

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

На правах рукописи

Хаддад Халид

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА
НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители –
доктор медицинских наук, профессор,
Оразмурадов Агамурад Акмамедович

член-корреспондент РАН,
доктор медицинских наук, профессор
Морозов Сергей Георгиевич

Москва — 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| ВВЕДЕНИЕ | 4 |
| ГЛАВА 1. НЕРАЗВИВАЮЩАЯСЯ БЕРЕМЕННОСТЬ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)..... | 8 |
| 1.1 Эпидемиология неразвивающейся беременности в Московском мегаполисе . | 12 |
| 1.2 Клинико-anamнестические факторы риска неразвивающейся беременности .. | 13 |
| 1.3 Иммунологические аспекты неразвивающейся беременности..... | 21 |
| 1.4 Серологические маркеры неразвивающейся беременности..... | 23 |
| ГЛАВА 2. ПРОГРАММА, КОНТИНГЕНТ, БАЗА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ | 28 |
| 2.1 Дизайн исследования..... | 28 |
| 2.2 Методы исследования | 31 |
| 2.2.1 Оценка клинико-anamнестической характеристики женщин с неразвивающейся беременностью | 31 |
| 2.2.2 ЭЛИ-П-Тест-1 (ELI-P-Test-1; от ELISA-detected Probability of Pathology in Pregnancy) | 34 |
| 2.2.3 Метаболомный анализ..... | 35 |
| 2.2.4 Протеомный анализ | 37 |
| 2.2.4.1 Подготовка пробы..... | 37 |
| 2.2.4.2 Хроматография и масс-спектрометрия..... | 38 |
| 2.2.4.3 Анализ данных | 39 |
| 2.2.5 Статистическая обработка полученных результатов | 41 |
| ГЛАВА 3. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДУЕМЫХ ГРУПП | 43 |
| ГЛАВА 4. ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ..... | 61 |
| 4.1 Протеомный анализ | 61 |
| 4.2 Сравнительный анализ концентраций KV315, APOC2, TTHY и ANGT в сыворотке крови женщин с неразвивающейся беременностью | 66 |

| | |
|---|----|
| 4.3 Особенности липидного профиля женщин с неразвивающейся беременностью..... | 73 |
| 4.4 Иммунологическая реактивность пациенток с неразвивающейся беременностью..... | 74 |
| ГЛАВА 5. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ ... | 76 |
| ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ..... | 82 |
| ЗАКЛЮЧЕНИЕ | 92 |
| СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ | 95 |
| СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | 97 |

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Неразвивающаяся беременность (НБ) является одной из нерешенных проблем как в России, так и в мире ввиду прогрессивного увеличения частоты заболевания [3]. Частота НБ среди случаев самопроизвольных выкидышей возросла с 10-20% до 45-88,6% [7, 15]. Установлено, что 30% беременностей у здоровых женщин прерываются на презембриональном или эмбриональном этапе развития, являясь результатом «естественного отбора» и «генетического сброса». Несмотря на доклинические потери, 20% диагностированных желанных беременностей заканчивается неблагоприятно, из них 9% – в результате НБ [16, 18].

Известно, что риск НБ возрастает с каждой последующей репродуктивной неудачей. Доказана корреляция между количеством репродуктивных потерь в анамнезе с вероятностью последующего самопроизвольного прерывания беременности: после одной потери беременности риск повторного невынашивания составляет 13-17%, после двух – возрастает до 36-38% [20, 21].

Однако в настоящее время контингент пациенток с НБ представлен соматически здоровыми беременными без отягощенного акушерственно-гинекологического анамнеза, что создает необходимость поиска новых, патогенетически обоснованных причин заболевания.

Степень разработанности темы. Несмотря на достигнутые успехи в вопросах этиологии и патогенеза неразвивающейся беременности, выявленные предполагаемые прогностические биомаркёры данного состояния имеют низкую чувствительность и специфичность, что определяет необходимость поиска более эффективных биомаркеров и является одним из ведущих и перспективных направлений современного акушерства и гинекологии. Известно, что варибельный V-домен лёгкой к-цепи иммуноглобулинов (KV315) является одним из главных регуляторов процесса воспаления, а также участвует в формировании иммунологической толерантности децидуально измененного эндометрия к трофобласту [53]. Однако, по данным мировой литературы отсутствуют

исследования о связи данного биомаркёра с НБ.

Аполипопротеин С2 является активатором фермента липопротеинлипазы и участвует в липолизе триглицерид-богатых липопротеинов [82]. Снижение концентрации данного активатора играет важную роль в нарушении жирового обмена и развитии дислипидемии, которая ведет к невынашиванию беременности.

Транстиретин – белок, обеспечивающий транспорт тироксина и ретинола. На ранних стадиях эмбриогенеза, пик синтеза транстиретина в ЦНС совпадает с периодом максимальной репликации нейробластов [95]. В литературе имеются единичные данные о роли транстиретина в реализации репродуктивных потерь, что диктует необходимость более детального изучения его патогенетической значимости при НБ.

Ангиотензиноген – белок из класса глобулинов, концентрация которого повышается под действием плазменных кортикостероидов, эстрогена, тиреоидного гормона и ангиотензина II [50]. Установлено, что ангиотензиноген считается одним из главных регуляторов ангиогенеза плацентарного ложа, а изменение его концентрации приводит к тромбозам сосудов хориона и развитию НБ.

Все вышеизложенное определило актуальность настоящего исследования.

Цель исследования: улучшить качество прогнозирования и ранней диагностики неразвивающейся беременности.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. Изучить распространенность неразвивающейся беременности в Московском мегаполисе.
2. Определить основные клиничко-анамнестические предикторы неразвивающейся беременности.
3. Определить сывороточные белки в их количественном выражении и исследовать их диагностическую и прогностическую значимость при неразвивающейся беременности.

4. Выявить потенциальные серологические маркеры, специфичные для женщин с неразвивающейся беременностью, особенности реактивности иммунной системы пациенток изучаемой когорты.

5. Создать прогностическую модель неразвивающейся беременности и оценить ее эффективность.

Научная новизна. Разработана новая научная идея, дополняющая современную концепцию патогенеза НБ. Дополнены сведения о клинко-анамнестических факторах риска ранних репродуктивных потерь. Предложена гипотеза о роли новых серологических маркеров в механизмах формирования НБ. Разработана информативная математическая модель прогноза неразвивающейся беременности на сроке 6-8 недель и в I триместре беременности.

Теоретическая и практическая значимость работы. В результате проведенного исследования расширены и углублены современные представления о патогенезе НБ.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных высокоинформативных методов исследования, включая масс-спектрометрию, иммуно-ферментный анализ.

Выявлена возможная патогенетическая роль белков KV315, APOC2, TTHY и ANG1 в генезе НБ.

Практическому здравоохранению предложена научно обоснованная модель прогноза НБ в I триместре, а также модификация рутинного алгоритма обследования женщин на этапе планирования беременности с целью улучшения прогнозирования возможных ранних репродуктивных потерь.

Методология и методы исследования. Исследование проводилось на двух клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, проф. В.Е. Радзинский) Медицинского института РУДН – гинекологическом отделении ГБУЗ «Городская клиническая больница №12 им. В.М. Буянова Департамента здравоохранения города Москвы» (гл. врач – к.м.н. Саликов А.В., зав. отделением – к.м.н. Дёмина О.А.) и женской консультации ГБУЗ «Городская клиническая больница №29 им.

Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы» Филиал № 1 Отделение № 7 (гл. врач – к.м.н. Шапкин Н.М., зам. главного врача по акушерству и гинекологии – Есипова Л.Н.) в период 2020-2022 г.

В соответствии с поставленными целью и задачами была составлена программа исследования, предусматривающая два этапа. На первом этапе был проведен ретроспективный анализ обменных и медицинских карт 258 беременных с НБ и 60 пациенток с прогрессирующей беременностью в соответствии со специально разработанными анкетами. Фиксировали такие показатели, как: возраст женщины и супруга, этническую принадлежность, семейное положение, антропометрические характеристики, соматические и гинекологические заболевания, репродуктивный анамнез, особенности течения данной беременности. Всем пациенткам был проведен иммуноферментный анализ сыворотки крови для определения антител к хорионическому гонадотропину человека (β -ХГЧ), после чего женщины, имеющие антитела к β -ХГЧ, были исключены из исследования.

На втором этапе исследования, в зависимости от срока НБ, установленного при ультразвуковом исследовании (УЗИ) в I триместре, все женщины были разделены на три группы. В первую группу вошли пациентки со сроком гестации 6-8 недель ($n= 52$), во вторую группу – со сроком 9-10 недель ($n= 52$), в третью – со сроком 10-12 недель беременности ($n= 51$). Контрольную группу составили 47 женщин, беременность которых протекала физиологически, закончилась срочными родами и рождением здорового ребенка.

Второй, проспективный, этап исследования был направлен на выявление серологических биомаркёров риска НБ с помощью масс-спектрометрического анализа плазмы крови пациенток и определение протеомного профиля беременных.

Положения, выносимые на защиту:

1. Клинико-анамнестическими предикторами, ассоциированными с высокой вероятностью НБ, являются: возраст женщины старше 30 лет (ОШ= 2,74; 95% ДИ:1,27-5,91; $p=0,03$), возраст супруга старше 33 лет (ОШ= 3,51; 95% ДИ:1,47-8,35; $p=0,03$), курение (ОШ= 14,11; 95% ДИ:4,2-47,3, $p=0,004$), употребление

алкоголя (ОШ= 1,77; 95% ДИ:0,64-4,9, $p<0,001$), внутриматочные вмешательства в анамнезе (ОШ= 4,32; 95% ДИ:0,9-19,1, $p=0,02$), отягощенный репродуктивный анамнез ранних потерь беременности (ОШ= 5,18; 95% ДИ: 1,18-22,58, $p= 0,009$), отсутствие прегравидарной подготовки (ОШ= 5,19; 95% ДИ:2,58-10,41, $p<0,05$).

2. В основе патогенеза НБ лежат: вариабельные V-домены легких цепей к-иммуноглобулинов (KV315) – 0,415 ($p<0,001$), аполипопротеин С-2 (АРОС-2) – 0,101 ($p<0,001$), транстиретина (ТТНУ) – 0,705 ($p<0,001$), ангиотензиноген (АНГТ) в средней равновесной концентрации в плазме крови 0,141 ($p<0,001$).

3. Прогностическим фактором НБ в сроке до 6-8 недель является смещение иммунореактивности, определяемой ЭЛИП-тестом в сторону гипо- или гиперреактивности (94,2%, $p<0,05$).

4. Разработанный алгоритм прогнозирования и ранней диагностики НБ основан на математической модели совокупности клинико-anamнестических, серологических, протеомных показателей и оценке иммунной реактивности, отражающейся QR-кодом для практического использования, имеет высокую прогностическую 86,35% и диагностическую 88,54% значимость.

Степень достоверности и апробация результатов. В качестве программного обеспечения были выбраны пакеты модулей для статистической обработки данных Microsoft Office Excel 2010 (надстройка AtteStat), Statistica ver. 10 (StatSoft, США) и IBM SPSS Statistics, version 26,0 for Windows (IBM Corporation, Somers, NY, USA), Jamovi, version 1.2.27, StatTech v.1.2.0 (номер регистрации 2020615715). Для оценки качественных признаков вычисляли абсолютные величины и процентную долю в структуре всей совокупности, применяли критерий Пирсона (χ^2). В случае, если при анализе четырехпольных таблиц число ожидаемого признака было менее 10, использовали критерий χ^2 с поправкой Йейтса, при частотах меньше 5 применяли двусторонний точный критерий Фишера (F).

Для оценки связи конкретного фактора риска с развитием НБ вычисляли величину отношения шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95%.

Исследование статистически значимых различий в средних значениях трех групп производили с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Для построения прогностической модели вероятности НБ применяли корреляционный и регрессионный методы с последующим ROC-анализом. При оценке ROC-кривой учитывали площадь под кривой (AUC), чувствительность (Se), специфичность (Sp) и точность (Ac) диагностического теста. Для каждого метода статистически значимым считали значение $p < 0,05$.

Результаты исследования и основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на: XVI Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2022), IV Общероссийской научно-практической конференции акушеров-гинекологов «Оттовские чтения» (Санкт-Петербург, 2022), IX Общероссийском конгрессе с международным участием «Ранние сроки беременности: от прегравидарной подготовки к здоровой гестации. Проблемы ВРТ» (Москва, 2023).

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН 17 апреля 2023 года, протокол № 13.

Работа выполнена в рамках основной научно-исследовательской деятельности кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии Медицинского института РУДН им. Патриса Лумумбы «Репродуктивное здоровье населения Московского мегаполиса и пути его улучшения в современных экологических и социально-экономических условиях» _номер государственной регистрации 01.9.70 007346, шифр темы 317712).

Результаты диссертационного исследования внедрены в работу женских консультаций ГБУЗ «Городская клиническая больница №29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы», а также в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии и кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФНМО Медицинского института РУДН.

Участие автора в сборе первичного материала составило более 90%, в обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Автор участвовал в курации всех беременных, включенных в исследование, лично проводил анкетирование женщин, осуществлял выкопировку из первичной медицинской документации данных о течении первого триместра беременности, выполнил статистическую обработку массива данных, подготовил научные статьи к публикации. Выводы и научные положения, выносимые на защиту, сформулированы автором лично.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ в отечественной и зарубежной печати, в том числе 9 статей – в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ и РУДН, 2 – в изданиях, цитируемых в базе периодики Web of Science.

Диссертация изложена на 110 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания методологии и методов исследования, трех глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации, списка сокращений и списка литературы. Работа содержит 12 рисунков и 41 таблицу. Список литературы включает 120 источников (43 – отечественных и 77 – иностранных).

ГЛАВА 1. НЕРАЗВИВАЮЩАЯСЯ БЕРЕМЕННОСТЬ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

«Неразвивающаяся беременность (НБ) – остановка в развитии эмбриона/плода до 22 недель беременности при отсутствии экспульсии плодного яйца/плода» [17]. НБ является одним из вариантов самопроизвольного выкидыша (СВ), при котором не происходит спонтанного опорожнения полости матки [17].

Основной вид диагностики НБ – ультразвуковое исследование (УЗИ). Выделяют два вида НБ: анэмбрионию (эмбрион изначально не развивается, при проведении УЗИ – феномен «пустого плодного яйца») и раннюю гибель эмбриона (при УЗИ в полости матки у эмбриона отсутствует сердцебиение).

«Распространенность НБ составляет около 2% при одноплодной беременности, при многоплодной беременности – возрастает вдвое» [17]. Точно определить частоту НБ сложно в связи с трудностями в статистической обработке данных: в 80% СВ сначала происходит гибель плодного яйца, а затем его экспульсия [17, 46].

Установлено, что до 80% случаев невынашивания беременности приходится на I триместр гестации (до 12 недель) [40, 46]. С 2002 г. существует концепция «черного ящика» ранних репродуктивных потерь, согласно которой максимальная вероятность наступления беременности у здоровой супружеской пары не превышает 30% [1]. Клинический интерес представляют оставшиеся 70%, состоящие из имплантационных и постимплантационных неудач в равных соотношениях [1].

НБ – полиэтиологичное состояние, патогенез которого до конца не изучен. Несмотря на то, что окончательные патогенетические механизмы развития НБ не установлены, выделяют три основных звена, следствием которых может быть задержка погибшего плодного яйца в полости матки: нежизнеспособность плода, инертность миометрия, нарушение свертывающей системы крови [17]. «Ареактивность миометрия может быть следствием структурно-функциональной неполноценности эндометрия (неадекватной трансформации, недостаточности рецепторного аппарата) в зоне имплантации и высокой пролиферативной

способности ворсинчатого хориона, что приводит к его глубокой инвазии» [17]. Отсутствие точных данных о механизмах развития заболевания создает трудности в ведении пациенток и профилактике повторных репродуктивных потерь.

1.1 Эпидемиология неразвивающейся беременности в Московском мегаполисе

В Российской Федерации частота невынашивания беременности варьирует от 10% до 28% [8, 26]. Наибольшее количество репродуктивных неудач приходится на I триместр, особенно на 7-8 недель беременности – ежегодно только на этом сроке регистрируется до 38% НБ и спонтанных абортов [26].

Ретроспективный анализ Вартанян Э.А. и соавт. (2018) случаев ранних репродуктивных потерь за 2017 г. в г. Москве показал, что их доля составила 17,0% от общего числа зарегистрированных желанных беременностей [8].

Согласно данным Управления Федеральной службы государственной статистики по г. Москве и Московской области, за 2021 г. зарегистрировано 27 918 неудач беременности на ранних сроках у женщин Московского мегаполиса, что составило 27,5% от общего количества наступивших беременностей [51].

Таким образом, в Московском мегаполисе за 5 лет количество ранних репродуктивных потерь, включающих НБ, выросло в 1,5 раза. Следует отметить, что за указанный промежуток времени увеличилась численность населения (с 12 500 000 чел. в 2017 г. до 12 645 258 чел. в 2021 г.) [51], однако данного факта недостаточно для обоснования резкого роста распространённости НБ. Увеличение общей заболеваемости в Московском мегаполисе с 778,9 на 1000 чел. населения в 2017 г. до 857,9 чел. населения в 2021 г. диктует необходимость поиска не только основных факторов риска, но и информативных прогностических маркеров НБ с целью улучшения репродуктивного потенциала женщин, планирующих беременность.

1.2 Клинико-анамнестические факторы риска неразвивающейся беременности

Выделяют несколько основных групп факторов риска, повышающих вероятность НБ. К таковым относятся: генетические, анатомические, инфекционные, эндокринные, токсические, иммунные [17].

Генетический фактор риска обусловлен поздним репродуктивным возрастом женщины, увеличивающим вероятность развития хромосомных аномалий эмбриона/плода [24]. По данным Magnus M.C. et al. (2019) риск ранних репродуктивных потерь у женщин после 35 лет возрастает, достигая к 45 годам 53% [70]. Чем старше возраст женщины, тем выше риск развития анеуплоидии, наиболее известными вариантами которой являются синдром Дауна, синдром Патау, синдром Эдвардса [21].

Однако возраст отца также может рассматриваться как независимый фактор невынашивания беременности [69]. Согласно данным Oldereid N.M. et al. (2018), с увеличением возраста мужчины повышается риск разрывов цепей ДНК сперматозоидов, нарушений генетического импринтинга и хромосомных aberrаций, являющихся факторами, ассоциированными с СВ [76]. Похожие результаты получены du Fossé et al. (2020): систематический метаанализ показал значимый вклад возраста отца старше 45 лет в увеличение вероятности ранних репродуктивных потерь [35].

Предполагают, что при нормальном кариотипе плода человеческие лейкоцитарные антигены E (human leukocyte antigens E, HLA-E) и NK-лимфоциты (natural killer, естественные киллеры) — основные звенья патогенеза анэмбрионии, часто обуславливающие ранние репродуктивные потери [17].

Наличие у супругов одинаковых аллелей генов HLA является одной из иммуногенетических причин неразвивающейся беременности [18, 61]. Сравнительный анализ Киселевой А.Н. и соавт. (2019) выявил статистически значимое повышение частоты встречаемости антигена HLA-A19 у женщин с бесплодием и антигена HLA-A11 у мужчин в супружеских парах с привычным

невынашиванием [31]. Наличие 3 аллельных HLA-совпадений достоверно чаще определяли у супругов с привычным невынашиванием [31].

Под анатомическими факторами риска подразумевают аномалии строения матки. Выделяют врожденные и приобретенные дефекты. К врожденным аномалиям относят полное удвоение матки, двурогую, седловидную, однорогую матку, частичную или полную внутриматочную перегородку. Данные дефекты встречаются у 10-15% женщин с невынашиванием беременности [21]. К приобретенным анатомическим дефектам относят субмукозную миому матки, внутриматочные синехии (синдром Ашермана) [21].

Миома матки при субмукозной локализации узла является фактором риска НБ в связи с деформацией полости матки и развитием ишемии миометрия в зоне расположения узла [3].

Синдром Ашермана характеризуется формированием в полости матки спаек и атрофии эндометрия [7]. Частота встречаемости внутриматочных синехий при НБ достигает 30% [7,9]. Предрасполагающими факторами для невынашивания беременности при синдроме Ашермана являются: уменьшение полости матки, отсутствие нормального количества ткани эндометрия для имплантации плодного яйца, неполноценная васкуляризация эндометрия вследствие фиброза [7].

Инфекционно-воспалительные факторы риска. Основными инфекционными факторами риска невынашивания беременности признаны как абсолютные патогены (*Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*), так и условно-патогенная микрофлора (*Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp.) в титре выше 10^5 КОЕ/мл [71]. В течение последних 5 лет наблюдается тенденция к увеличению частоты встречаемости условно-патогенных микроорганизмов у женщин с ранними репродуктивными потерями [71]. Согласно данным Sun D. et al (2022), состав бактериальной микрофлоры влагалища пациенток с НБ более разнообразен по сравнению с женщинами с физиологически протекающей беременностью [75].

Основной механизм действия микроорганизмов в патогенезе НБ, особенно бактериально-вирусных ассоциаций, заключается в персистенции в эндометрии,

приводя к формированию в нем морфофункциональных нарушений и развитию хронического эндометрита (ХЭ) [18, 21]. Данный феномен объясняется тем, что благоприятной средой для размножения бактерий и вирусов являются эмбриональные клетки и gravidарный эндометрий в связи с их высокой метаболической активностью, вследствие чего происходит формирование множественных очагов воспаления в зоне плацентарного ложа, нарушение дифференцировки зародышевых клеток, развитие эмбриопатий, поражение ворсин хориона, остановка развития плода [13, 18]. По данным Манухина И.Б. и соавт. (2018), у 67,7% женщин с ранними репродуктивными потерями при морфологическом исследовании эндометрия обнаруживаются ХЭ и персистенция условно-патогенных микроорганизмов [18].

