя клинико-анамнестические, микробиологические, инструментальные и иммунологические данные. У всех женщин с высоким риском наличия ВМИ необходимо одновременно рассчитывать также и риск преждевременных родов. С этой целью в клинической практике может быть использована «Программа прогнозирования внутриматочной инфекции и ассоциированных с внутриматочной инфекцией преждевременных родов у беременных женщин». Своевременно установленные предикторы изучаемых осложнений позволят обосновать этиопатогенетический подход к тактике ведения пациенток из группы высокого риска для улучшения перинатальных исходов.

Список литературы

1. Барановская Е.И. Хориоамнионит / Е.И. Барановская, А.Н. Воронецкий, С.В. Жаворонок // Здоровоохранение (Минск). – 2010. – № 1. – С. 36-41.
2. Ганковская О.А. Молекулярно-генетические механизмы врожденного иммунитета на уровне слизистых оболочек при патологии инфекционного генеза: дис. ... д-ра наук / О.А. Ганковская. – Москва, 2010. – 261 с.
3. Долгушина В.Ф. Клинико-иммунологические критерии внутриматочной инфекции / В.Ф. Долгушина, И.И. Долгушин, И.В. Курносенко, Ю.В. Лебедева // Акушерство и гинекология. – 2017. – № 1. – С.40-45.
4. Друккер Н.А. Участие провоспалительных цитокинов амниотической жидкости в регуляции уровня оксида азота при преждевременных родах / Н.А. Друккер, В.А. Линде, З.В. Зенкина [и др.] // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2013. – № 6. – С. 16-18.
5. Макаров О.В. Невынашивание беременности, инфекция, врожденный иммунитет / О.В. Макаров, Л.В. Ковальчук, Л.В. Ганковская. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 175 с.
6. Никитина Л.А. Роль матриксных белков, цитокинов и факторов ангиогенеза маточно-плацентарного комплекса в регуляции имплантации и плацентации / Л.А. Никитина, Е.М. Демодова, В.Е. Радзинский [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2007. – № 3. – С. 5-9.

7. Новикова В.А. Роль инфекции в преждевременном разрыве плодных оболочек / В.А. Новикова, Г.А. Пенжоян, Е.В. Рыбалка [и др.] // Рос. вестн. акушера-гинеколога. – 2012. – № 6. – С. 35-39.
8. Сотникова Н.Ю. Иммунные механизмы регуляции инвазии трофобласта / Н.Ю. Сотникова // Рос. иммунологический журн. – 2012. – Т. 6 (14), № 2 (1). – С. 9-13.
9. Conti N. Termhistologicchorioamnionitis: a heterogeneous condition / N. Conti, M. Torricelli, C. Voltolini [et al.] // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. – 2015. – Vol.188. – P. 34-38.
10. Du H. Pathological change of histologic chorioamnionitis and its association with neonatal inflammation / H. Du, X. Han, L. Zhang [et al.] // Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi. – 2015. – Vol. 44, № 12. – P. 864-867.
11. Higgins R.D. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis / R.D. Higgins, G. Saade, R.A. Polin [et al.] // Obstet. Gynecol. – 2016. – Vol. 127, № 3. – P. 426-436.
12. Hulthen Varli, I. Both Acute and Chronic Placental Inflammation Are Overrepresented in Term Stillbirths: A Case-Control Study / I. Hulthén Varli, K. Petersson, M. Kublickas [et al.] // Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. – 2012. – Article ID 293867.
13. Kim S.A. Non-Invasive Prediction of Histologic Chorioamnionitis in Women with Preterm Premature Rupture of Membranes / S.A. Kim, K.H. Park, S.M. Lee [et al.] // Yonsei Med. J. – 2016. – Vol. 57, № 2. – P. 461-468.
14. Torricelli M. Histologic chorioamnionitis at term: implications for the progress of labor and neonatal wellbeing / M. Torricelli, C. Voltolini, N. Conti [et al.] // J Matern. Fetal Neonatal Med. – 2013. – Vol. 26, № 2. – P. 188-192.