Формирующийся ХЭ является неадекватным иммунным ответом на присутствующих в нем эндогенных бактерий, что является пусковым механизмом формирования аутоиммунного (асептического) воспаления [18]. В условиях постоянного присутствия инфекционного агента в эндометрии не происходит завершения фазы регенерации (заключительной фазы воспаления), нарушается местный тканевой гомеостаз. В результате снижается рецептивность эндометрия, включающая нарушение созревания пиноподий к моменту «окна имплантации» [21].

Изменения микроциркуляции в эндометрии приводят к ишемии и гипоксии тканей. Активированные в зоне незавершенного воспаления макрофаги являются источником активных форм кислорода и перекиси водорода, повреждающих клеточные мембраны. Все эти изменения ведут к неполноценной секреторной трансформации эндометрия, нарушая его прегравидарную перестройку, являясь субстратом невынашивания беременности [18, 74].

Поэтому, согласно результатам XVIII конгресса FIGO (Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique/ Международная федерация акушеров-гинекологов, Куало-Лумпур, Малайзия, 2006), принято считать неразвивающуюся беременность в 100% случаев ассоциированной с ХЭ [17].

Эндокринные факторы риска НБ. Такие эндокринные заболевания матери, как синдром поликистозных яичников (СПЯ), ожирение, заболевания щитовидной железы ассоциированы с повышенным риском невынашивания беременности [17].

Ранние репродуктивные потери у женщин с (СПЯ) традиционно ассоциируют с влиянием гиперинсулинемии и повышенного уровня тестостерона на качество ооцитов и эмбрионов [17, 68]. Однако некоторые исследователи считают, что частота невынашивания беременности при (СПЯ) сопоставима со среднепопуляционной [39, 41].

Существует контраверсионная эндометриальная теория невынашивания беременности при (СПЯ) [43, 83]. По имеющимся данным, особенностями морфофункциональной структуры эндометрия при (СПЯ) являются изменение провоспалительного цитокинового профиля, снижение экспрессии рецепторов к половым гормонам, влекущие за собой появление резистентности к прогестерону и замедление децидуальной трансформации эндометрия [43, 83]. Эта теория подтверждена Еньковой В.В. и соавт. (2020), обнаружившими участие тучных клеток эндометрия в патогенетических механизмах развития НБ у пациенток с (СПЯ) [20].

Ожирение является доказанным фактором риска ранних репродуктивных потерь [56]. Установлено, что избыток массы тела увеличивает риск потери беременности в I триместре в 1,3 раза [62]. У женщин с ожирением яйцеклетки меньше по размеру по сравнению с нормовесными, скорость бластуляции ниже, жизнеспособность эмбрионов меньше [62].

Помимо хронического воспаления, ассоциированного с ожирением, на развитие эмбриона оказывает влияние инсулинорезистентность, приводящая к увеличению циркулирующего тестостерона в крови и гипергомоцистеинемии [17, 41, 56]. В свою очередь, гипергомоцистеинемия усиливает оксидативный стресс в эндотелии сосудов эндометрия, что нарушает его кровоснабжение, замедляя или останавливая развитие эмбриона [17, 56].

Мужское ожирение также вносит вклад в ранние репродуктивные потери. Ожирение у мужчин может влиять на морфологию сперматозоидов, усиливая

повреждение ДНК, снижая активность митохондрий, увеличивая частоту тератозооспермии, олигозооспермии и астенозооспермии [36, 62]. Механизм влияния ожирения на сперматозоиды связан с ароматизацией тестостерона в эстрадиол в периферической жировой ткани и возникающей в результате эстрадиол опосредованной отрицательной обратной связью, подавлением оси гипоталамус–гипофиз–яички [36, 62]. Изменение морфологии сперматозоидов, фрагментация ДНК являются предрасполагающими факторами нарушения жизнеспособности эмбриона [36].

Роль гормонов щитовидной железы в развитии центральной нервной системы эмбриона/плода давно установлена [72]. Щитовидная железа матери является источником тиреоидных гормонов на ранних сроках беременности, поскольку плод начинает вырабатывать собственные гормоны щитовидной железы с 16-20 недель [72].

Метаболизм тиреоидных гормонов при беременности меняется в связи с действием хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) [19]. Во-первых, ХГЧ, обладая тиреотропным действием, вызывает гиперстимуляцию щитовидной железы и повышенную продукцию тироксина (Т4), который по механизму отрицательной обратной связи приводит к снижению тиреотропного гормона (ТТГ) [10, 19]. Во-вторых, под действием эстрогенов в печени увеличивается синтез тироксин-связывающего глобулина, поэтому с 7-й недели беременности нарастает уровень общего Т4 в крови беременной. В-третьих, увеличение фильтрационной функции почек приводит к повышению экскреции йода с мочой, что создает необходимость потребления беременной большего количества йода для обеспечения возросшей потребности в тиреоидных гормонах [10]. В условиях даже незначительного снижения тиреоидных гормонов нарушается адаптация материнского организма к беременности [19, 44].

Частота встречаемости манифестного гипотиреоза в популяции достигает 0,2-2,0%, субклинического – до 10,0% [19]. Распространенность гипотиреоза среди беременных, в среднем, составляет 2% [23].

По мнению ряда исследователей, субклинический гипотиреоз (СГ) является одним из факторов риска невынашивания беременности [10, 23, 44, 73, 47]. Согласно данным Олиной А.А. (2018), у каждой четвертой пациентки с НБ в I триместре встречаются заболевания щитовидной железы, преобладающим является гипотиреоз (до 80% случаев) [19].

Основной причиной СГ в развитых странах является аутоиммунный тиреоидит с формированием аутоантител к щитовидной железе [10, 47]. Патогенетический механизм аутоиммунного тиреоидита в невынашивании беременности связан с прямым эмбриотоксическим действием антител к щитовидной железе на трофобласт, ограничивая его инвазию и препятствуя нормальному развитию эмбриона [44]. Вторым механизмом является оказываемое влияние на эндометрий, в котором в физиологических условиях присутствуют рецепторы к тиропероксидазе и тироксину. При снижении уровня тиреоидных гормонов нарушается пролиферация эндометрия, его секреторная трансформация, что ведет к неполноценной инвазии трофобласта [47].

Однако в литературных источниках встречается контраверсионная позиция, отрицающая роль СГ и аутоиммунного тиреоидита в патогенезе ранних репродуктивных потерь [57, 80, 81]. Систематизированный метаанализ Venables A. et al. (2020) 14-ти рандомизированных исследований не выявил различий в частоте НБ и самопроизвольных выкидышей между пациентками с аутоантителами к щитовидной железе и здоровыми женщинами [80]. Аналогичные результаты были получены Cueva Sh. et al. (2018), не обнаруживших связи в частоте эуплоидных выкидышей и наличием антител к щитовидной железе у женщин с привычным невынашиванием беременности [57].

Основным токсическим фактором риска НБ является табакокурение, основной механизм действия которого связан сосудосуживающим эффектом никотина и развитием гипергомоцистеинемии, повреждающих эндотелий сосудов трофобласта [14, 84]. По данным Олиной А.А. и соавт. (2018), у курящих женщин риск НБ возрастает в 1,6 раза, а риск повторной репродуктивной потери – в 1,7 раза [59].

Употребление кофеина может быть также ассоциировано с ранними репродуктивными потерями. Согласно данным Gankins A.J. et al. (2018), употребление кофе ≥ 4 чашек в день связано с повышением риска невынашивания беременности на малых сроках [63].

Однако в отношении употребления кофе существуют и контраргументы. Результаты Yuan Sh. et al. (2021) выявили прямую корреляционную взаимосвязь между табакокурением и спонтанными абортами на малых сроках беременности, однако для употребления кофе и алкоголя такой взаимосвязи обнаружено не было [84].

К социально-экономическим факторам риска НБ относят уровень образования и профессиональную деятельность. Согласно данным Moutchia-Suh J. et al (2018), низкий уровень социально-экономического развития ассоциирован с повышенным риском самопроизвольных абортов [53]. К пациенткам с низким социально-экономическим статусом, согласно исследованию, относились неработающие женщины. Риск невынашивания беременности у данного контингента пациенток был связан с нарушением микронутриентного статуса: недостаточностью витамина D и фолатов [53].

Уровень образования также может быть связан с повышенным риском невынашивания беременности [54]. По данным Abate E. et al. (2019), у неработающих женщин со средним образованием риск ранних репродуктивных потерь в 1,6 раз выше по сравнению с беременными с высшим образованием, имеющих стабильный заработок [65].

Согласно данным литературы, нарушения системы гемостаза имеют высокую степень корреляции с осложнениями беременности, в том числе с ранними репродуктивными потерями [33,49,59,78]. Факторами риска НБ могут быть как врожденные, так и приобретенные тромбофилии.

При наследственной тромбофилии риск возникновения тромбов характеризуется генетическими мутациями в генах фактора свертывания крови: V фактора свертывания (Лейденская мутация), протромбина, гомозиготное носительство термоллабильного варианта гена метилентетрагидрофолатредуктазы

(MTHFR C677T) [33]. Носительство полиморфизмов генов тромбофилии способно усилить гиперкоагуляцию во время беременности и стать причиной невынашивания [33, 78].

Наиболее частыми причинами развития приобретенных форм тромбофилии являются нарушения в звеньях системы гемостаза: дефицит ингибиторов коагуляции (протеин С, протеин S, антитромбина 3); увеличение уровней факторов (8, 7, 13, 1, фактора Виллебранда); повышения активности тромбоцитов; снижение антитромбогенной активности стенки сосудов; снижение фибринолитических свойств крови [33].

Репродуктивный анамнез женщины также вносит вклад в риск осложнений последующих беременностей. После прерывания беременности шанс на успешную реализацию следующей гестации уменьшается. И чем больше репродуктивных потерь в прошлом, тем этот шанс ниже. После первой потери риск выкидыша не отличается от общепопуляционного, после второй – 29%, после третьей – 33% [27, 55].

Хирургические аборт, приводящие к структурным и морфологическим изменениям в эндометрии, повреждая его рецепторный аппарат, также считаются одним из факторов риска НБ [6].

Короткий интергенетический интервал, особенно после таких исходов беременности, как мертворождение, преждевременные роды, ассоциирован с последующими ранними и поздними репродуктивными потерями. По данным Nonuane B. et al (2019), наступление последующей беременности менее чем через 6 месяцев от предыдущей повышает риск спонтанных абортов и НБ в 2,3 раза [64].

Фактором риска НБ в течение I триместра беременности является ретрохориальная гематома (РХГ). От 5,2% до 29,5% беременностей с РХГ завершаются невынашиванием [64]. В основе механизма ее формирования лежит неполноценная инвазия трофобласта, сопровождающаяся усилением микроциркуляторного кровотока и, как следствие, повышением содержания кислорода в межворсинчатом пространстве, что на малых сроках гестации ведет к нарушению пролиферации ворсин хориона [50, 52, 64, 77].

1.3 Иммунологические аспекты неразвивающейся беременности

До 10% НБ связаны с системными аутоиммунными состояниями, приводящими к развитию антифосфолипидного синдрома (АФС) [17]. АФС является приобретенной тромбофилией, ассоциированной с образованием аутоантител к фосфолипидам [30].

Антифосфолипидные антитела (АФА) – гетерогенная группа аутоантител, которые взаимодействуют с фосфолипид-связывающими белками плазмы крови. К фосфолипид-связывающим плазменным белкам относится β 2-гликопротеин I (β 2-ГП), а также протромбин, тромбомодулин, кининогены, антитромбин III, белок C, белок S, аннексин I, II и V [22]. Основными патогенетическими механизмами НБ при АФС являются: активация системы комплемента комплексами «антиген-антитело», активация воспаления в эндометрии, тромбоз спиральных артерий [4].

Современные исследования показывают, что АФА определяются даже у здоровых лиц – до 0–14% в популяции (в среднем 1–5%; в высокой концентрации – менее чем у 0,2%) [22, 30, 82]. Не подтверждено влияние АФА на неудачные исходы экстракорпорального оплодотворения, а риск выкидышей коррелирует с увеличением уровня антикардиолипидных антител, преимущественно IgG. Аллели главного комплекса гистосовместимости (HLA) тоже вносят частичный вклад в генетическую предрасположенность к развитию АФС [22, 30].

Аутоантитела к β -субъединице хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) являются одной из причин ранних репродуктивных потерь. При аутосенсбилизации к β -ХГЧ основное повреждение обнаружено на ворсинах синцитиотрофобласта, вследствие чего развиваются дистрофические и некротические изменения децидуальной ткани, снижаются инвазивные свойства цитотрофобласта, нарушается гестационная перестройка спиральных артерий, приводящие к остановке развития эмбриона [18].

Более редко в патогенезе НБ участвуют антиспермальные антитела, антитела против нуклеиновых кислот, антитела к собственным лимфоцитам [30].

Иммунный ответ матери на трофобласт при недостаточности рецепторного аппарата эндометрия и дефиците прогестерона заключается в сдвиге в сторону активных киллеров (CD56+), продуцирующих провоспалительные цитокины (Th1): IL1, IL6, TNF α , IFN γ , которые, в свою очередь, активируют протромбокиназу, вследствие чего происходит ограничение инвазии трофобласта, тромбозы, инфаркты и, как итог, выкидыш [29].

Выявлено, что противовоспалительные Th2 цитокины способствуют благоприятному течению беременности, тогда как провоспалительные Th1 цитокины (IL1, IL2, IFN γ , TNF2) – ее прерыванию. Критериями неблагоприятного прогнозирования беременности на ранних сроках (6–12 недель) являются нарушения в структуре взаимодействия системы гемостаза и иммунной системы (сочетание дисбаланса Th1/Th2 цитокинов и признаков гиперкоагуляции) [29].

Успешный исход беременности и развития плода в значительной степени зависит от состояния иммунной системы матери и регулируется интерлейкинами, интерферонами и эмбриотропными аутоантителами класса IgG, изменение уровней которых под воздействием различных эндогенных и экзогенных факторов может стать причиной невынашивания беременности [11].

Сывороточное содержание а-АТ поддерживается в определенных границах при физиологических состояниях. Отклонение от референсных значений в концентрации – фактор риска нарушений процессов эмбриогенеза. Если беременность наступает на фоне измененной иммунореактивности, это может быть причиной остановки ее развития [11].

В 1998 г. Полетаевым А.Б., Вабищевич Н.К., Морозовым С.Г. предложен метод скринингового обследования женщин репродуктивного возраста для прогноза развития эмбриона/плода и рождения здорового либо аномального ребенка с помощью тестсистемы ELI-P (патент РФ 2107913, МПК-7 G 01 N, 27 марта 1998 г.). В основе данного метода лежит определение сывороточного уровня а-АТ к основному белку миелина (ОБМ), белкам, участвующим в регуляции миграции нейробластов головного и спинного мозга и их функциональной дифференцировке (S100), фракции негистоновых белков хроматина ткани мозга

(АСВР-14/18) и фракции мембранных белков ткани головного мозга (МР-65) – так называемые, эмбриотропные антитела. По наибольшей степени отклонения одного или нескольких определяемых показателей судят о прогнозе развития эмбриона/плода и рождении здорового младенца либо ребенка с аномалиями развития.

На основании результатов ЭЛИ-П-теста в зависимости от концентрации эмбриотропных аутоантител определяют реактивность иммунного ответа как нормо-, гипо-и гиперреактивный (патент РФ 2107913, МПК-7 G 01 N, 27 марта 1998 г.).

Сывороточная концентрация эмбриотропных антител у женщин, имевших в анамнезе случаи гибели плода или рождения детей с пороками развития или страдающих привычным невынашиванием беременности, выходит за границы физиологической нормы более чем в 90% наблюдений, тогда как у здоровых женщин она поддерживается в узких рамках [32].

Известно, что женщины с гипореактивностью по сравнению с пациентками с нормо-и гиперреактивностью имеют предпосылки к невынашиванию беременности [11, 32].

Изменения продукции а-АТ бывают следствием влияния как внешних, так и внутренних факторов (экологические факторы, стрессы, инфекции, эндокринно-метаболические заболевания). Причем эти изменения могут касаться и тех а-АТ, поддержание физиологических концентраций которых критически важно для физиологического течения беременности и нормального эмбриогенеза [11].

1.4 Серологические маркеры неразвивающейся беременности

Значимая роль в патогенезе неразвивающейся беременности отводится эндометриальным белкам. Основными белками, характеризующими рецептивную функцию эндометрия являются а-2-микроглобулин фертильности, выступающий индикатором активности желез матки, и плацентарный $\alpha 1$ -микроглобулин, отражающий процессы децидуализации эндометрия. При ХЭ сокращается

выработка эндометрием данных белков, обладающих иммуносупрессорным действием [29].

Роль α -2-микроглобулина фертильности при физиологически протекающей беременности состоит в подавлении местного иммунитета в эндометрии посредством ингибирования активности CD-56 лимфоцитов и Т-хелперов, повышения продукции интерлейкина 6. Все эти изменения необходимы для успешной адгезии и инвазии трофобласта [2].

В прогнозировании ранних репродуктивных потерь в последнее время большое внимание уделяется гликоделину А. Гликоделин – основной белок репродуктивной системы человека. Наиболее изученная изоформа, гликоделин А, секретируется децидуальным железистым эпителием и в процессе беременности накапливается в амниотической жидкости и сыворотке крови матери. Выраженная иммуносупрессивная активность гликоделина А способствует успешной имплантации и плацентации. При невынашивании беременности разных сроков содержание гликоделина в периферической крови снижено, что может являться одним из маркеров ранних репродуктивных потерь [25].

Лоскутовой И.В. и соавт. в 2017 г. была доказана роль дислипидемии в патогенезе невынашивания беременности (НБ) у пациенток с привычным невынашиванием со сроком гестации 6-11 нед, с дислипидемией, проявляющейся высоким содержанием общего холестерина, триглицеридов, атерогенных фракций на фоне снижения уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Недостаток ЛПВП сохраняет вероятность отложения липопротеидов низкой и очень низкой плотности на стенках сосудов, что может приводить к тромбозу сосудов и развитию гипоксии в плаценте [15].

Известно, что аполипопротеин Е (АПОЕ) является одним из ключевых белков метаболизма липопротеинов и холестерина, участвует в образовании и секреции липопротеинов, обеспечивает связывание последних с рецепторами липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), инициирует их захват и удаление из крови. ЛПНП – переносчики холестерина, повышение уровня которых может приводить к образованию жировых отложений в стенках сосудов, что, в свою очередь, приводит

к недостаточному кровоснабжению плаценты. Помимо этого, закупорка сосудов ведет к повышению артериального давления, что также негативно сказывается на прогрессировании беременности [58].

Белок АРОС2 является активатором фермента липопротеинлипазы и играет решающую роль в метаболизме триглицеридов, превращая их в богатые холестерином липопротеины и способствуя при этом развитию дислипидемии [58].

Учитывая, что среди этиопатогенетических факторов риска НБ ведущее место принадлежит дислипидемии и эндотелиальной дисфункции как в материнском организме, возрастает интерес к изучению эффектов АРОС2 и его роли в патогенезе НБ.

По данным единичных исследований, выявлена связь между концентрацией АРОС2 и НБ [16, 58]. Однако для лучшего понимания патогенеза необходимо изучение более широкого спектра возможных серологических маркеров НБ.

Еще одним предиктором НБ является инсулиноподобный пептидный гормон релаксин. Известны три изоформы данного биомаркера у человека: Н1, Н2 и Н3, которые были идентифицированы в желтом теле, децидуальной ткани, плаценте, простате.

Форма релаксина, циркулирующая в крови, синтезируется желтым телом яичников как у беременных, так и у небеременных. Наибольшая концентрация релаксина в крови отмечается во время беременности. Наиболее высокий его уровень определяется в первом триместре, который достигает пика к 8–12-й неделе. Далее концентрация снижается примерно на 20% к концу первого триместра [12].

На ранних сроках беременности релаксин стимулирует биохимические изменения в клетках стромы эндометрия, принимая участие в его децидуализации, а также модулирует активность матриксных металлопротеиназ, повышает локальную концентрацию иммунокомпетентных клеток, усиливает ангиогенез, создавая благоприятные условия для имплантации эмбриона [12].

Современные данные о роли релаксина в I триместре беременности противоречивы. Ряд авторов описывают положительное влияние гормона на адаптацию эндометрия к имплантации, его децидуализацию и процессы

неоангиогенеза во время гестации [34, 40, 79]. Однако существует контраверсионная позиция исследователей, не обнаруживших корреляционной связи между циркулирующим уровнем релаксина в сыворотке крови, гестационными изменениями в эндометрии и пролиферацией клеток трофобласта [42, 60].

Еще одним потенциальным серологическим маркером НБ может стать сосудисто-эндотелиальный фактора роста (VEGF). По данным Zhi Zh. et al. (2018), в основе ранних репродуктивных потерь лежит нарушение взаимодействия сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) с его рецепторами в ворсинах хориона (VEGFR1 и VEGFR2) [45]. Неполноценная перестройка спиральных артерий эндометрия может быть причиной гибели эмбриона на ранних стадиях имплантации [45].

Guangzhuang Jing и соавт. (2020) выявили взаимосвязь между уровнем β -ХГЧ в сыворотке крови и концентрацией VEGF-фактора [79]. ХГЧ, активируя действие сосудисто-эндотелиального фактора роста, способствует пролиферации ворсин хориона, инвазии цитотрофобласта [79]. Однако снижение уровня хорионического гонадотропина человека на ранних сроках беременности может ингибировать экспрессию факторов, связанных с сигнальным путем VEGF-МЕК/ERK, а ингибирование сигнального пути VEGF-МЕК/ERK тормозит пролиферацию и активацию трофобластов и стимуляцию ангиогенеза, что приводит к нарушению кровоснабжения ворсин хориона и, как следствие, неразвивающейся беременности [79].

Встречаются данные о связи белков, участвующих в процессе воспаления, с неудачами беременности на ранних сроках. Metwally M. et al. (2014) обнаружили связь гаптоглобина (белка, ассоциированного с воспалением) с транстиретином у женщин с привычным НБ [37]. Согласно данным авторов, у пациенток с привычным невынашиванием в эндометрии обнаружена повышенная экспрессия гаптоглобина и транстиретина [37].

Теорию ассоциации транстиретина и репродуктивных потерь подтвердили и Sharma S. et al. (2019), обнаружив связь между белками: гаптоглобином,

транстиретином, трансферрином и аполипопротеином А1 у женщин с СВ в анамнезе [66].

Исследование Heidari M.M. et al. (2019), продемонстрировало ассоциацию повышения уровня в сыворотке крови белка ангиотензиногена, участвующего в регуляции сосудистого тонуса, с риском НБ [38]. Данную гипотезу подтвердил сравнительный анализ Xiong Y-M. et al. (2021). По данным авторов, ангиотензиноген являлся провоцирующим фактором формирования очаговых некрозов в эндометрии у пациенток с привычным невынашиванием беременности, влияя на полноценность инвазии трофобласта, развитие эмбриона [67].

Резюме. Распространенность НБ в условиях Московского мегаполиса не имеет тенденции к снижению. За последние 5 лет частота встречаемости данной нозологии у женщин г. Москвы увеличилась в 1,5 раза.

Несмотря на широкий спектр доказанных факторов риска, основные звенья патогенеза НБ до конца не изучены. Не выявлено достоверных, информативных серологических, иммунологических маркеров, способных своевременно прогнозировать ранние репродуктивные потери.

Возникает необходимость разработки единого подхода к прогнозированию, своевременной диагностике и профилактике этого осложнения.

Все вышеперечисленное определило актуальность данного исследования.

ГЛАВА 2. ПРОГРАММА, КОНТИНГЕНТ, БАЗА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Дизайн исследования

На этапе планирования исследования нами был проведен анализ данных отечественных и мировых исследований по прогнозированию неразвивающейся беременности. Данная проблема оставляет за собой много нерешенных вопросов, для решения которых требуется более глубокое изучение. В первую очередь это касается определения прогностических критериев.

Планируя настоящее исследование, нами учитывалась неоднородность патогенетических механизмов, лежащих в основе возникновения неразвивающейся беременности при спорадическом и привычном невынашивании.

Для выполнения поставленных цели и задач было проведено два этапа исследования.

Исследование проводилось на двух клинических базах кафедры акушерства и гинекологии с курсом перинатологии (зав. кафедрой – засл. деятель науки РФ, член-корр. РАН, проф. В.Е. Радзинский) Медицинского института РУДН – гинекологическом отделении ГБУЗ «Городская клиническая больница №12 им. В.М. Буянова Департамента здравоохранения города Москвы» (гл. врач – к.м.н. Саликов А.В., заведующий гинекологическим отделением – к.м.н. Дёмина О.А.) и женской консультации ГБУЗ «Городская клиническая больница №29 им. Н.Э. Баумана Департамента здравоохранения города Москвы» (гл. врач – к.м.н. Шапкин Н.М., зам. главного врача по акушерству и гинекологии – Есипова Л.Н.) Филиал № 1 Отделение №7 в период с сентября 2020 г. по ноябрь 2022 г.

Критерии включения в исследуемые группы:

1. одноплодная спонтанно наступившая маточная беременность, подтвержденная результатами ультразвукового исследования;
2. срок беременности 6-12 недель;
3. отсутствие соматических заболеваний в стадии суб/декомпенсации;
4. отсутствие антител к хорионическому гонадотропину человека (β -ХГЧ);

5. информированное согласие женщин на участие в исследовании.

Критерии исключения из исследуемых групп:

1. беременность, наступившая в результате ВРТ;
2. многоплодная беременность;
3. срок беременности > 12 недель или < 6 недель
4. диагностированные хромосомные аномалии у плода;
5. инфекционные заболевания в стадии обострения;
6. искусственное прерывание беременности;
7. добровольный отказ от исследования.

В соответствии с поставленными целью и задачами был составлен следующий алгоритм исследования:

1. На первом этапе исследования ретроспективно анализировали клинические данные 258 беременных с НБ и 60 пациенток с прогрессирующей беременностью в соответствии со специально разработанными анкетами (см. Приложение 1). Изучали следующие показатели: возраст женщины и супруга; этническую принадлежность, семейное положение; антропометрические характеристики, соматические и гинекологические заболевания, репродуктивный анамнез (количество перенесенных беременностей, их течение, исходы и осложнения), особенности течения данной беременности. Данные получены в результате ретроспективного анализа данных обменных карт и медицинских карт пациенток гинекологического отделения ГКБ имени В.М. Буянова.

2. Всем участникам исследования проводился иммуноферментный анализ с целью определения наличия антител к ХГЧ. В результате чего были исключены из исследования пациентки с антителами к β -ХГЧ.

3. На втором этапе исследования, в зависимости от срока беременности, установленного при УЗИ в I триместре, беременные были разделены на 3 группы. В первую группу вошли пациентки с гестационным сроком 6-8 недель ($n=52$), во вторую группу – 9-10 недель ($n=52$), в третью – 10-12 недель беременности ($n=51$). В контрольную группу были включены 47 пациенток, беременность которых

протекала физиологически и закончилась своевременными родами и рождением здорового ребенка.

4. Второй, проспективный, этап исследования был направлен на определение серологических биомаркёров неразвивающейся беременности с помощью масс-спектрометрического анализа плазмы крови пациенток и определение их протеомного профиля.

5. Проводили статистический анализ полученных данных.

В соответствии с алгоритмом была разработана программа исследования (Рисунок 1).



Рисунок 1 – Программа исследования

В соответствии с разработанным алгоритмом, программой исследования, сформирован следующий дизайн исследования (Рисунок 2).

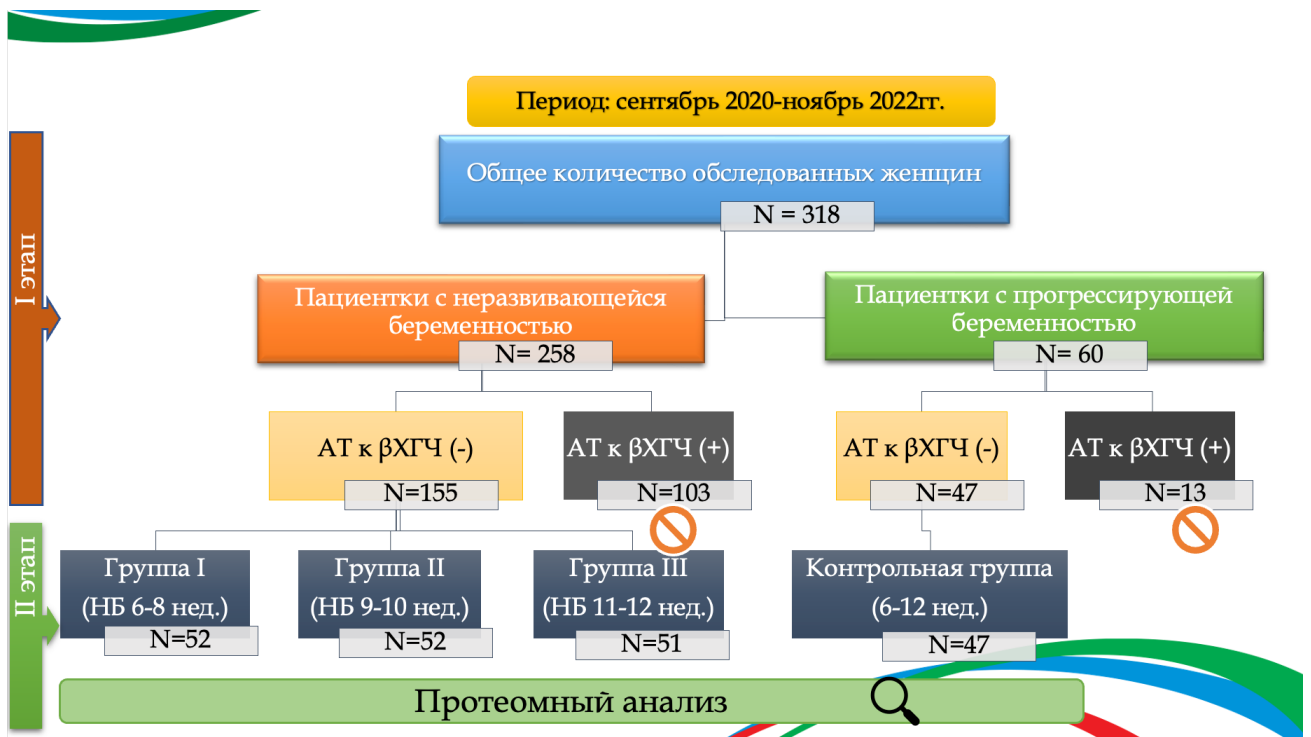


Рисунок 2 – Дизайн исследования

2.2 Методы исследования

Беременные исследуемых и контрольной групп были обследованы в соответствии с приказом Минздрава РФ от 01.11.2012 г. №572н и приказом № 1130н от 20.10.2020 «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».

2.2.1 Оценка клинико-anamnestической характеристики женщин с неразвивающейся беременностью

На основе разработанной системы анкет-опросников, анализа медицинской документации мы проводили тщательный сбор и анализ анамнестических данных, оценку жалоб и время их появления, срок беременности на момент обращения в стационар или женскую консультацию. Особое внимание мы уделяли выявлению данных собственного анамнеза в отношении неразвивающейся беременности: возрасту беременной и ее супруга, ее образованию, социальному статусу, уровню

занятости, наличие вредных привычек и профессиональных вредностей, наличие экстрагенитальных заболеваний (заболевания щитовидной железы, желудочно-кишечного тракта, сахарный диабет, анемия, коагулопатии, хронические специфические инфекции). Оценивали гинекологические заболевания (бесплодие, СПЯ, миома матки, эндометриоз, дисфункция яичников, аномальные маточные кровотечения, воспалительные заболевания органов малого таза, хронический эндометрит, кисты яичников), акушерский анамнез (роды, искусственные аборты, неразвивающиеся беременности, самопроизвольные выкидыши), течение настоящей беременности: угроза прерывания беременности, прием лекарственных средств, перенесенных острых инфекционных заболеваний.

Данные объективного исследования включали в себя: общий осмотр с оценкой конституционального типа и антропометрическими измерениями. С помощью полученных результатов антропометрических исследований по индексу Кетле были определяли индекс массы тела, рассчитываемый как отношение массы тела в килограммах к квадрату длины тела в метрах: $ИМТ = \frac{\text{Масса тела (кг)}}{\text{Длина тела (м}^2\text{)}}$. Согласно рекомендациям ВОЗ массу тела считали нормальной при значениях ИМТ в пределах 18,5-24,9 кг/м², недостаточной (дефицит) – менее 18,5 кг/м², избыточной – 25-29,9 кг/м², ожирение – 30 кг/м² и более.

Проводилась оценка состояния дыхательной, сердечно-сосудистой, пищеварительной, мочевыделительной, эндокринной и нервной систем.

Гинекологический осмотр пациенток. Всем пациенткам проводился осмотр молочных желез.

Всем обследуемым женщинам были проведены стандартные лабораторные исследования, предусмотренные нормативными документами, а именно: определение группы крови и резус принадлежности, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, коагулограмма, определение антител классов М, G к вирусу иммунодефицита человека ВИЧ-1/2, к антигену вирусного гепатита В и вирусному гепатиту С в крови, определение антител к бледной трепонеме (*Treponema pallidum*) в крови, общий анализ мочи, микроскопическое исследование окрашенного мазка (по Граму), полученного из отделяемого влагалища,

цервикального канала и наружного отверстия уретры. Морфологическому исследованию подвергались соскобы хориона после медикаментозного или инструментального прерывания беременности.

Диагноз НБ был поставлен на основании критериев диагностики, утвержденных Министерством здравоохранения РФ в виде клинических рекомендаций (2020) [159]. УЗИ органов малого таза выполнялось на аппаратах Voluson (США) «датчиками 3,5 и 5 МГц и «Samsung Medison Accuvix V20» (Производитель: Samsung Medison, Корея), «Voluson E8» (Производитель: GE Healthcare, США) с использованием трансабдоминального и трансвагинального доступов по общепринятой методике и включало в себя оценку состояния плодного яйца, хориона, желточного мешка, матки, придатков и желтого тела, а также определение жизнедеятельности эмбриона, расчет срока беременности по размерам среднего внутреннего диаметра плодного яйца и на основании измерения копчико-теменного размера (КТР).

На основании УЗИ выделяют достоверные и сомнительные признаки НБ.

Достоверными критериями НБ считают:

- отсутствие сердцебиения (СБ) эмбриона при $КТР \geq 7$ мм.
- отсутствие эмбриона при среднем диаметре плодного яйца ≥ 25 мм.
- отсутствие эмбриона и СБ через ≥ 14 дней после УЗИ, при котором визуализировалось плодное яйцо без желточного мешка.
- отсутствие эмбриона и СБ через ≥ 10 дней после УЗИ, при котором визуализировалось плодное яйцо и желточный мешок.

К сомнительным критериям относят:

- отсутствие СБ эмбриона при $КТР < 7$ мм.
- отсутствие эмбриона при среднем диаметре плодного яйца 16-24 мм.
- отсутствие эмбриона и СБ через < 14 дней после УЗИ, при котором визуализировалось плодное яйцо без желточного мешка.
- отсутствие эмбриона и СБ через < 10 дней после УЗИ, при котором визуализировалось плодное яйцо и желточный мешок.

- отсутствие эмбриона в сроке ≥ 6 недель от первого дня последней менструации при регулярном менструальном цикле.
- пустое плодное яйцо (без желточного мешка и эмбриона).
- увеличенный в размерах желточный мешок >7 мм либо уменьшенный <2 мм.
- относительно небольшие размеры плодного яйца по сравнению с размерами эмбриона (<5 мм разницы между средним диаметром плодного яйца и КТР эмбриона).

2.2.2 ЭЛИ-П-Тест-1 (ELI-P-Test-1; от ELISA-detected Probability of Pathology in Pregnancy)

Иммунореактивность у пациенток исследуемых групп определялась методом «Эли-П-тест» (Elisa-detected probably of pathology, патент РФ 2107913, МПК-7 G 01 N, 27 марта 1998 г.). В основе данного метода лежит определение методом иммуноферментного анализа (ИФА) сывороточного уровня эмбриотропных антител: к основному белку миелина (ОБМ), белкам, участвующим в регуляции миграции нейробластов головного и спинного мозга и их функциональной дифференцировке (S100), фракции негистоновых белков хроматина ткани мозга (АСВР-14/18) и фракции мембранных белков ткани головного мозга (МР-65).

Полученные методом ИФА результаты сывороточной концентрации указанных белков выражаются в процентах от уровня реакции эталонной контрольной сыворотки. Физиологические значения иммунореактивности у 95% клинически здоровых респондентов находятся в диапазоне от 15% до 40%

Если интенсивность реакции исследуемой сыворотки с любым из белков-антигенов составляла 5-40% от интенсивности реакции сыворотки –эталона, она считалась нормореактивной. При интенсивности реакции исследуемой сыворотки с любым из белков-антигенов более 41%, ее относили к группе гиперреактивных изменений. Если интенсивность реакции исследуемой сыворотки с любым из белков составляла менее 5%, такую сыворотку относили к гипореактивным.

Определение а-АТ класса IgG к ОБМ, S100, ACBP-C и MP-C проводили с помощью наборов ЭЛИ-П-Тест-1 для иммуноферментного анализа. В соответствии с инструкцией фирмы-производителя пациентки были разделены на 3 группы: нормо-, гипо- и гиперреактивные.

Результаты обследования выражаются в процентах (условных единицах) от стандарта. Если все показатели находятся в пределах от -25 до +30%, результат оценивается как нормореактивность по ЭЛИ-П-Тесту-1; в том случае если минимум один из показателей менее -35% и при этом остальные показатели не более +30%, результат оценивается как гипореактивность по ЭЛИ-П-Тесту-1; если минимум 1 из показателей более +40% и при этом с остальные показатели не менее -25%, результат оценивается как гиперреактивность по ЭЛИ-П-Тесту-1.

2.2.3 Метаболомный анализ

К 100 мкл исследуемой плазмы крови добавляли пять объемов метанола. Полученную суспензию упаривали при 30°C, высушенный осадок ресуспендировали в 0,1 М HCl и общий объем довели до 1 мл.

Для эффективной MS-детекции часть метаболитов была дериватизирована (этерифицирована) раствором 3М HCl в н-бутаноле. Для этого отбирали 500 мкл раствора и сушили в вакууме при температуре 30 °C в течение 60 мин. Сухой остаток смеси восстанавливали в 300 мкл раствора 3 М HCl в н-бутаноле. Раствор (1 мл) 3 М HCl в н-бутаноле готовили из 11 М HCl путем смешивания 257,70 мкл 11 М HCl и 742,30 мкл н-бутанола (из расчета плотности 11 М раствора HCl, равной $\rho = 1,179$ г/см³). Реакционную смесь инкубировали при 65°C в течение 15 мин при постоянном перемешивании со скоростью 1200 об/мин. Избыток н-бутанола из реакционной смеси удаляли выпариванием в вакууме при температуре 30 °C в течение 40 мин. Полученный сухой остаток восстанавливали в 0,2 мл раствора 0,1% муравьиной кислоты, 20 % ацетонитрила.

Другую часть метаболома переводили в фенолятные производные. Это позволило проводить MS-детектирование в условиях хроматографического разделения на колонке C18 с неподвижной фазой и при положительной ионизации.

Производные получали реакцией фенола в этилацетате с 3 М HCl при 65°C в течение 20 мин. Затем органическую фазу сушили в вакууме и ресуспендировали в 0,1 М HCl; общий объем довели до 0,2 мл.

Анализ общей фракции метаболома проводили на квадрупольном времяпролетном масс-спектрометре высокого разрешения Xevo G2-XS (Waters, Elstree, UK), оснащенный источником электростатической ионизации Z-spray и работающем в режиме положительной ионизации при напряжении на капилляре 2,8 кВ и напряжении на конусе 17 В со смещением до 23 В. Скорость потока десольватационного газа составляла 600 Л/ч при температуре 375°C, а поток газа на конусе составлял 50 Л/ч при температуре 150°C. Сканирование ионов-предшественников проводили в диапазоне 50–700 m/z в течение 140 мс одного полного рабочего цикла. Ионы-фрагменты были получены после декомпозиции в ячейке соударения в режиме CID при линейном изменении энергии столкновений в пределах 20–47 эВ с использованием аргона в качестве несущего газа. Точность измерений регулировалась активной онлайн-калибровкой по фиксирующей массе при $m/z=556,27$ (лейцин-энкефалин в концентрации 50 пг/мкл) и при $m/z=309,11$ (варфарин в концентрации 250 пг/мкл), которые вводили при скорости потока 5 мкл/мин и сканировали каждые 30 сек с допуском изоляции 1,5 мДа.

Образцы разделяли с использованием системы ВЭЖХ Acquity H-класса (Waters, Элстри, Великобритания) и загружали в объеме 5 мкл на колонку Acquity™ VEN C18 (2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм; Waters, Элстри, Великобритания) с предустановленным встроенным фильтром 0,2 мкм при скорости потока 0,3 мл/мин. Колонку нагревали до 50°C. Образцы разделяли в градиенте подвижной фазы А (вода) и подвижной фазы В (ацетонитрил), к обеим подавали 0,1% муравьиной кислоты по следующей схеме градиента: 0–2,5 мин 3% В, затем повышение В до 17% на 4 мин, до повышения В до 60% на 5,7 мин и быстрого увеличения В до 97% на 6 мин. Промывку В выдерживали в изократическом режиме до 7,5 мин при скорости потока 0,45 мл/мин, затем плавно снижали до исходного состояния на 8,2 мин и уравнивали в течение следующих 1,3 мин при скорости 0,3 мл/мин.

2.2.4 Протеомный анализ

2.2.4.1 Подготовка пробы

Отбирали по 5 мкл каждой исследуемой пробы и доводили объём до 10 мкл путём добавления 5 мкл воды (milli-Q, 18,2 mΩ). Перемешивали полученный объём (10 мкл) пипетированием, затем центрифугировали при 3,500 g в течение 20 минут при температуре 4°C. Верхний слой (молочная сыворотка), полученный в результате центрифугирования, отбирали и переносили в чистую пробирку. Добавляли 500 мкл смеси этилацетата с н-пентаном (9:1, об./об.) и интенсивно перемешивали в течение 15 минут при температуре 25°C. Затем добавляли 5,5 мкл 0.5M сульфата натрия для высаливания; перемешивали и инкубировали реакционную смесь при температуре 25°C в течение 10 минут. Для разделения фаз и высолённых белков проводили центрифугирование при 7,500 g при температуре 10°C в течение 15 минут.

После центрифугирования отбирали органический (верхний) слой, содержащий липидную фракцию. Далее пробу замораживали при температуре -21°C и отбирали остаточное количество липидной органической фракции на поверхности пробы. Водный раствор (сывороточные белки) использовали для дальнейшей работы: добавляли восстанавливающего агента (TCEP) до 5 mM в конечной концентрации и инкубировали реакцию восстановления сульфогидрильных групп аминокислотных остатков цистеина при температуре 60°C в течение 15 минут. Затем добавляли алкилирующий агент (4-винилпиридин в 30% изопропанол) до 0,2% в конечной концентрации и инкубировали реакционную смесь при температуре 30°C в течение 15 минут в недоступном для дневного света месте.

По истечении времени реакции алкилирования, к пробе добавляли 50 мкл раствора 75mM триэтиламмония гидрокарбоната (TEABC) с pH=8,5. Далее, добавляли к пробе 5 мкл трипсина (концентрация фермента 200 нг/мкл, активность >16000 Ед/мг) в 30 mM уксусной кислоте, предварительно преактивированного в

течение 3-х минут путём прогрева в ингибирующем растворе при температуре 38°C.

Реакцию ферментативного расщепления инкубировали при температуре 38°C в течение 3-х часов, затем добавляли новую аликвоту в 5 мкл смеси ферментов трипсина с лизил-карбоксисэндопротеиназой (парциальная концентрация каждого фермента 200 нг/мкл), предварительно преактивированных прогреванием при 38°C в течение 3-х минут. Реакцию инкубировали при температуре 38°C в течение 3-х часов. По окончании реакции ферментативного расщепления, добавляли 10 мкл 10% муравьиной кислоты; пробу центрифугировали при 10,000 g при температуре 20°C в течение 10 минут. Надосадочную жидкость высушивали при температуре 45°C под вакуумом в режиме V-AL в течение 60-80 минут. Сухой остаток восстанавливали в 20 мкл водного раствора 0,5% муравьиной кислоты и использовали для хромато-масс-спектрометрического анализа.

2.2.4.2 Хроматография и масс-спектрометрия

Хроматографическое разделение пептидов проводили на системе Ultimate 3000 Plus (Thermo Scientific, USA), оснащённой системой обогащающей и аналитической колонок. Пробу пептидов в объёме 5 мкл наносили на обогащающую колонку (Acclaim Permap C18, 0,3 x 5 мм, 5 мкм размер частиц) при скорости потока 15 мкл/мин в течение 4-х минут в изократическом потоке подвижной фазы 3,5% ацетонитрила с 0,08% муравьиной кислоты и 0,03% уксусной кислоты (pH ~ 2.6).

Разделение пептидов проводили на аналитической колонке Acclaim Permap™ C18 (75 мкм x 150 мм, 2,8 мкм размер частиц, 60А размер пор) при скорости потока 0,3 мкл/мин в градиенте подвижных фаз А (водный раствор 0,08% муравьиной кислоты и 0,03% уксусной кислоты) и подвижной фазы В (ацетонитрил с 0,08% муравьиной кислоты и 0,03% уксусной кислоты) в течение 68 минут. Линейная области аналитически значимого градиента от 10-ой до 50-ой минуты, после чего следует промывка систему колонок в течение 10 минут и

дальнейшее уравнивание систему в начальных условиях градиента элюции в течение 8-ми минут.

Регистрацию пептидов проводили на масс-спектрометре сверхвысокого разрешения Orbitrap Fusion (Thermo) в режиме тандемного сканирования. Источник ионизации – NSI, напряжение на эмиттере 2,3 кВ, температуре осушения 280°C, нормированная частота на электродинамической S-линзе – 60%. Диапазон сканирования во фронтальном режиме – от 450 до 1200 m/z; диапазон сканирования в тандемном режиме – от 50 m/z до верхней границы, динамически определяемой в зависимости от зарядного состояния прекурсорного иона, но не более 2000 m/z.

Активное использование селекции прекурсорных ионов по модельному изотопному распределению, характерному для пептидных ионов, исключение ионов с зарядом $z = 1+$ и $z > 5+$, динамическое исключение иона из очереди сканирования в случае трёх и более сканов в течение 15 секунд на период времени не более 90 секунд применительно ко всем зарядным состояниям регистрируемого иона. Максимальное время интеграции ионов во фронтальном режиме сканирования не более 30 мсек, в тандемном режиме не более 50 мсек. Режим фрагментации HCD, нормированный номинально на 26% с ранжированием на единственный скан $\pm 20\%$.

2.2.4.3 Анализ данных

Исходные спектральные данные были конвертированы в центроидные списки пиков, полученных из спектров MS/MS. Пептиды и соответствующие им белки были идентифицированы с использованием OMSSA версии 2.1.9. Поиск проводился с использованием версии SearchGUI версии 3.8.16.

Идентификация белка проводилась по таксономической группе *Homo sapiens* в базе данных от UniProtKB и по базе произвольных последовательностей, которая была создана путем реверсирования целевых последовательностей белков в SearchGUI (версии 3.8.16) для фильтрации случайных спектральных пиков и расчётов коэффициента FDR. Параметры идентификации были следующими: фермент расщепления – трипсин, максимальное допустимое число внутренних

участков расщепления не более двух. Точность измерения не менее ± 5 ppm на уровне MS1 и не более $\pm 0,05$ Да допуск на уровне MS2. Переменные модификации: карбамидометилирование C (+57,021464 Да), дезаминирование N (+0,984016 Да), дезаминирование Q (+0,984016 Да), окисление M (+15,994915 Да). Пептиды и белки были выведены из результатов идентификации спектра, используя версию Shaker 2.3.35.

Спектры пептидов (PSM), пептиды и белки были проверены с точностью не более 1,0% ложного положительного результата (FDR). Локализации пост-трансляционной модификации были оценены с использованием D-шкалы с пороговым значением не менее 95% достоверности. Полуколичественный анализ проводили по алгоритму NSAF с использованием коэффициента представленности нормализованного спектра, адаптированного для обнаружения пептидов и оценки их полуколичественного вклада в идентифицированных субпротеом выборки белков.

Критерии приемлемости для идентификации белка были основаны на Руководстве по интерпретации данных масс-спектрометрии Human Proteome Project 3.0, но применялись более гибко. Для регулярной идентификации белков принимали не менее двух различающихся по последовательности пептидов, один из которых должен быть уникальным (протеотипным) пептидом (кроме изоформоспецифичных пептидов). Интенсивность белка оценивали как нормализованную суммарную интенсивность пептидов, принадлежащих определенному белку, и полученную матрицу интенсивностей использовали для количественной оценки на основе расчета медиан интенсивности для каждого белка в исследуемых группах.

К исследуемым группам применяли критерий Уилкоксона ($p < 0,05$) с поправкой Бенджамини-Ходжберга для проверки множественных гипотез для выявления выбросов и достоверных различий. Мера содержания белка была представлена как среднее значение коэффициента кратности изменений (FC) по отношению к контрольной группе. Значимо меняющиеся белки использовали для

функционального анализа и анализа путей при пороговом значении $q < 0,01$ с использованием программного обеспечения Cytoscape (версия 3.8.2).

Консолидированную сеть обогащали количественными свойствами идентифицированных белков и повторно анализировали в Cytoscape с применением перколяционного фильтра $FDR < 0.01$ и коэффициентом подобия более 0,7. Анализ направленности биологических процессов выполняли с использованием REVIGO при $p < 0.001$ и методом семантического подобия Резника, который измеряет сходство между двумя терминами GO как информационное содержание их наиболее информативного общего термина.

2.2.5 Статистическая обработка полученных результатов

Для выявления достоверности различий между параметрами случайных величин использовали критерий Стьюдента. Для всех качественных признаков указаны абсолютные и относительные величины.

Анализ полученных результатов исследования проводился с помощью программ Microsoft Office Excel 2010 (надстройка AtteStat) и Statistica ver. 10 (StatSoft, США) и IBM SPSS Statistics, version 26,0 for Windows (IBM Corporation, Somers, NY, USA), Jamovi, version 1.2.27, StatTech v.1.2.0 (номер регистрации 2020615715). Для оценки качественных признаков вычислялись абсолютные величины и процентная доля в структуре всей совокупности, применялся критерий хи-квадрат Пирсона (χ^2). В случае, если при анализе четырехпольных таблиц число ожидаемого признака было менее 10, использовался критерий хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йейтса; при частотах меньше 5 был применен двусторонний точный критерий Фишера (P).

При нормальном распределении выборок, которое определялось с помощью критерия Колмогорова-Смирнова (λ) (при числе исследуемых (n) > 50) или критерия Шапиро-Уилка (w) (при $n < 50$), результаты были представлены в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (σ), а статистическая значимость рассчитывалась при помощи критериев Стьюдента (t) и Фишера (F) (для маленьких выборок). В случае отсутствия нормального распределения были использованы

медиана с указанием межквартильного интервала (Ме (L – H)) и критерий Манна-Уитни (U).

Для оценки связи конкретного фактора риска с НБ была вычислена величина отношения шансов (ОШ) с доверительным интервалом 95%.

Исследование статистически значимых различий в средних значениях трех и более групп проводилось с помощью дисперсионного метода (или ANOVA). Для построения прогностической модели вероятности развития НБ применяли корреляционный и регрессионный методы с последующим ROC-анализом. При изучении ROC-кривой оценивали площадь под кривой (AUC), чувствительность (Se), специфичность (Sp) и точность (Ac) диагностического теста. Для каждого проведенного анализа статистически значимым считали значение $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДУЕМЫХ ГРУПП

Были обследованы 155 беременных с НБ и 47 с прогрессирующей беременностью. Все беременные с НБ были разделены на группы в зависимости от срока гестации (Таблица 1).

В данной главе представлены данные клинико-статистического анализа анамнеза исследуемых когорт пациенток.

Таблица 1 – Распределение пациенток исследования по группам

| Группа | Количество |
|-----------------|------------|
| НБ 6-8 недель | 52 |
| НБ 9-10 недель | 52 |
| НБ 11-12 недель | 51 |
| НБ I триместр | 155 |
| Контроль | 47 |

Распределение видов НБ среди когорты исследуемых пациенток представлено на Рисунке 3.

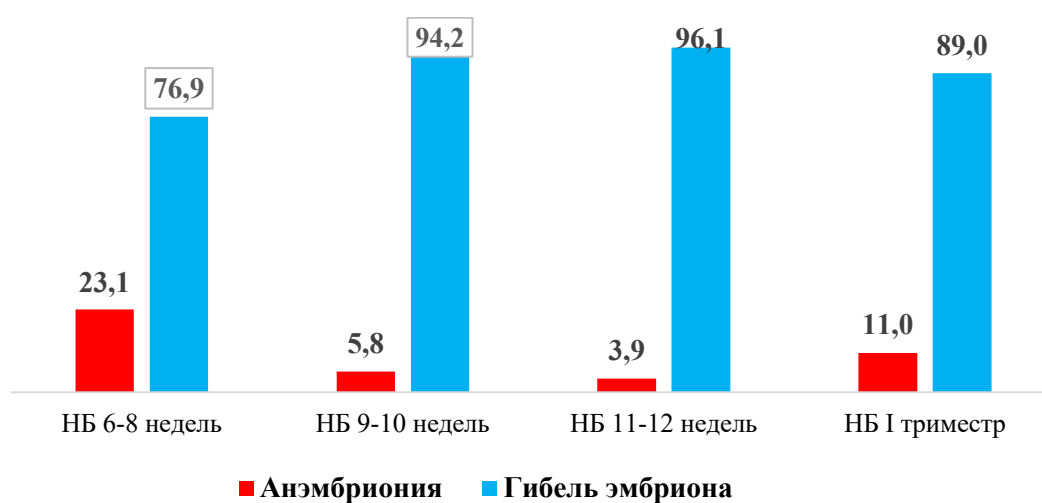


Рисунок 3 – Распределение видов неразвивающейся беременности (%)

Как видно из представленных данных, во всех исследуемых группах с НБ преобладала гибель эмбриона. Наибольшая частота встречаемости анэмбрионии выявлена на сроке 6-8 недель (23,1%). Что может быть обусловлено грубыми генетическими нарушениями, которые приводят к резорбции эмбриобласта уже на ранних сроках гестации.

Обнаружены статистически достоверно значимые различия в среднем возрасте пациенток с НБ и беременных контрольной группы (Таблица 2).

Респондентки с НБ были старше женщин с физиологически протекающей беременностью ($30,9 \pm 6,1$ года против $28,2 \pm 5,3$ года соответственно, $p=0,04$). Следует отметить, что среди пациенток с НБ в 2 раза чаще встречались женщины старше 30 лет по сравнению с участницами контрольной группы (42,6% против 21,3%, $p=0,04$).

Таблица 2 – Распределение по возрастным группам, лет

| Группа | M±SD, Q1–Q3 [25–75%] | До 20 | | 21–25 | | 26–29 | | 30 и старше | |
|--|-------------------------|-------|-----|-------|------|-------|------|-------------|-------|
| | | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 30,5±6,2 [26–35] | 3 | 5,8 | 12 | 23,1 | 16 | 30,8 | 21 | 40,4* |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 30,7±6,1 [25–35] | 3 | 5,8 | 10 | 19,2 | 15 | 28,8 | 24 | 46,2* |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 31,4±6,2 [27–36] | 2 | 3,9 | 9 | 17,6 | 19 | 37,3 | 21 | 41,2* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 30,9±6,1 [26–35] | 8 | 5,2 | 31 | 20,0 | 50 | 32,3 | 66 | 42,6* |
| Контроль (n = 47) | 28,2±5,3 [24–32] | 2 | 4,3 | 20 | 42,6 | 15 | 31,9 | 10 | 21,3 |
| p | 0,04 | | | | | | | | 0,03 |

Примечание: * – различия между контрольной группой и остальными статистически значимы ($p < 0,05$)

Оценивая возраст супругов, выяснено, что в группе беременных с НБ средний возраст партнеров составил $33,2 \pm 6,4$ года, в контрольной группе – $31,5 \pm 5,4$ (Таблица 3).

Кроме того, возраст старше 33 лет у мужей пациенток с НБ встречался в 2,5 раза чаще по сравнению с таковым в контрольной группе ($p=0,03$). Следует отметить, что во всех группах с НБ количество мужчин в возрасте старше 33 лет было достоверно выше по сравнению с контрольной.

Таблица 3 – Возраст супругов, лет

| Группа | M±SD, Q1–Q3 [25–75%] | До 20 | | 21–26 | | 27–32 | | 33 и старше | |
|--|-------------------------|-------|-----|-------|------|-------|------|-------------|-------|
| | | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 33,1±6,3 [28,25–37] | 3 | 5,9 | 10 | 19,1 | 19 | 36,5 | 20 | 38,5* |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 33,1±7,2 [27,5–37] | 4 | 7,7 | 12 | 23,1 | 18 | 34,6 | 18 | 34,6* |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 33,6±5,9 [28–38] | 3 | 5,9 | 11 | 21,6 | 16 | 31,3 | 21 | 41,2* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 33,2±6,4 [28–38] | 10 | 6,4 | 33 | 21,3 | 53 | 34,2 | 59 | 38,1* |
| Контроль (n = 47) | 31,5±5,4 [28–34] | 2 | 4,3 | 21 | 44,7 | 17 | 36,1 | 7 | 14,9 |
| p | 0,065 | | | | | | | | 0,03 |

Примечание: * – различия между контрольной группой и остальными статистически значимы ($p < 0,05$)

При оценке семейного положения установлено, что большая часть женщин как в группах с НБ, так и в контрольной была замужем. Статистически значимых различий в частоте зарегистрированных браков между группами не выявлено (Таблица 4).

Таблица 4 – Семейное положение

| Группа | Брак зарегистрирован | |
|---|----------------------|------|
| | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 30 | 57,7 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 32 | 61,5 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 42 | 82,4 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 104 | 67,1 |
| Контроль (n = 47) | 37 | 78,7 |

Среди пациенток исследуемых групп большая часть имела высшее образование. Статистически значимых различий по данному параметру выявлено не было (Таблица 5).

Таблица 5 – Образование

| Группа | Высшее образование | | Среднее специальное | | Среднее общее | | Неоконченное высшее | |
|---|--------------------|------|---------------------|------|---------------|-----|---------------------|------|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 39 | 75 | 7 | 13,5 | 4 | 7,7 | 2 | 3,8 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 39 | 75 | 8 | 15,4 | - | - | 3 | 5,8 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 35 | 68,6 | 10 | 19,6 | 5 | 9,8 | 3 | 5,9 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 113 | 72,9 | 25 | 16,1 | 9 | 5,8 | 8 | 5,2 |
| Контроль (n = 47) | 38 | 80,9 | 2 | 4,3 | - | - | 7 | 14,9 |

Оценивая социальный статус, обнаружено, что почти половина женщин с НБ были домохозяйками, в то время как среди беременных контрольной группы к данной социальной категории относилась каждая третья ($p=0,04$) (Таблица 6).

Таблица 6 – Социальный статус

| Группа | Руководители | | Служащие | | Рабочие | | Домохозяйки | | Учащиеся | |
|---|--------------|------|----------|------|---------|------|-------------|-------|----------|-----|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 4 | 7,7 | 13 | 25 | 10 | 19,2 | 21 | 40,4* | 4 | 7,7 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 3 | 5,8 | 9 | 17,3 | 11 | 21,2 | 25 | 48,1* | 4 | 7,7 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 10 | 19,6 | 6 | 11,8 | 7 | 13,7 | 24 | 47,1* | 4 | 7,8 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 17 | 11,0 | 28 | 18,1 | 28 | 18,1 | 70 | 45,2* | 12 | 7,7 |
| Контроль (n = 47) | 4 | 8,5 | 19 | 40,4 | 6 | 12,8 | 14 | 29,8* | 4 | 8,5 |
| p | | | | | | | 0,04 | | | |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$).

В группе с НБ 23,2% пациенток были гражданами сопредельных государств, в контрольной группе – в 2 раза меньше (10,6%) (Таблица 7).

Таблица 7 – Распределение пациенток по национальной принадлежности

| Группа | Россия | Грузия | Казахстан | Таджикистан | Киргизия | Украина | Молдова | Армения | Азербайджан |
|---|---------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|------------|-------------|
| | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) | абс (%) |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 42 (80,9) | - | - | 2 (3,8) | 2 (3,8) | 3 (5,8) | 2 (3,8) | 1 (1,9) | - |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 41 (78,8) | 1 (1,9) | 1 (1,9) | 1 (1,9) | 1 (1,9) | 1 (1,9) | - | 4 (7,7) | 1 (1,9) |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 36 (70,6) | - | 1 (2) | 3 (5,9) | 6 (11,8) | 1 (2) | 1 (2) | 2 (3,9) | 1 (2) |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 119 (76,8) | 1 (0,6) | 2 (1,3) | 6 (3,9) | 9 (5,8) | 6 (3,9) | 3 (1,9) | 7 (4,5) | 2 (1,3) |
| Контроль (n = 47) | 42 (89,4) | - | - | 1 (2,1) | 2 (4,3) | 2 (4,3) | - | - | - |

Оценивая весо-ростовые показатели у беременных исследуемых групп, достоверно значимых различий в ИМТ выявлено не было. Большинство пациенток имели ИМТ в пределах нормативных значений. Тем не менее, в группе беременных с НБ ожирение диагностировано у 12,9% пациенток, в контрольной группе – в 2 раза меньше. (Таблица 8).

Таблица 8 – Прегестационный ИМТ, кг/м²

| Группа | M±SD, Q1-Q3 [25-75%] | ИМТ до 29,9 | | ИМТ выше 30,0 | |
|--|----------------------------|-------------|------|---------------|------|
| | | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 24,4±4,4 [21,2-27,2] | 48 | 92,3 | 4 | 7,7 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 24,4±5,3 [20,4-27,6] | 42 | 80,8 | 10 | 19,2 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 24,4±5,9 [20,7-26,7] | 45 | 88,2 | 6 | 11,7 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 24,4± 5,2 [20,7-27,1] | 135 | 87,1 | 20 | 12,9 |
| Контроль (n = 47) | 25,3± 3,4 [22,7-27,9] | 44 | 93,6 | 3 | 6,4 |

Примечание – ИМТ – индекс массы тела

У пациенток всех групп с НБ выявлена достоверно большая частота курения, употребления кофе и алкоголя ($p < 0,05$) (Таблица 9).

Таблица 9 – Вредные привычки

| Группа | Курение | | Прием кофе (более 4 чашек в день) | | Прием алкоголя | |
|---|---------|-------|-----------------------------------|-------|----------------|-------|
| | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 30 | 57,7* | 6 | 11,5 | 13 | 25,0* |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 28 | 53,8* | 16 | 30,8* | 10 | 19,2 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 18 | 35,3* | 8 | 15,7 | 4 | 7,8 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 76 | 49,0* | 30 | 19,4* | 27 | 17,4* |
| Контроль (n = 47) | 3 | 6,4 | 3 | 6,4 | 5 | 10,6 |
| p | 0,04 | | 0,02 | | <0,001 | |

Примечание: * – различия между контрольной группой и остальными статистически значимы ($p < 0,05$)

Так, в основной группе каждая вторая беременная курила (!), что в 8 раз больше, чем в контрольной группе; в 3 раза чаще употребляли кофе, и в 1,6 раза – алкоголь. Выявлена четкая закономерность: чем больше беременная употребляет психоактивные вещества, тем на более ранних сроках развивается клиническая картина НБ.

Анамнез пациенток с НБ достоверно чаще был отягощен невынашиванием беременности у их матерей (Таблица 10). Почти у каждой третьей беременной основной группы в семейном анамнезе были указания на репродуктивные потери, что в 2,6 раза больше, чем в контрольной ($p=0,004$).

Оценка становления менструальной функции показала, что средний возраст наступления первой менструации у беременных с НБ составил $13,2 \pm 1,5$ года, у пациенток группы контроля – $12,7 \pm 1,3$ года (Таблица 11). Статистически значимых различий не определено.

Таблица 10 – Отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности

| Группа | Невынашивание беременности в анамнезе у матери | |
|---|--|-------|
| | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 14 | 26,9* |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 18 | 34,6* |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 11 | 21,6* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 43 | 27,7* |
| Контроль (n = 47) | 5 | 10,6 |
| p | 0,04 | |

Примечание: * – различия между контрольной группой и остальными статистически значимы ($p < 0,05$)

Таблица 11 – Основные показатели становления менструальной функции

| Группа | Менархе M±SD | Продолжительность менструации M±SD | Длительность МЦ M±SD | Болезненные менструации | |
|--|-----------------|--|-------------------------|----------------------------|-------|
| | | | | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 13,2±1,2 | 5,3± 1,1 | 29,8± 7,8 | 22 | 42,3* |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 13,1±1,3 | 5,2± 1,1 | 29,7± 6,7 | 27 | 51,9* |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 13,3±1,8 | 5,2± 1,1 | 30,1± 14,7 | 18 | 35,3* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 13,2±1,5 | 5,2±1,1 | 29,9±6,5 | 67 | 43,2* |
| Контроль (n = 47) | 12,7±1,3 | 4,6±1,1 | 29,1±2,8 | 8 | 17,0 |
| p | | 0,01 | | 0,006 | |

Примечание: $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

Однако выявлены статистически достоверно значимые различия в характеристики менструаций: у беременных с НБ менструальное кровотечение длилось дольше в сравнении с пациентками контрольной группы, составив $5,2±1,1$ дня и $4,6±1,1$ соответственно ($p=0,01$).

Кроме того, пациентки групп НБ в 2,5 раза чаще указывали на болезненные менструации ($p=0,006$).

Статистически значимых различий в длительности менструального цикла между группами не выявлено.

Средний возраст начала половой жизни у пациенток обеих группы статистически значимых различий не выявил, и составил в среднем 18-19 лет. (Таблица 12).

Таблица 12 – Сексуальная функция у обследованных женщин

| Группа | Коитархе M±SD | Количество половых партнёров M±SD |
|--|------------------|--------------------------------------|
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 18,6±3,1 | 2,5±1,5 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 18,7±3,6 | 2,8±1,8 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 20±3,6 | 2,1±1,4 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 19,1±3,4 | 2,4±1,6 |
| Контроль (n = 47) | 18,4±1,9 | 1,6±1,0 |
| p | 0,23 | 0,009 |

Примечание: $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

При изучении анамнестических данных о количестве половых партнеров, выявлены статистически значимые различия между группой беременных с НБ и контрольной. Женщины с НБ указывали на в 1,5 раза большее число половых партнеров ($p=0,009$).

Оценивая структуру гинекологической заболеваемости, были выявлены статистически значимые различия между группой пациенток с НБ и контрольной: доброкачественные заболевания шейки матки, ИППП и нарушения менструального цикла достоверно чаще встречались у беременных с НБ (Таблица 13).

Таблица 13 – Структура гинекологических заболеваний

| Группа | Доброкачественные заболевания шейки матки | | Миома матки малых размеров | | ИППП | | Нарушения менструального цикла | | Аномалии развития матки | |
|---|---|-------|----------------------------|-----|------|-------|--------------------------------|-------|-------------------------|-----|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 1 | 1,9 | 2 | 3,8 | 5 | 9,6* | 5 | 9,6 | - | - |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 4 | 7,7 | 4 | 7,7 | 9 | 17,3* | 8 | 15,4* | 1 | 1,9 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 6 | 11,8* | 5 | 9,8 | 9 | 17,6* | 7 | 13,7 | 0 | 0 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 11 | 7,1* | 11 | 7,1 | 23 | 14,8* | 20 | 12,9* | 1 | 0,6 |
| Контроль (n = 47) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4,2 | 1 | 2,1 | 0 | 0 |
| p | 0,04 | | | | 0,03 | | 0,02 | | | |

Примечание: * – $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

Достоверно значимых различий в частоте встречаемости миомы матки малых размеров и аномалий развития матки между группами выявлено не было.

Анализируя структуру ИППП у беременных с НБ, установлено, что с наибольшей частотой в анамнезе пациенток встречалась *Chlamydia trachomatis* и *Mycoplasma genitalium* во всех сроках беременности (Рисунок 4).

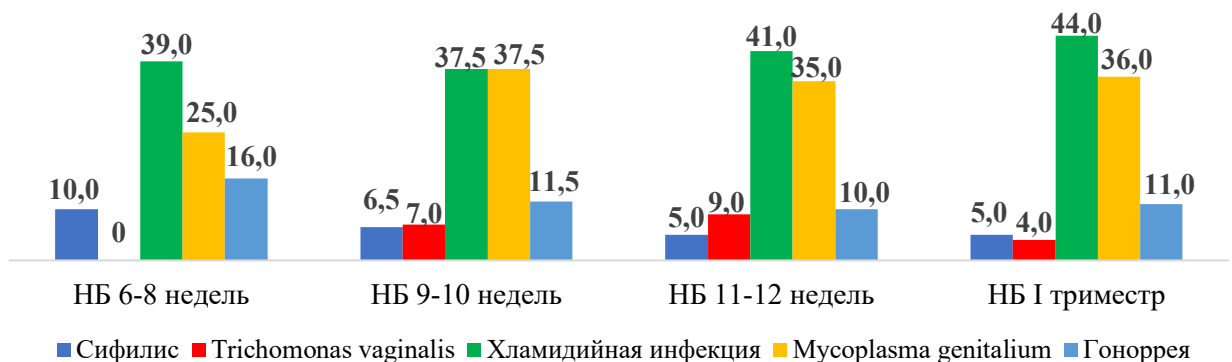


Рисунок 4 – Структура ИППП у пациенток с НБ (%)

Были выявлены статистически достоверно значимые различия в частоте внутриматочных вмешательств в анамнезе между пациентками с НБ и беременными группы контроля (Таблица 14).

Таблица 14 – Внутриматочные вмешательства в анамнезе

| Группа | Внутриматочные вмешательства | |
|---|------------------------------|-------|
| | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 10 | 19,2* |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 6 | 11,5 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 9 | 17,6* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 25 | 16,1* |
| Контроль (n = 47) | 2 | 4,3 |
| p | 0,02 | |

Примечание: * – $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

Частота лечебных и диагностических внутриматочных манипуляций у беременных с НБ была почти в 4 раза выше по сравнению с контрольной группой ($p=0,02$). Среди пациенток с НБ на сроке 6-8 недель 19,2% указывали на внутриматочные вмешательства в анамнезе, а среди беременных с НБ на сроке 11-12 недель – 17,6% женщин, что статистически достоверно выше по сравнению с контрольной группой (4,3%, $p<0,05$).

Структура внутриматочных вмешательств представлена в Таблице 15.

Таблица 15 – Структура внутриматочных вмешательств

| Группа | Выскабливание стенок полости матки | | Гистероскопия | |
|--|------------------------------------|------|---------------|-------|
| | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 10) | 7 | 70,0 | 3 | 30,0 |
| НБ 9–10 недель (n = 6) | 3 | 50,0 | 3 | 50,0 |
| НБ 11–12 недель (n = 9) | 7 | 77,8 | 2 | 22,2 |
| НБ в I триместре беременности (n = 25) | 17 | 68,0 | 8 | 32 |
| Контроль (n = 2) | - | - | 2 | 100,0 |

Следует отметить, что в контрольной группе в структуре внутриматочных вмешательств была лишь гистероскопия.

Среди пациенток с НБ 57,7% были повторнобеременными, а в группе контроля, наоборот, первая беременность зарегистрирована у 61,7% женщин

(Таблица 16). Статистически значимых различий в паритете между контрольной группой и группой с НБ выявлено не было.

Таблица 16 – Распределение обследованных женщин по паритету

| Группа | Первобеременные | | Повторно беременные | |
|---|-----------------|------|---------------------|------|
| | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 23 | 44,2 | 29 | 55,8 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 22 | 42,3 | 30 | 57,7 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 19 | 37,6 | 32 | 62,7 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 64 | 41,3 | 91 | 57,7 |
| Контроль (n = 47) | 29 | 61,7 | 18 | 38,3 |

Анализ исходов предыдущих беременностей представлен в Таблице 17.

Таблица 17 – Исходы предыдущих беременностей

| Группа | Роды | | Неразвивающиеся беременности | | Самопроизвольные выкидыши | | Искусственные аборты | |
|--|------|------|------------------------------|-------|---------------------------|------|----------------------|------|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 29) | 9 | 31,0 | 8 | 27,6 | 4 | 13,8 | 8 | 27,6 |
| НБ 9-10 недель (n = 30) | 7 | 23,3 | 9 | 30,1* | 7 | 23,3 | 7 | 23,3 |
| НБ 11-12 недель (n = 32) | 14 | 43,7 | 12 | 37,5* | 4 | 12,5 | 2 | 6,3 |
| НБ в I триместре беременности (n = 91) | 30 | 32,9 | 29 | 31,9* | 15 | 16,4 | 17 | 18,8 |
| Контроль (n = 18) | 10 | 21,3 | 2 | 4,3 | 3 | 6,4 | 3 | 6,4 |
| p | | | 0,009 | | | | | |

Структура исходов предыдущих беременностей в группе с НБ была значительно хуже: НБ в анамнезе встречалась в 7,4 раза чаще, самопроизвольные выкидыши – в 2,5 раза чаще (особенно при сроках беременности 9-10 недель),

медицинские аборт – почти в 3 раза чаще (больше частью при сроках до 10 недель).

Беременные с НБ в большей степени были отягощены экстрагенитальными заболеваниями (Таблица 18).

Таблица 18 – Структура экстрагенитальных заболеваний

| Группа | Гипотиреоз | | Анемия | | Хр. тонзиллит | | Заболевания почек | | Заболевания ЖКТ | | Заболевания ССС | |
|---|------------|-------|--------|-------|---------------|-----|-------------------|-----|-----------------|------|-----------------|-----|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 11 | 21,2 | 11 | 21,2 | 3 | 5,8 | 2 | 3,8 | 1 | 1,9 | - | - |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 7 | 13,5 | 5 | 9,6 | 2 | 3,8 | 3 | 5,8 | 5 | 9,6 | 1 | 1,9 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 12 | 23,5* | 16 | 31,3* | 1 | 2 | 5 | 9,8 | 8 | 15,7 | 2 | 3,9 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 30 | 19,3* | 32 | 20,6* | 6 | 3,9 | 10 | 6,5 | 14 | 9,0 | 3 | 1,9 |
| Контроль (n = 47) | 3 | 6,4 | 4 | 8,5 | 0 | 0 | 1 | 2,1 | 5 | 10,6 | 0 | 0 |
| p | 0,04 | | 0,04 | | | | | | | | | |

Примечание: ЖКТ – желудочно-кишечный тракт, ССС-сердечно-сосудистая система; * – $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

В их структуре преобладали: статистически значимо анемия (в 2,4 раза), гипотиреоз (в 2 раза) ($p=0,04$). Чаще встречались заболевания ССС, почек, хронический тонзиллит.

Анализ осложнений течения I триместра показал, что достоверные различия между группой с НБ и контрольной встречались по количеству пациенток с острыми вагинитами (чаще почти в 2 раза) и угрозой прерывания беременности (в 2,8 раза) ($p<0,05$) (Таблица 19).

Таблица 19 – Осложнения настоящей беременности в I триместре

| Группа | Угроза прерывания | | Рвота беременных | | Анемия | | Вагинит | |
|---|-------------------|-------|------------------|------|--------|------|---------|-------|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6-8 недель (n = 52) | 5 | 9,6 | 2 | 3,8 | 8 | 15,4 | 15 | 28,8 |
| НБ 9-10 недель (n = 52) | 11 | 21,1* | 7 | 13,4 | 8 | 15,4 | 6 | 11,5 |
| НБ 11-12 недель (n = 51) | 12 | 23,5* | 3 | 5,9 | 5 | 9,8 | 23 | 45,1* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 28 | 18,1* | 12 | 7,7 | 21 | 13,5 | 44 | 28,4* |
| Контроль (n = 47) | 3 | 6,4 | 4 | 8,5 | 7 | 14,9 | 7 | 14,9 |
| p | 0,03 | | | | | | 0,04 | |

Примечание: * – $p < 0,05$ – различия между группами статистически значимы

Наиболее часто у пациенток с НБ встречались аэробные вагиниты, причиной которых в подавляющем большинстве являлись *E.coli* и *Ent.faecalis* (56,8%) (Таблица 20).

Таблица 20 – Структура вагинитов в I триместре беременности

| Группа | <i>Candida albicans</i> | | <i>Mycoplasma genitalium</i> | | Аэробный вагинит (<i>E.coli</i> и <i>Ent.faecalis</i>) | |
|--|-------------------------|------|------------------------------|------|--|------|
| | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 15) | 3 | 20,0 | 3 | 20,0 | 9 | 60,0 |
| НБ 9–10 недель (n = 6) | 2 | 33,3 | 1 | 16,7 | 3 | 50,0 |
| НБ 11–12 недель (n = 23) | 6 | 26,1 | 4 | 17,4 | 13 | 56,5 |
| НБ в I триместре беременности (n = 44) | 11 | 25,0 | 8 | 18,2 | 25 | 56,8 |
| Контроль (n = 7) | 3 | 42,8 | 1 | 14,4 | 3 | 42,8 |

Пациентки контрольной группы достоверно чаще проходили прегравидарную подготовку по сравнению с беременными с НБ (Таблица 21).

Таблица 21 – Прегравидарная подготовка

| Группа | Факт проведения прегравидарной подготовки | |
|---|---|-------|
| | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 7 | 13,5* |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 9 | 17,3* |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 16 | 31,4* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 32 | 20,6* |
| Контроль (n = 47) | 27 | 57,4 |

Примечание – * – различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

В группе НБ лишь каждая 4-5 женщина на этапе планирования беременности проходила прегравидарную подготовку, в то время как среди женщин с физиологически протекающей беременностью – каждая вторая ($p < 0,05$).

Прегравидарная подготовка подразумевала: модификацию образа жизни (сбалансированное питание, физическую активность), прием препаратов железа, фолиевой кислоты, витамина D, санация очагов инфекции (лечение кариеса) (Таблица 22)

Таблица 22 – Прием лекарственных средств в I триместре беременности

| Группа | Аналоги прогестерона | | Спазмолитики | | Фолаты | | Антибиотики | |
|---|----------------------|------|--------------|------|--------|-------|-------------|------|
| | абс | % | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 5 | 9,6 | 11 | 21,2 | 20 | 38,5* | 3 | 5,8 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 8 | 15,4 | 9 | 17,3 | 25 | 48,1* | 9 | 17,3 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 11 | 21,6 | 14 | 27,5 | 31 | 60,8* | 4 | 7,8 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 24 | 15,5 | 34 | 21,9 | 76 | 49,0 | 16 | 10,3 |
| Контроль (n = 47) | - | - | 5 | 10,6 | 47 | 100,0 | 2 | 4,3 |
| p | | | | | <0,001 | | | |

Примечание – * – различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

Все пациентки (100,0%) контрольной группы указывали на прием фолиевой кислоты в прегравидарный период. В основной группе фолатная поддержка была проведена только у каждой второй беременной ($p < 0,001$).

Анализ методов прерывания НБ показал, что преимущественно (63,2%) применялся медикаментозный метод (Таблица 23).

Таблица 23 – Распределение по методу прерывания НБ

| Группа | Медикаментозный аборт | | Вакуумная аспирация | |
|---|-----------------------|------|---------------------|------|
| | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 34 | 65,4 | 18 | 34,6 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 34 | 65,4 | 18 | 34,6 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 30 | 58,8 | 21 | 41,2 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 98 | 63,2 | 57 | 36,8 |

На рисунке 5 представлена структура осложнений после прерывания НБ. Как видно из полученных данных, они встречались достаточно редко. Наиболее распространенным осложнением был плацентарный полип, встречающийся у 3,2% женщин с НБ.

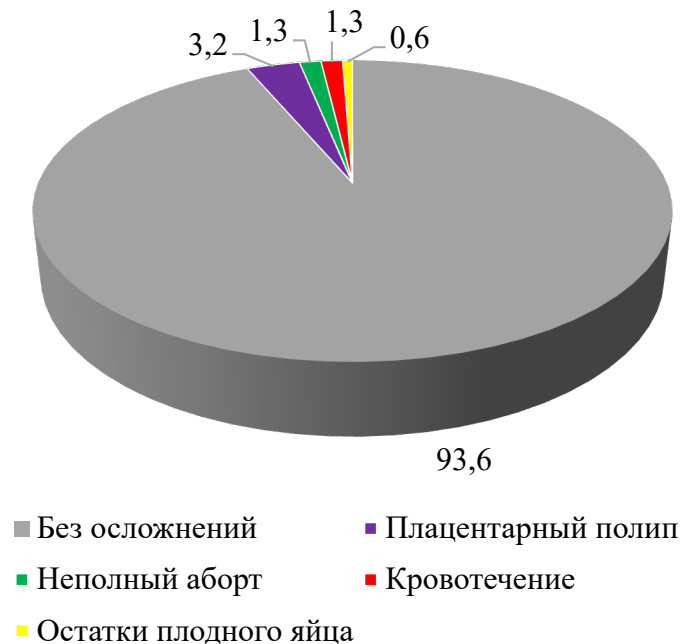


Рисунок 5 – Исходы прерывания НБ (%)

Резюме. Таким образом, клиничко-анамнестическими особенностями пациенток с НБ на сроке 6-8 недель являются:

- возраст женщины старше 30 лет (40,4%, $p < 0,05$);
- возраст супруга старше 33 лет (38,5%, $p < 0,05$);
- социальный статус домохозяйки (40,4%, $p < 0,05$);
- курение (57,7%, $p < 0,05$);
- употребление алкоголя (25,0%, $p < 0,05$);
- отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности (26,9%, $p < 0,05$);
- дисменорея в анамнезе (42,3%, $p < 0,05$);
- ИППП в анамнезе (9,6%, $p < 0,05$);
- внутриматочные вмешательства в анамнезе (19,2%, $p < 0,05$);
- отсутствие прегравидарной подготовки (86,9%, $p < 0,05$);
- недостаточная дотация фолатов в I триместре беременности (61,5%, $p < 0,05$).

Клиничко-анамнестическими особенностями пациенток с НБ на сроке 9-10 недель являются:

- возраст женщины старше 30 лет (46,2%, $p < 0,05$);
- возраст супруга старше 33 лет (34,6%, $p < 0,05$);
- социальный статус домохозяйки (48,1%, $p < 0,05$);
- употребление ≥ 4 чашек кофе в день (30,8%, $p < 0,05$);
- курение (58,8%, $p < 0,05$);
- отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности (34,6%, $p < 0,05$);
- болезненные менструации в анамнезе (51,9%, $p < 0,05$);
- ИППП в анамнезе (17,3%, $p < 0,05$);
- нарушения менструального цикла в анамнезе (15,4%, $p < 0,05$);
- неразвивающаяся беременность в анамнезе (30,1%, $p < 0,05$);
- угроза прерывания беременности в I триместре беременности (21,1%, $p < 0,05$);

- отсутствие прегравидарной подготовки (82,7%, $p < 0,05$);
- недостаточная дотация фолатов в I триместре беременности (51,9%, $p < 0,05$).

Клинико-anamнестическими особенностями пациенток с НБ на сроке 11-12 недель являются:

- возраст женщины старше 30 лет (41,2%, $p < 0,05$);
- возраст супруга старше 33 лет (41,2%, $p < 0,05$);
- социальный статус домохозяйки (47,1%, $p < 0,05$);
- курение (35,3%, $p < 0,05$);
- отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности (21,6%, $p < 0,05$);
- болезненные менструации в анамнезе (35,3%, $p < 0,05$);
- доброкачественные заболевания шейки матки в анамнезе (11,8%, $p < 0,05$);
- ИППП в анамнезе (17,6%, $p < 0,05$);
- внутриматочные вмешательства в анамнезе (17,6%, $p = 0,02$);
- неразвивающаяся беременность в анамнезе (37,5%, $p < 0,05$);
- гипотиреоз (23,5%, $p < 0,05$);
- анемия до наступления беременности (31,3%, $p < 0,05$);
- угроза прерывания беременности в I триместре беременности (23,5%, $p < 0,05$);
- вагиниты в I триместре беременности (45,1%, $p < 0,05$);
- отсутствие прегравидарной подготовки (68,6%, $p < 0,05$);
- недостаточная дотация фолатов в I триместре беременности (39,2%, $p < 0,05$).

Клинико-anamнестическими особенностями общей когорты пациенток с НБ являются:

- возраст женщины старше 30 лет (42,6%, $p = 0,03$);
- возраст супруга старше 33 лет (38,1%, $p = 0,03$);
- социальный статус домохозяйки (45,2%, $p = 0,04$);
- курение (49,0%, $p < 0,001$);

- употребление ≥ 4 чашек кофе в день (19,4%, $p=0,02$);
- употребление алкоголя (16,1%, $p=0,004$);
- отягощенный семейный анамнез по невынашиванию беременности (27,7%, $p=0,04$);
- болезненные менструации в анамнезе (43,2%, $p=0,006$);
- доброкачественные заболевания шейки матки в анамнезе (7,1%, $p=0,04$);
- ИППП в анамнезе (12,9%, $p=0,03$);
- нарушения менструального цикла в анамнезе (12,9%, $p=0,02$);
- внутриматочные вмешательства в анамнезе (16,1%, $p=0,02$);
- неразвивающаяся беременность в анамнезе (31,9%, $p=0,009$);
- гипотиреоз (19,3%, $p=0,04$);
- анемия до наступления беременности (20,6%, $p=0,04$);
- угроза прерывания беременности в I триместре беременности (18,1%, $p=0,03$);
- вагиниты в I триместре беременности (28,4%, $p=0,04$);
- отсутствие прегравидарной подготовки (79,4%, $p<0,05$);
- недостаточная дотация фолатов в I триместре беременности (51,0%, $p<0,001$).

ГЛАВА 4. ИММУНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

4.1 Протеомный анализ

Для выявления потенциальных серологических маркёров НБ, был проведен масс-спектрометрический анализ протеомного профиля у пациенток обеих групп.

Из 200 белковых молекул, включенных в исследование, выделили 10 общих для неразвивающейся и прогрессирующей беременностей серологических маркеров, дисперсия которых превышала величину стандартного отклонения. Затем проводили ранжирование выявленных белков в группе НБ по отношению к базовому уровню таковых в контрольной группе, определяли перцентиль каждого белка (Таблица 24).

Таблица 24 – Распределение серологических маркеров, обладающих потенциальной значимостью

| Название белка | Ген | Сумма по NSAF | FC (НБ/контроль) | Точка | Ранг | Перцентиль |
|--|-------|---------------|------------------|-------|------|------------|
| Angiotensinogen | ANGT | 0,058 | 0,131 | 7 | 1 | 100,0% |
| Apolipoprotein A-IV | APOA4 | 0,101 | 0,410 | 6 | 2 | 88,8% |
| Apolipoprotein C-II | APOC2 | 0,095 | 0,187 | 9 | 3 | 77,7% |
| Complement C5 | CO5 | 0,013 | 0,494 | 4 | 4 | 66,6% |
| Complement factor H | CFAH | 0,046 | 0,414 | 5 | 5 | 55,5% |
| Immunoglobulin heavy variable 3-9 | HV309 | 0,258 | 2,468 | 2 | 6 | 44,4% |
| Immunoglobulin kappa variable 3-15 | KV315 | 0,708 | 4,936 | 8 | 7 | 33,3% |
| Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 | ITIH4 | 0,070 | 0,338 | 10 | 8 | 22,2% |
| Protein AMBP | AMBP | 0,077 | 0,527 | 3 | 9 | 11,1% |
| Transthyretin | TTHY | 0,041 | 0,329 | 1 | 10 | 0,0% |

Из общей выборки белков были выделены те, чья концентрация в сыворотке крови значимо отличалась между группой с НБ и контрольной: V-домен лёгкой цепи иммуноглобулинов 3-15 (KV315), аполипопротеин C-II (APOC2), транстиретин (TTHY) и ангиотензиноген (ANGT).

Для определения связи между средними сывороточными концентрациями белков в группе с НБ и контрольной, был проведен однофакторный дисперсионный анализ (Таблица 25).

Как видно из представленных данных, коэффициент Фишера (F-критерий) был равен 0,868, что отражает наличие сильной взаимосвязи между двумя изучаемыми признаками (равновесная концентрация серологических маркеров в сыворотке у женщин с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью).

Таблица 25 – Результаты дисперсионного анализа (F-теста) для потенциально значимых серологических маркёров

| Дисперсионный анализ (НБ+контроль) | | | | | | |
|------------------------------------|--------|-------|--------|-------|-----------------|----------------|
| | df | SS | MS | F | Значимость F | |
| Регрессия | 1 | 0,002 | 0,002 | 0,030 | 0,868 | |
| Остаток | 7 | 0,380 | 0,054 | | | |
| Итого | 8 | 0,381 | | | | |
| | k | SD | t- | p | Нижние 95% | Верхние 95% |
| Y- пересечение | 0,175 | 0,133 | 1,322 | 0,228 | -0,138 | 0,489 |
| 0,441 | -0,103 | 0,596 | -0,172 | 0,868 | -1,512 | 1,307 |

Для изучения влияния концентраций выявленных серологических маркеров на частоту НБ, был проведен регрессионный анализ (Таблица 26).

Как следует из полученных результатов, коэффициент детерминации (R-квадрат) равен 0,8209 (близок к 1), что указывает на наличие сильной связи между исследуемыми признаками. Таким образом, проведенный регрессионный анализ подтвердил связь концентраций четырех выявленных нами серологических маркеров с частотой НБ.

Таблица 26 – Результаты регрессионного анализа потенциально значимых серологических маркеров

| Регрессионная статистика НБ+контроль | |
|--------------------------------------|-------|
| Множественный R | 0,906 |
| R-квадрат | 0,821 |
| Нормированный R-квадрат | 0,795 |
| Стандартная ошибка | 0,098 |

На рисунке 6 представлен основной график кривых средней концентрации серологических маркеров у пациенток основной группы (линия чёрного цвета) и контрольной группы (линия красного цвета). График отражает фактическую динамику серологических маркеров в выбранной группе с НБ и кривую прогноза динамики тех же серологических маркеров в пределах возможных наблюдений.

Полученный график позволяет выделить когорту достоверно значимых серологических маркеров, которые отличают пациенток с НБ от беременных контрольной группы.

Сплошные линии отражают фактическую динамику, пунктирные линии – прогнозируемую динамику изменений концентрации белков у пациенток с НБ (линии черного цвета) и контрольной группе (линия красного цвета).

Для маркеров АРОА4, HV309, СО5, СФНА, кривые фактического и прогнозируемого динамического распределения характеризуются схожей динамикой, значимых отличий между кривой прогноза НБ и фактической кривой наблюдений в контрольной группе не выявлено.

Исходя из данных рисунка 6, белок KV315 является наиболее достоверно значимым серологическим маркером для группы с НБ, так как у него отсутствует сходимость кривых прогноза и фактического наблюдения как для исследуемой группы с НБ, так и для контрольной.

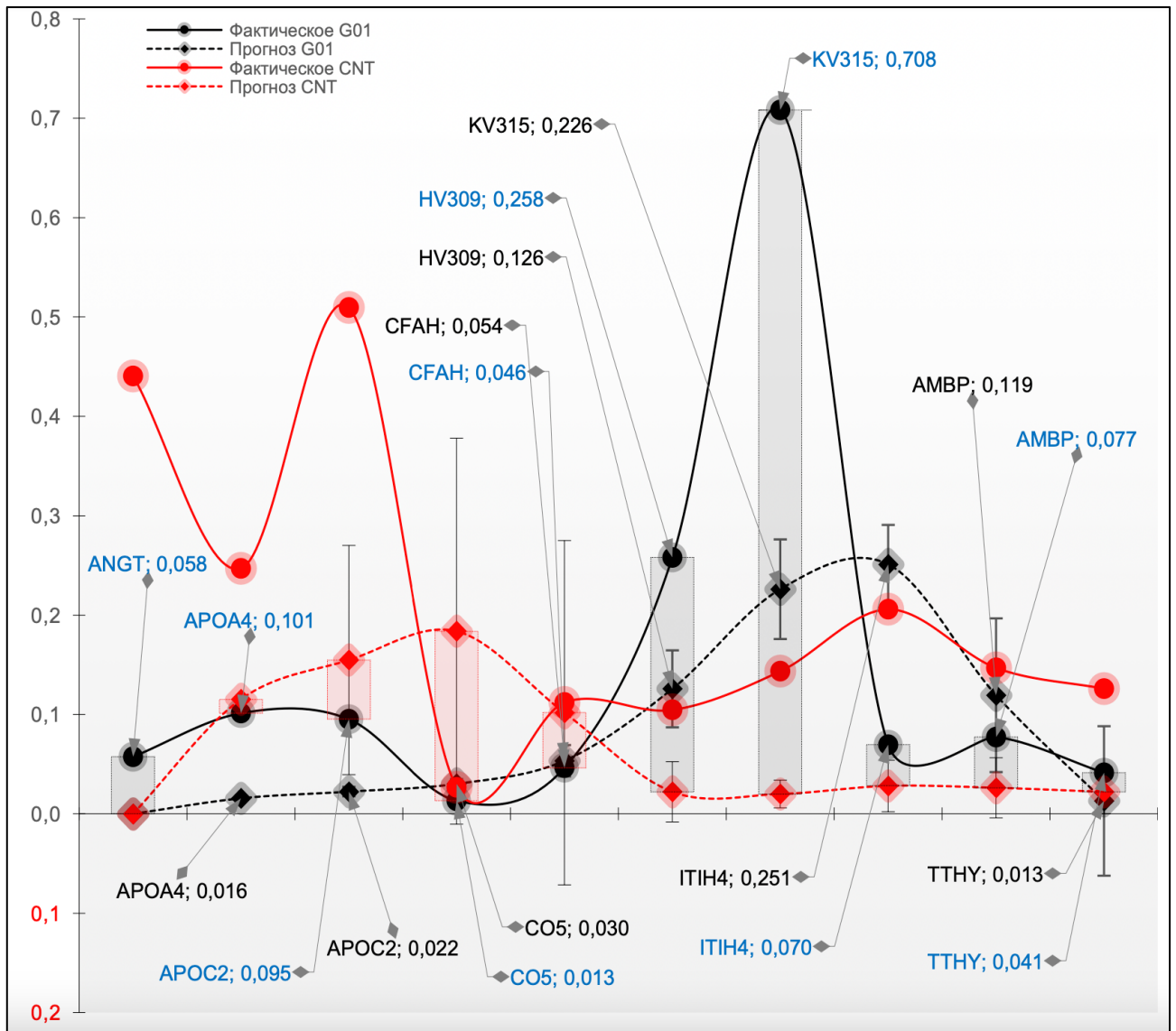


Рисунок 6 – Кривые средних концентраций серологических маркеров

Несмотря на то, что кривая прогноза в группе НБ близко расположена к группе контроля и обе группы в данной точке характеризуются близким несмещённым эксцессом ($E = -0.127$ и $E = -0.134$ для контрольной группы и группы НБ, соответственно), кривая прогноза для контрольной группы уходит далеко вниз и характеризует максимальный разрыв между фактически наблюдаемым при НБ и прогнозируемым в контрольной группе относительным содержанием данного серологического маркера, которое составляет 0,708 и 0,020 для группы НБ и для контрольной группы соответственно.

Динамические изменения отражены в безразмерных ненормированных единицах представленности; скользящая средняя построена с периодом, равным

двум $f=2$, с обозначением стандартной ошибки прогноза для контрольной и исследуемой группы пациенток с НБ.

Для серологического маркера АРОС2 характерна картина, при которой разрыв между фактическим содержанием в исследуемой группе и группе контроля достигает максимальной величины (0,095 и 0,509 для группы с НБ и для контрольной группы, соответственно).

Нужно отметить, что разрыв между прогнозируемыми значениями не столь велик, как между фактически наблюдаемыми и составляет 0,022 и 0,150 для группы с НБ и для контрольной группы соответственно. Значения прогнозируемого содержания в контрольной группе для серологического маркера АРОА2 (0,155) является очень близкими численно для значения фактического в группе с НБ (0,095).

Однако установлено, что вероятность такого события составляет не более 37,8% при заданных условиях исследования, что сохраняет высокую значимость данного маркера, как потенциально полезного для дифференциации группы с НБ от контрольной группы в перспективе.

В нашем исследовании именно АРОС2 в числе немногих серологических маркеров характеризуется наибольшим полуколичественным отличием от контрольной группы (0,095 и 0,509 в группе пациенток с НБ и в контрольной группе, соответственно). Кривая средней концентрации маркера также отражает неблагоприятный прогноз по дальнейшему снижению его уровня в сыворотке крови и течением беременности (до 0,022).

Аналогичная картина наблюдается у маркера транстиретина, концентрации которого значительно отличаются в плазме крови у женщин с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью (0,041 и 0,165 соответственно).

Белок ангиотензиноген сохраняет высокий диагностический потенциал несмотря на то, что линии прогноза в обеих группах исходят из одной точки. В данном случае это отражает, скорее, ожидаемую норму. Данный белок ассоциирован с эндокринной регуляцией, поэтому корректно спрогнозировать его поведение обычной математической моделью достаточно трудно.

Таким образом, результаты протеомного анализа выявили наиболее перспективные серологические маркеры НБ, которыми являются KV315, APOC2, TTHY и ANGT.

После обнаружения специфичных для НБ серологических маркеров мы провели детальный анализ их концентрации в сыворотке крови беременных с НБ, рассчитали диагностическую ценность каждого и их совокупности в прогнозе НБ.

4.2 Сравнительный анализ концентраций KV315, APOC2, TTHY и ANGT в сыворотке крови женщин с неразвивающейся беременностью

При изучении его средних концентраций в сыворотке крови, были выявлены статистически значимые различия между группами (Таблица 27).

Таблица 27 – Средние концентрации KV315, (NSAF)

| Группа | M | SD | 95% CI for M | | Minimum | Maximum |
|--------------------------|--------|-------|--------------|-------------|---------|---------|
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 0,563* | 0,127 | 0,528 | 0,599 | 0,247 | 0,708 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 0,491* | 0,093 | 0,465 | 0,517 | 0,258 | 0,654 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 0,465* | 0,133 | 0,428 | 0,503 | 0,247 | 0,678 |
| Контроль (n = 47) | 0,114 | 0,052 | 0,099 | 0,129 | 0,012 | 0,192 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

Содержание данного биомаркера в сыворотке женщин с прогрессирующей беременностью оказалось достоверно ниже по сравнению с группами НБ ($p < 0,05$). Следует отметить, что самая высокая концентрация KV315 зарегистрирована у женщин с неразвивающейся беременностью на сроке 6–8 недель – NSAF ($0,563 \pm 0,127$).

Для подтверждения информативности KV315 в прогнозе неразвивающейся беременности нами был проведен дисперсионный анализ (ANOVA), в котором определяли значения общей, факторной дисперсии и F-статистики для данного белка (Таблица 28).

Таблица 28 – Дисперсионный анализ частоты встречаемости маркера KV315 у женщин с НБ

| Источник вариации (y) | Сумма квадратов отклонений (SS) | Число степеней свободы (df) | Дисперсия (MS) | F наблюдаемое | Значимость F |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Общий | 8,112 | 201 | - | - | |
| Факторный | 5,828 | 3 | 1,943 | 168,420 | 0,0001 |

Согласно полученным данным, уровень значимости (F) составил 0,0001, что подтверждает прямую связь высокой концентрации белка KV315 в сыворотке крови с НБ.

На рисунке 7 представлена кривая концентраций KV315 у пациенток исследуемых групп.

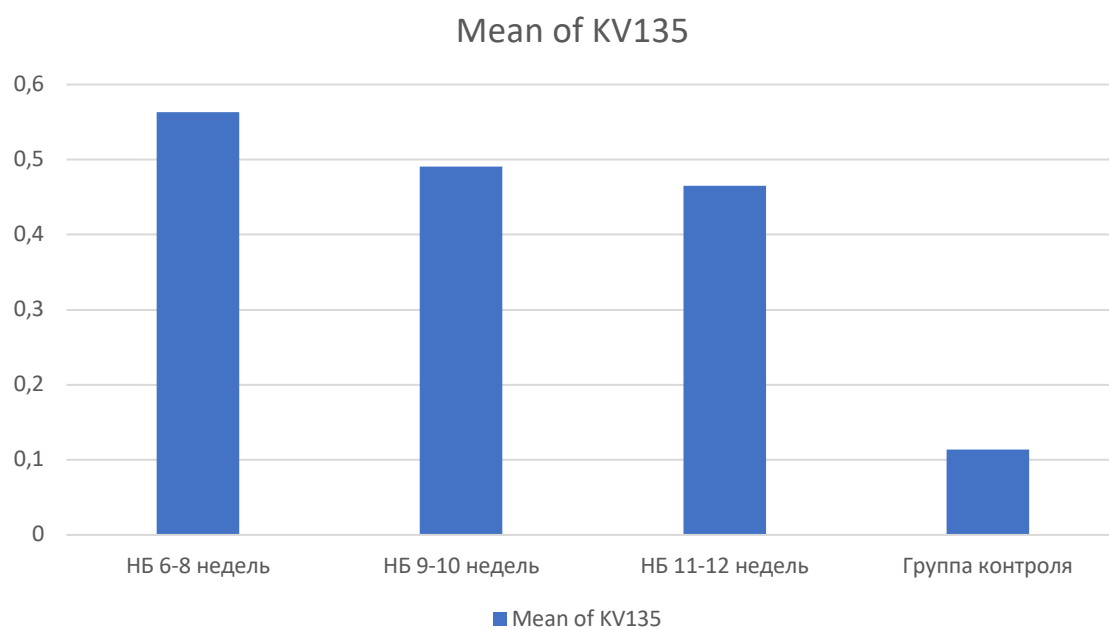


Рисунок 7 – Концентрация KV315 в сыворотке крови

Как видно из представленных данных, у женщин с прогрессирующей беременностью средняя концентрация KV315 в сыворотке крови оказалась самой низкой, составив $0,114 \pm 0,052$ ($p=0,0001$).

При изучении равновесных концентраций АРОС2 в исследуемых группах обнаружено, что во всех группах беременных с НБ уровень данного маркера был достоверно ниже в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$) (Таблица 29). Следует отметить, что самая низкая концентрация аполипопротеина С-II наблюдалась у пациенток с НБ на сроке 6–8 недель $0,054 \pm 0,022$ ($p = 0,0001$).

Таблица 29 – Средние концентрации АРОС2, (NSAF)

| Группа | M | SD | 95% CI for M | | Minimum | Maximum |
|--------------------------|--------|-------|--------------|-------------|---------|---------|
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 0,054* | 0,022 | 0,048 | 0,061 | 0,008 | 0,092 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 0,060* | 0,023 | 0,053 | 0,066 | 0,008 | 0,092 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 0,062* | 0,019 | 0,057 | 0,068 | 0,026 | 0,092 |
| Контроль (n = 47) | 0,239 | 0,116 | 0,205 | 0,273 | 0,011 | 0,458 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

Для подтверждения информативности АРОС2 в прогнозе неразвивающейся беременности нами был проведен дисперсионный анализ (ANOVA), в котором определяли значения общей, факторной дисперсии и F- статистики для данного биомаркера (Таблица 30).

Таблица 30 – Дисперсионный анализ по АРОС2

| Источник вариации (y) | Сумма квадратов отклонений (SS) | Число степеней свободы (df) | Дисперсия (MS) | F наблюдаемое | Значимость F |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Общий | 1,871 | 201 | - | - | |
| Факторный | 1,176 | 3 | 0,392 | 111,514 | 0,0001 |

Дисперсионный анализ по показателям активности АРОС2 с предварительной оценкой общей, факторной дисперсии и F-статистики также показал высокий уровень ($p = 0,0001$) прогностической значимости низких концентраций данного маркера в прогнозе НБ.

На рисунке 6 представлена кривая концентраций АРОС2 у пациенток исследуемых групп. У женщин с прогрессирующей беременностью средняя концентрация АРОС2 в сыворотке крови оказалась самой высокой, составив $0,239 \pm 0,116$ ($p=0,0001$) (Рисунок 8).

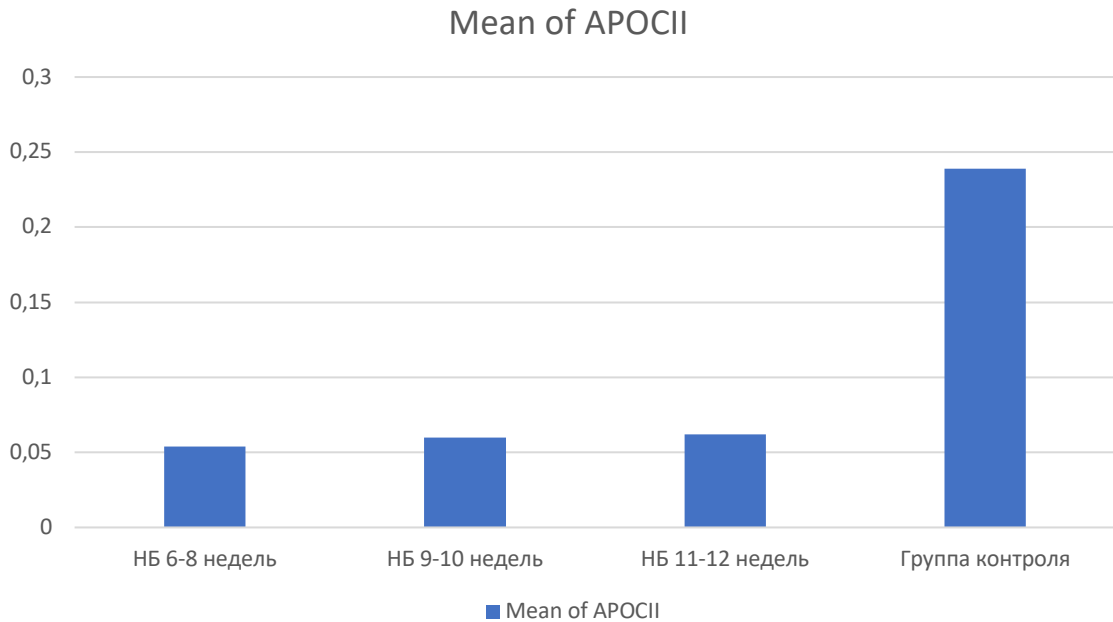


Рисунок 8 – Уровни средних концентраций АРОС2 у пациенток исследуемых групп

При анализе концентраций ТТНУ установлено, что средний уровень сывороточного ТТНУ достоверно различался с таковым у контрольной группы ($p<0,05$) (Таблица 31).

Наиболее низкая концентрация маркера ТТНУ зарегистрирована при НБ в сроке 11-12 недель ($0,045 \pm 0,031$). В группе пациенток с прогрессирующей беременностью средняя концентрация ТТНУ в сыворотке крови составила $0,142 \pm 0,046$ ($p=0,0001$).

Для подтверждения прогностической ценности ТТНУ в генезе неразвивающейся беременности проводился дисперсионный анализ (ANOVA), где определялись значения общей, факторной дисперсии и F- статистики для данного биомаркера (Таблица 32). Согласно полученным данным, уровень значимости (F)

составил 0,0001, что подтверждает связь низких концентраций ТТНУ с прогнозом НБ.

Таблица 31 – Средние концентрации ТТНУ, (NSAF)

| Группа | M | SD | 95% CI for M | | Minimum | Maximum |
|--------------------------|-------|-------|--------------|-------------|---------|---------|
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 0,074 | 0,087 | 0,049 | 0,098 | 0,022 | 0,430 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 0,055 | 0,053 | 0,040 | 0,069 | 0,026 | 0,320 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 0,045 | 0,031 | 0,036 | 0,054 | 0,025 | 0,230 |
| Контроль (n = 47) | 0,142 | 0,046 | 0,129 | 0,156 | 0,034 | 0,320 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

Таблица 32 – Дисперсионный анализ по ТТНУ

| Источник вариации (y) | Сумма квадратов отклонений (SS) | Число степеней свободы (df) | Дисперсия (MS) | F наблюдаемое | Значимость F |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Общий | 1,167 | 201 | - | - | |
| Факторный | 0,407 | 3 | 0,136 | 35,349 | 0,0001 |

На рисунке 9 представлена кривая концентраций ТТНУ у пациенток исследуемых групп (Рисунок 9). У женщин с прогрессирующей беременностью средняя концентрация ТТНУ в сыворотке крови оказалась самой высокой в сравнении с пациентками групп НБ ($p=0,0001$).

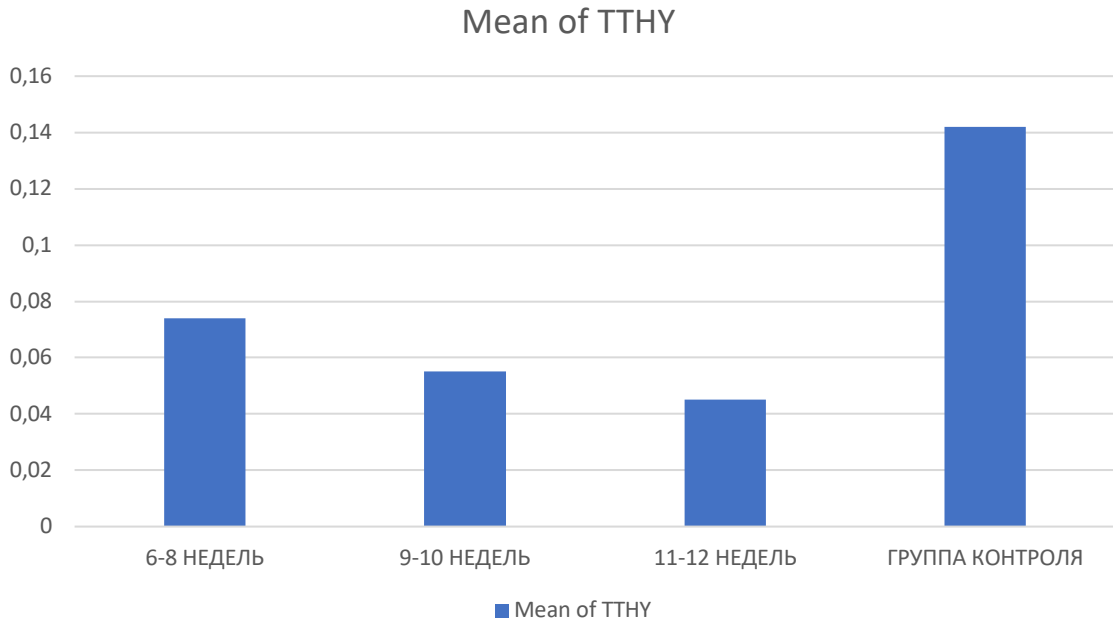


Рисунок 9 – Средняя концентрация маркера ТТНУ в сыворотке пациенток исследуемых групп

Таблица 33 – Средние концентрации ANGT, (NSAF)

| Группа | M | SD | 95% CI for M | | Minimum | Maximum |
|--------------------------|--------|-------|--------------|-------------|---------|---------|
| | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 0,068* | 0,066 | 0,051 | 0,087 | 0,032 | 0,32 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 0,056* | 0,045 | 0,044 | 0,069 | 0,036 | 0,32 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 0,052* | 0,035 | 0,042 | 0,062 | 0,032 | 0,23 |
| Контроль (n = 47) | 0,401 | 0,095 | 0,372 | 0,428 | 0,05 | 0,48 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

При анализе средних сывороточных концентраций ангиотензиногена выявлены достоверно значимые различия в его уровнях у контрольной группы и беременных с НБ ($p < 0,05$) (Таблица 33). Как видно из представленных данных, концентрация ANGT во всех группах с НБ была достоверно ниже, чем в контрольной ($p < 0,05$).

Для изучения прогностической ценности низких сывороточных концентраций ANGT при неразвивающейся беременности нами проводился дисперсионный анализ (ANOVA), где определялись значения общей, факторной, остаточной дисперсии и F- статистики для данного биомаркера (Таблица 34).

Таблица 34 – Дисперсионный анализ по ANGT

| Источник вариации (y) | Сумма квадратов отклонений (SS) | Число степеней свободы (df) | Дисперсия (MS) | F наблюдаемое | Значимость F |
|-----------------------|---------------------------------|-----------------------------|----------------|---------------|--------------|
| Общий | 5,894 | 201 | - | - | |
| Факторный | 5,693 | 3 | 1,898 | 1868,9 | 0,0001 |

Уровень значимости влияния низких концентраций сывороточного ANGT на возникновение НБ составил 0,0001, что подтверждает диагностическую значимость данного маркера для неразвивающейся беременности.

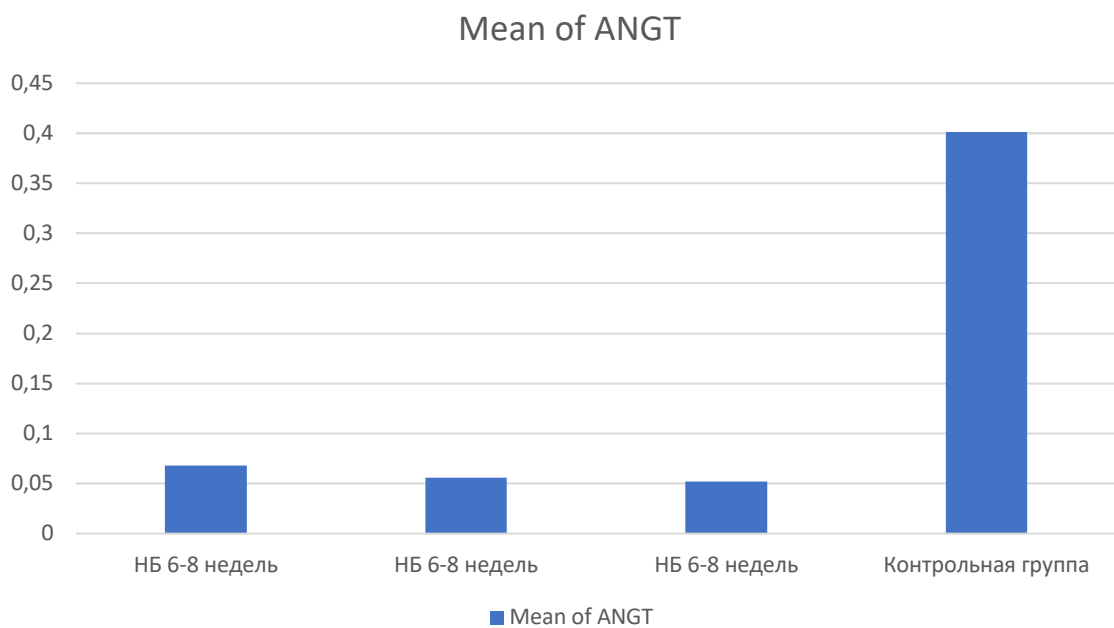


Рисунок 10 – Средняя сывороточная концентрация ANGT

На рисунке 10 наглядно представлены средние концентрации ANGT в сыворотке крови пациенток исследуемых групп. Как видно из представленных данных, среди исследуемых групп, относительно низкие уровни ANGT наблюдались у пациенток с НБ на сроке беременности 9-12 недель (в среднем $0,054 \pm 0,04$), в то время как у беременных прогрессирующей беременностью концентрация данного маркера составляла $0,401 \pm 0,095$ ($p=0,0001$).

4.3 Особенности липидного профиля женщин с неразвивающейся беременностью

Анализ липидного профиля выявил достоверно значимые различия между исследуемыми группами (Таблица 35). Среди пациенток с НБ в I триместре преобладали женщины с нарушенным липидным профилем, характеризующимся как изолированной гиперхолестеринемией, так и сочетанной с гипертриглицеридемией ($p < 0,05$). Выявлена обратная зависимость между частотой нарушения липидного профиля и сроком беременности в основной группе: максимальная частота нарушения липидного профиля обнаружено при сроке беременности 6-8 недель – у трех беременных из четырех.

Таблица 35 – Распределение пациенток по липидному профилю

| Группа | Липидный профиль | | |
|---|------------------|---|--|
| | | Нарушенный <i>ОХ (>5,0 ммоль/л), ТГ (>1,7 ммоль/л), ЛПНП (>3,0 ммоль/л), ЛПВП (<1,3 ммоль/л)</i> | Нормальный <i>ОХ (3,2-5,0 ммоль/л), ТГ (0,45-1,7 ммоль/л), ЛПНП (2,6-3,0 ммоль/л), ЛПВП (>1,3 ммоль/л)</i> |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | абс. | 38 | 14 |
| | (%) | 73 | 27 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | абс. | 27 | 25 |
| | (%) | 51,9 | 48,1 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | абс. | 22 | 29 |
| | (%) | 43,2 | 56,8 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | абс. | 87 | 68 |
| | (%) | 56,1* | 43,9* |
| Контроль (n = 47) | абс. | 5 | 42 |
| | (%) | 10,7* | 89,3* |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

В таблице 36 представлены средние значения показателей липидограммы у всех исследуемых групп. Выявлены достоверно значимые различия в уровнях триглицеридов и холестерина между группой с НБ и контрольной ($p < 0,05$).

Таблица 36 – Липидограмма обследованных женщин, ммоль/л (M±SD)

| Группа | Триглицериды M±SD | Холестерин M±SD | ЛПНП M±SD | ЛПВП M±SD |
|--|----------------------|--------------------|--------------|--------------|
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 1,95± 0,3 | 6,3± 0,1 | 3,9± 1,8 | 1,2±1,1 |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 1,98± 0,1 | 6,8± 0,6 | 3,2± 1,2 | 1,1±1,6 |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 1,95±0,3 | 7,2± 1,1 | 3,1± 1,7 | 1,2±0,9 |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 1,96±0,3* | 6,7±0,9* | 3,4±1,5 | 1,16±1,2 |
| Контроль (n = 47) | 0,6± 0,4* | 4,6±1,1* | 2,1±1,1 | 1,4±1,9 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами (p <0,05)

Уровень триглицеридов плазмы пациенток с НБ был в 3 раза выше по сравнению с беременными контрольной группы, (p <0,05). У беременных с НБ средний уровень холестерина в сыворотке крови составил 6,7±0,9 ммоль/л, что достоверно выше уровня данного показателя у контрольной группы – 4,6±1,1 ммоль/л (p <0,05). Таким образом, нарушения липидного профиля чаще встречались у пациенток с неразвивающейся беременностью.

4.4 Иммунологическая реактивность пациенток с неразвивающейся беременностью

Анализ иммунологической реактивности показал, что среди беременных с НБ преобладали женщины с гипореактивностью (47,8%), на 2-м месте по частоте распространения находилась нормореактивность – 37,4%, только каждая 6-7 пациентка обладала гиперреактивностью (14,8%) (Таблица 37).

Нами были обнаружены достоверно значимые различия в частоте встречаемости гипореактивности иммунного ответа между группами НБ на 6-8 неделях и 9-10 неделях (p=0,01). Так у пациенток в НБ на 6-8 неделях в большинстве случаев (61,5%) по данным Эли-П-Теста выявлялась гипореактивность, в то время как у группы с НБ на 9-10 неделях – лишь у 38,5% пациенток.

Таблица 37 – Распределение обследованных женщин по иммунологической реактивности

| Группа | Нормо-реактивность | | Гипер-реактивность | | Гипо-реактивность | |
|---|--------------------|------|--------------------|------|-------------------|-------|
| | абс | % | абс | % | абс | % |
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 3 | 5,8* | 17 | 32,7 | 32 | 61,5* |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 29 | 55,8 | 3 | 5,8 | 20 | 38,5* |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 26 | 51,0 | 3 | 5,9 | 22 | 43,1* |
| НБ в I триместре беременности (n = 155) | 58 | 37,4 | 23 | 14,8 | 74 | 47,8 |
| Контроль (n = 47) | 19 | 40,4 | 10 | 21,3 | 18 | 38,3 |

Примечание – * различия статистически значимы между группами ($p < 0,05$)

Оценка реактивности иммунной системы показала, что достоверные различия имелись в группе женщин с НБ в строке 6-8 недель при сравнении с остальными группами НБ и группой контроля. Так, нормореактивность выявлена лишь у 5,8%, а сдвиг реактивности в сторону гипо- и гиперреактивности в совокупности – у 94,2%.

В группе беременных с НБ в сроках 9 недель и более достоверных различий с группой контроля не выявлено.

Таким образом, реактивность иммунной системы, определенная с помощью Эли-П-теста, имеет диагностическое значение в прогнозе НБ в сроки 6-8 недель; в сроках беременности 9 недель и более прогностическая ценность данного исследования теряется.

ГЛАВА 5. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ НЕРАЗВИВАЮЩЕЙСЯ БЕРЕМЕННОСТИ

По данным сравнительной оценки средних сывороточных концентраций четырех изучаемых биомаркеров, нами была выявлена значимая дискордантность между группами наблюдения (Таблица 38).

Основываясь на показателях средней концентрации KV315, APOC2, TTHY и ANGT, мы разработали прогностические модели НБ.

Таблица 38 – Средние концентрации биомаркёров НБ, $M \pm SD$ (95% CI for M)

| Группа | KV315 | APOC2 | TTHY | ANGT |
|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| НБ 6–8 недель (n = 52) | 0,563±0,127 (0,528–0,599) | 0,054±0,022 (0,048–0,061) | 0,074±0,087 (0,049–0,098) | 0,068±0,066 (0,051–0,087) |
| НБ 9–10 недель (n = 52) | 0,491±0,093 (0,465–0,517) | 0,060±0,023 (0,053–0,066) | 0,055±0,053 (0,040–0,069) | 0,056±0,045 (0,044–0,069) |
| НБ 11–12 недель (n = 51) | 0,465±0,133 (0,428–0,503) | 0,062±0,019 (0,057–0,068) | 0,045±0,031 (0,036–0,054) | 0,052±0,035 (0,042–0,062) |
| Контрольная (n = 47) | 0,114±0,052 (0,099–0,129) | 0,239±0,116 (0,205–0,273) | 0,142±0,046 (0,129–0,156) | 0,401±0,095 (0,372–0,428) |
| $p < 0,001$ | | | | |

Проведенный ROC-анализ качества прогнозирования НБ (Таблица 39), основанный на оценке площади под ROC-кривой (AUC), оптимального порога отсечения (COV), а также стандартных параметров точности бинарного классификатора, установил неинформативность изолированной оценки каждого белка.

Таблица 39 – ROC-анализ оценки прогностической ценности модели по исследуемым биомаркерам

| Показатель | AUC | Оптимальный уровень пороговой отсечки | 95%CI | m | Sp% | Se% | Ac% |
|------------|------|---------------------------------------|-------|------|------|------|------|
| KV315 | 0,95 | 12 | 90,1 | 0,02 | 93,6 | 98,7 | 88,9 |
| APOC2 | 0,97 | 87,78 | 93,7 | 0,02 | 97,9 | 98,7 | 78,3 |
| ANGT | 0,98 | 55,76 | 97,5 | 0,03 | 91,5 | 98,7 | 73,9 |
| TTHY | 0,88 | 72,96 | 81,0 | 0,03 | 93,6 | 93,5 | 62,4 |

Примечания: AUC – площадь под ROC-кривой, 95% CI – 95-й% доверительный интервал, m – стандартная ошибка, Sp% – специфичность, Se% – чувствительность, Ac% – точность

Однако при создании уравнений регрессии мы обнаружили совокупный вклад всех изучаемых биомаркеров в прогнозе НБ.

В зависимости от концентрации четырех выявленных биомаркеров (KV315, APOC2, TTHY и ANGT), с помощью метода логистической регрессии была построена прогностическая Модель 1: $P_{НБ} = \frac{1}{1+e^{-z}}$ (1)

Уравнение имело вид:

$$z = -8,725 + 18,83 \times X_{KV315} - 34,253 \times X_{APOC2} - 19,397 \times X_{TTHY} - 23,005 \times X_{ANGT};$$

где $P_{НБ}$ – вероятность неразвивающейся беременности

e – основание натурального логарифма (число Эйлера (2,718));

X_{KV315} – средняя концентрация переменного V- домена лёгкой к-цепи иммуноглобулинов в плазме крови;

X_{APOC2} – средняя концентрация аполипопротеинов С-2 в плазме крови;

X_{TTHY} – средняя концентрация транстиретина в плазме крови;

X_{ANGT} – средняя концентрация ангиотензиногена в плазме крови.

Прогностическая ценность данной модели (1) была подтверждена с помощью ROC-анализа (Таблица 40).

Таблица 40 – ROC-анализ оценки прогностической ценности прогнозирования НБ, разработанной по показателям 4 биомаркеров (KV315, АРОС2, ТТНУ и АНГТ)

| ROC-Prognosis | AUC | 95%CI | m | Sp% | Se% | Ac% |
|---------------|------|-------|------|------|-------|-------|
| НБ | 0,95 | 89,00 | 0,02 | 91,3 | 95,82 | 86,35 |

Примечания: AUC – площадь под ROC-кривой, 95%CI – 95-й% доверительный интервал, m - стандартная ошибка, Sp% – специфичность, Se% – чувствительность, Ac% – точность

С учетом площади под ROC-кривой (AUC) мы определили высокое качество общей модели развития неразвивающейся беременности (AUC=0,95).

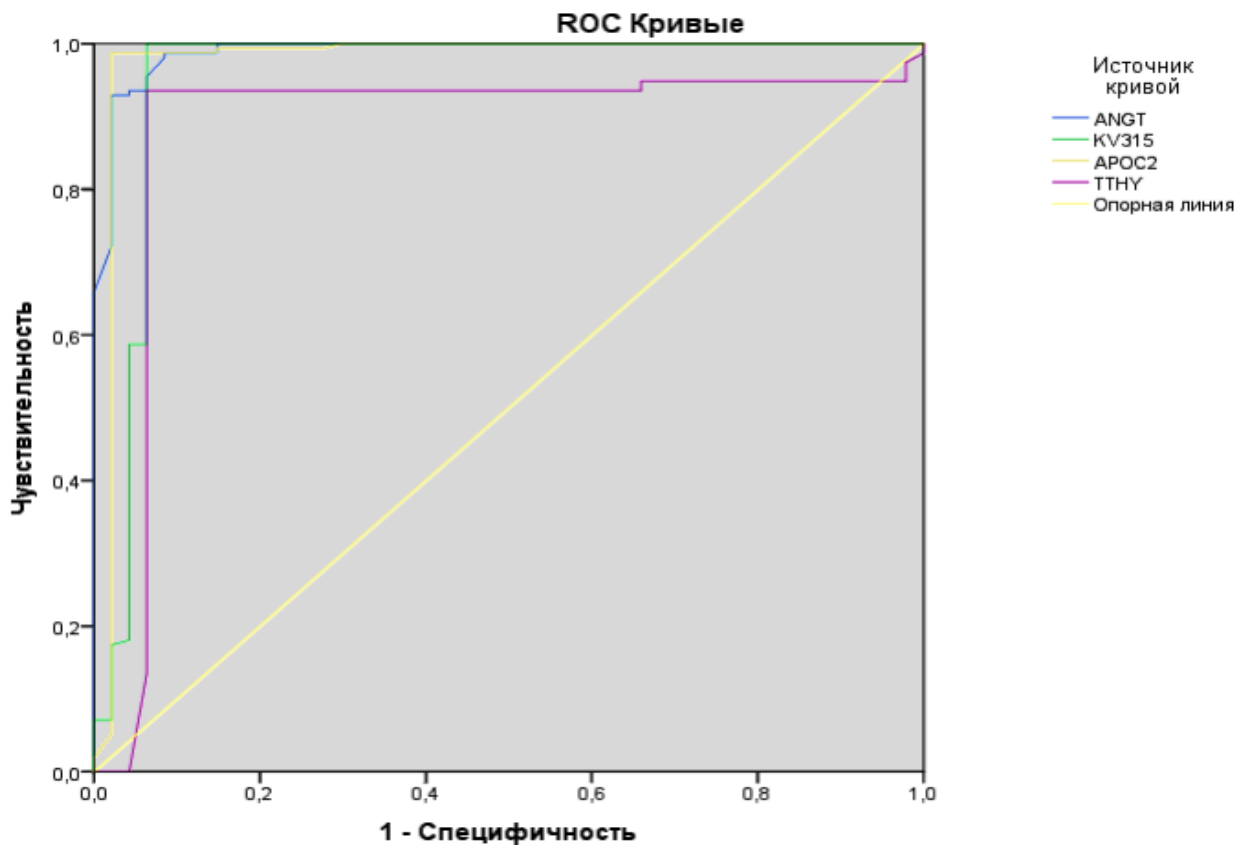


Рисунок 11 – ROC-кривая оценки прогностической ценности модели (1)

Точность данного диагностического теста была равна 86,4%. Его чувствительность и специфичность составили 95,8% и 91,3%, соответственно (Рисунок 11).

Учитывая полученные нами результаты о широком спектре прогностических маркеров НБ на сроке 6-8 недель: V-домен лёгкой к-цепи иммуноглобулинов

(KV315) $(0,563 \pm 0,127 (0,528-0,599) p < 0,001$; Аполипопротеин С-II (АРОС2) $(0,054 \pm 0,022 (0,048-0,061) p < 0,001$; смещение иммунологической реактивности сыворотки крови в сторону гипореактивности (61,5%, $p < 0,05$); дислипидемия (73,0 %, $p < 0,05$); с помощью метода логистической регрессии нами была разработана следующая Модель 2: $P_{\text{НБ (6-8 нед)}} = \frac{1}{1+e^{-z}}$ (2)

Уравнение имело вид:

$$z = 6,402 + 18,632 \times X_{\text{KV315}} - 29,034 \times X_{\text{АРОС2}} + 2,82 \times X_{\text{гипореактивность}} + 7,657 \times$$

$X_{\text{дислипидемия}}$;

где $P_{\text{НБ в 6-8 недель}}$ – вероятность прогнозирования неразвивающейся беременности

e – основание натурального логарифма (число Эйлера (2,718));

X_{KV315} – средняя концентрация переменного V- домена лёгкой к-цепи иммуноглобулинов в плазме крови;

$X_{\text{АРОС2}}$ – средняя концентрация аполипопротеинов С-2 в плазме крови;

$X_{\text{гипореактивность}}$ – иммунологическая реактивность плазмы крови;

$X_{\text{дислипидемия}}$ – наличие/отсутствие дислипидемии.

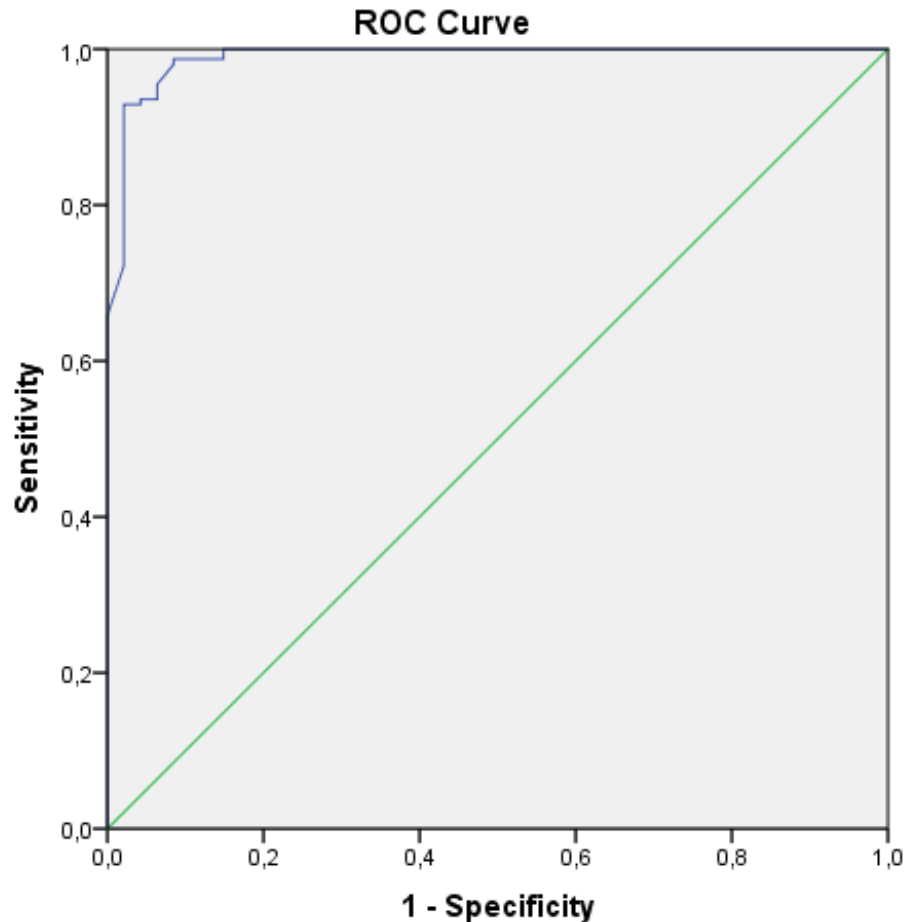
Прогностическая ценность данной модели (2) была подтверждена с помощью ROC-анализа (Таблица 41).

Таблица 41 – ROC-анализ оценки прогностической ценности модели (2)

| ROC-Prognosis | AUC | Оптимальный уровень пороговой отсечки | 95%CI | m | Sp% | Se% | Ac% |
|---------------|------|---------------------------------------|-------|-------|------|------|-------|
| НБ (6-8 нед) | 0,98 | 55,76 | 97,5 | 0,007 | 91,5 | 98,7 | 88,54 |

Примечания: AUC – площадь под ROC-кривой, 95%CI – 95-й% доверительный интервал, m – стандартная ошибка, Sp% – специфичность, Se% – чувствительность, Ac% – точность

С учетом площади под ROC-кривой (AUC) мы определили высокое качество общей модели развития неразвивающейся беременности (AUC=0,95). Точность данного диагностического теста была равна 86,4%. Его чувствительность и специфичность составили 95,8% и 91,3%, соответственно (Рисунок 12).



Diagonal segments are produced by ties.

Рисунок 12 – ROC-анализ оценки прогностической ценности модели (2)

Резюме:

– серологическими маркерами, ассоциированными с повышенным риском НБ являются: V-домен лёгкой к-цепи иммуноглобулинов 3-15 (KV315), аполиipoprotein C-II (APOC2), транстиретин (ТТНУ) и ангиотензиноген (АНГТ);

– реактивность иммунной системы, определенная с помощью Эли-П-теста, имеет диагностическое значение в прогнозе НБ в сроки 6-8 недель (61,5%, $p < 0,05$); в срок беременности 9 недель и более прогностическая ценность данного исследования теряется;

– разработанная модель прогноза НБ в I триместре, основанная на показателях 4 биомаркеров (KV315, APOC2, ТТНУ и АНГТ), обладает точностью 86,4%, чувствительностью – 95,8%, специфичностью – 91,3%;

– разработанная модель прогноза неразвивающейся беременности на сроке 6–8 недель, основанная на показателях 2 биомаркеров (KV315, АРОС2) и 2 факторов риска, выявленных в ходе исследования (гипореактивность плазмы крови и дислипидемия), обладает точностью 88,5%, чувствительностью – 98,7%, специфичностью – 91,5%.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенный нами сравнительный анализ показал, что средний возраст пациенток с НБ был достоверно выше по сравнению с беременными контрольной группы ($p < 0,05$). Так среди группы с НБ количество женщин старше 30 лет было в 2 раза выше (42,6%) по сравнению с пациентками группы контроля (21,3%, $p = 0,04$). Средний возраст беременных с НБ составил $30,9 \pm 6,1$ года, беременных контрольной группы – $28,2 \pm 5,3$ года. Результаты нашей работы совпадают с данными литературы, свидетельствующими о значимости возраста женщины как фактора риска неудач беременности [57, 94].

При оценке возраста мужей выяснено, что НБ встречалась чаще в паре, где супруг был старше 33 лет. Средний возраст мужчин в группе с НБ составил $33,2 \pm 6,4$ года, в контрольной – $31,5 \pm 5,4$ года ($p = 0,03$). Так, у 38,5% пациенток с НБ на сроке 6-8 мужья были старше 33 лет, в группе НБ на сроке 9-10 недель – 34,6%, в группе с НБ на сроке 11-12 недель – 41,2%. Аналогичные результаты были получены в работах Лычагина А.С. (2017), Norta F. et al. (2019), установивших связь позднего репродуктивного возраста мужчины с ранними потерями беременности [20, 80]. Влияние возраста мужчины на невынашивание беременности обусловлено накоплением с возрастом сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, артериальная гипертензия, простатит, ожирение), увеличивающих частоту фрагментации ДНК сперматозоидов [80].

Нами были выявлены статистически значимые различия в социальном статусе женщин с НБ и прогрессирующей беременностью. Среди пациенток с НБ в I триместре на первом месте по частоте встречаемости находились домохозяйки, составившие 45,2% от общей выборки, что в 1,5 раза выше по сравнению с распространенностью данного социального статуса в группе контроля (29,8%, $p = 0,04$). Полученные результаты соотносятся с данными исследования Annur B.M et al (2022), в котором 86,8% женщин с ранними репродуктивными потерями в анамнезе были домохозяйками [94]. Однако существует и контраверсионная

позиция. По данным Strumpf E. et al. (2021), у женщин-домохозяек, получающих пособие по безработице, частота НБ на 3% ниже по сравнению с работающими [92].

В нашем исследовании мы не выявили достоверных различий между группами по росту-весовым показателям, в частности, по ИМТ. Однако в большинстве литературных источников описывает связь ожирения с НБ. Согласно данным Лапиной И.А. и соавт. (2022) ожирение ассоциировано с повышенным риском репродуктивных потерь и невынашивания беременности, что связано с дисфункцией эндометрия, хроническим воспалительным полученным за счет активации провоспалительных цитокинов [24]. Аналогичные результаты получены Bellver J. et al. (2021), установившими связь нарушенной рецептивности эндометрия у женщин с ожирением и, как следствие, ранними репродуктивными потерями [86].

Курение является доказанным фактором риска НБ [78, 104, 119]. Мы получили аналогичные результаты. В группе НБ в I триместре курили 49,0% женщин, в то время как в контрольной группе таковых было только 6,4% ($p=0,04$). Среди пациенток с НБ на сроке 6-8 недель на факт табакокурения указывали 57,7% респонденток, в группе НБ на сроке 9-10 недель – 53,8%, в группе НБ на сроке 11-12 недель – 35,3%.

Кроме того, нами были выявлены достоверно значимые различия между группами с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью в частоте употребления кофе и алкоголя. Среди пациенток с НБ достоверно чаще встречалось употребление алкоголя (17,4%) по сравнению с пациентками с прогрессирующей беременностью. Женщины с НБ достоверно чаще указывали на употребление более 4 чашек кофе в день (19,4%) по сравнению с беременными контрольной группы (3,0%, $p=0,02$).

Данные литературы об алкоголе и употреблении кофе как факторов риска НБ противоречивы. По результатам ряда исследований, кофеин и алкоголь ассоциированы с повышенным риском НБ [46, 54, 101]. Другие же работы отрицают данную взаимосвязь [9, 79, 119].

Оценка становления репродуктивной функции показала, что средний возраст менархе у беременных с НБ и контрольной группы был сопоставим. Однако 43,2% женщин с НБ указывали на болезненные менструации, что в 2,5 раза больше по сравнению с контрольной группой, в которой лишь в 17,0% случаев встречалась дисменорея.

Достоверных различий в возрасте начала половой жизни нами выявлено не было. Средний возраст коитархе у пациенток группы НБ составил $19,1 \pm 3,4$ лет, у беременных контрольной группы – $18,4 \pm 1,9$ лет.

При изучении анамнестических данных о количестве половых партнеров, выявлены статистически значимые различия между группой беременных с НБ и контрольной. Женщины с НБ указывали на большее число половых партнеров – $2,4 \pm 1,6$ человек в сравнении с пациентками контрольной группы – $1,6 \pm 1,0$ человек ($p=0,009$).

В структуре гинекологических заболеваний у пациенток с НБ по сравнению с беременными контрольной группы преобладали ИППП в анамнезе (14,8%), нарушения менструального цикла (12,9%), доброкачественные заболевания шейки матки (7,1%). В контрольной группе данные заболевания встречались достоверно реже: ИППП – в 4,2% случаев, нарушения менструального цикла – 2,1%, доброкачественные заболевания шейки матки в данной когорте не зарегистрированы ($p<0,05$).

Полученные нами результаты сопоставимы с данными литературы. ИППП как фактор риска воспалительных заболеваний органов малого таза ассоциированы с высокой вероятностью НБ [2, 4, 6]. По данным Волкова В.Г. (2020), риск невынашивания беременности выше у женщин с хроническим сальпингоофоритом, нарушением менструальной функции и патологией шейки матки [9].

Согласно результатам исследования Радыновой С.Б. и соавт. (2020), нарушения менструального цикла являются фактором риска НБ в I триместре беременности [15]. В работе Федоровой А.И. и соавт. (2021), установлена связь доброкачественных заболеваний шейки матки, особенно хронического цервицита, с НБ [37]. Основным патогенетическим механизмом данного заболевания является

нарушение структуры цервикальной слизи, снижение местной иммунологической защиты шейки матки, способствующих восходящему инфицированию плодного яйца [37].

Нами были выявлены достоверно значимые различия в частоте внутриматочных вмешательств в анамнезе между пациентками с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью. Частота встречаемости данного признака у беременных с НБ составляла 16,1%, в контрольной группе – 4,3% ($p=0,02$). Среди пациенток с НБ на сроке 6-8 недель 19,2% указывали на внутриматочные вмешательства в анамнезе, а среди беременных с НБ на сроке 11-12 недель – 17,6% женщин, что достоверно выше по сравнению с контрольной группой (4,3%, $p<0,05$).

Следует отметить, что 68,0% женщин с НБ проводилось выскабливание стенок полости матки по поводу НБ или СВ. У 28,0% пациенток имела место гистероскопия по поводу полипа или гиперплазии эндометрия. В контрольной группе в структуре внутриматочных вмешательств была лишь гистероскопия.

Полученные нами данные схожи с результатами исследования Sevinç F. et al. (2021). Наличие в анамнезе более 3 инструментальных опорожнений полости матки по поводу СВ было основным фактором, увеличивающим риск развития НБ в 4,6 раза [70].

В нашем исследовании среди пациенток с НБ 57,7% были повторнобеременными, а в группе контроля, наоборот, первая беременность зарегистрирована у 61,7% женщин. Согласно данным литературы, у повторнобеременных женщин риск НБ выше по сравнению с первобеременными [87, 108].

Ранее перенесенные репродуктивные потери увеличивают риск СВ и НБ в последующих беременностях [45, 47, 51]. Согласно данным Волкова В.Г. (2020), НБ в анамнезе может увеличивать риск самопроизвольного прерывания беременности до 4 раз [9]. Исследование Khandra M. et al (2022) выявило следующую закономерность: каждый предыдущий выкидыш увеличивает риск ранних репродуктивных потерь в 1,9 раза [99].

В нашем исследовании были получены результаты, подтверждающие мировые данные. Невынашивание беременности в анамнезе встречалась достоверно чаще у пациенток с НБ по сравнению с группой контроля. Так, НБ встречалась в анамнезе у пациенток исследуемой группы в 7,4 раза чаще (31,9%), чем в контрольной (4,3%, $p=0,009$).

Указывали на аборт в анамнезе 18,8% пациенток с НБ, а СВ зарегистрированы у 16,4% беременных данной когорты. Следует отметить, что у женщин контрольной группы СВ и аборт встречались реже, однако статистически значимых различий по данным параметрам выявлено не было.

Если относительно спонтанных репродуктивных потерь в генезе НБ существует единая позиция, то вопрос абортов как фактора риска остановки развития эмбриона является контраверсионным. Так Jiang W-Z. et al. (2022) описывают положительную корреляционную связь между повторными абортами в анамнезе и высоким риском НБ [63].

Нами не было выявлено статистически значимых различий в частоте абортов между группами с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью. Похожие данные были получены в исследовании Hu X. et al (2018), по результатам которого установлена отрицательная корреляционная связь между абортами в анамнезе и НБ [98].

Гипотиреоз оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности, в том числе на I триместр, являясь возможным фактором риска ранних репродуктивных потерь [23,46,59]. В нашем исследовании выявлена связь гипотиреоза и НБ. Частота данного заболевания у пациенток с НБ в I триместре была достоверно выше (12,9%) по сравнению с контрольной группой (6,4%, $p=0,04$).

Помимо гипотиреоза, фактором риска НБ, по результатам нашего исследования, являлась анемия. В группе НБ каждая четвертая-пятая (20,6%) пациентка указывала на наличие сниженного уровня гемоглобина в анамнезе, в то время в контрольной группе анемией до беременности страдали лишь 8,5% женщин ($p=0,04$).

Связь анемии с ранними репродуктивными потерями выявлена в популяционном когортном исследовании Xu Q. et al. (2021). Причем, чем ниже был уровень гемоглобина, тем выше оказался риск неблагоприятных исходов беременности в I триместре [89]. Похожие данные были получены Díaz-López A. et al. (2021). Согласно результатам исследования, анемия увеличивает риск ранних репродуктивных потерь в 2,1 раза [67].

Анализ течения I триместра беременности показал, что у пациенток с НБ достоверно чаще встречалась угроза прерывания беременности (18,1%) и вагиниты (28,4%) в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$).

Рвота беременных отягощала течение беременности 7,7% пациенток с НБ и 8,5% беременных группы контроля. Анемия в I триместре встречалась у 13,5% женщин с НБ и 14,9% пациенток контрольной группы. Статистически значимых различий по данным признакам между группами не выявлено.

Клиническим проявлением угрозы прерывания беременности в I триместре является ретрохориальная гематома [7]. По данным ряда исследований, ее появление ассоциировано с более высоким риском СВ и НБ на ранних сроках гестации [5, 7, 48].

Полученные нами данные относительно вагинита как фактора риска НБ созвучны с результатами исследования Синяковой А.А. и соавт. (2019). У беременных с ранними репродуктивными потерями в I триместре беременности достоверно чаще встречаются вагиниты, преимущественно неспецифические аэробные, на втором месте по распространенности находятся кандидозные вульвовагиниты [29].

По данным нашего исследования, пациентки контрольной группы достоверно чаще проходили прегравидарную подготовку по сравнению с беременными с НБ. В группе НБ лишь каждая 4-5 женщина на этапе планирования беременности проходила прегравидарную подготовку, в то время как среди женщин с физиологически протекающей беременностью данные мероприятия были у каждой 2-й (57,4%, $p < 0,05$).

Беременные контрольной группы достоверно чаще принимали фолаты в сравнении с беременными групп НБ. Все 100% пациенток контрольной группы указывали на прием фолиевой кислоты. Прием фолатов беременными с НБ (49,0%) был начат с фактом диагностики беременности ($p < 0,001$), 51,0% пациенток с НБ фолаты в течение I триместра не получали.

Анализ липидного профиля показал, что среди беременных с НБ достоверно чаще встречалась гиперхолестеринемия и гипертриглицеридемия (56,1%) по сравнению с пациентками контрольной группы (10,7%, $p < 0,05$). У беременных с НБ средний уровень холестерина в сыворотке крови составил $6,7 \pm 0,9$ ммоль/л, что достоверно выше уровня данного показателя у контрольной группы – $4,6 \pm 1,1$ ммоль/л ($p < 0,05$).

Полученные нами результаты созвучны с Horn J. et al. (2019), обнаружившими, что частота гиперхолестеринемии у женщин с самопроизвольным выкидышем до 12 недель в 1,06 раза выше по сравнению с женщинами с прогрессирующей беременностью [68].

Проведенный нами анализ иммунологической реактивности пациенток обследуемых групп с помощью системы «Эли-П-тест» показал, что для беременных контрольной группы была характера нормореактивность (40,4%) или гипореактивность сыворотки крови (38,3%). При сравнении реактивности между группой НБ в I триместре и контрольной, достоверно значимых различий выявлено не было.

Однако были обнаружены достоверно значимые различия в частоте встречаемости гипореактивности иммунного ответа между группой НБ на 6-8 неделях и остальными ($p = 0,05$). Гипореактивность сыворотки встречалась у 61,5% пациенток с НБ в сроке 6-8 недель, в то время как среди когорты с НБ на 9-10 неделях к таковым относилось 38,5% женщин, среди когорты НБ на сроке 11-12 недель – 43,1%, среди группы НБ в I триместре – 47,8%.

Таким образом, диагностическая ценность «Эли-П-теста» оказалась ограничена сроком беременности 6-8 недель. В сроке выше 9 недель данный метод диагностики не имел прогностического значения.

В современной мировой литературе практически данные об особенностях иммунной реактивности при физиологической беременности и ее осложнениях. Отечественные исследования по данной проблематике также немногочисленны.

По данным Зокировой Н.М. и соавт. (2023), ожирение оказывает на влияние на иммунологическую реактивность организма во время беременности [13]. Согласно результатам исследования, для беременных с I и III степенью ожирения характерен сдвиг иммунореактивности организма в сторону гипо- или гиперреактивности, для беременных со II степенью ожирения – в сторону гипореактивности [13].

Прогнозирование НБ остается нерешенным вопросом современности в связи с отсутствием надежных патогенетических маркеров. В качестве способа прогнозирования НБ предлагались математические модели расчёта вероятности заболевания на основе оценки клинико-anamnestических, молекулярно-генетических параметров, состояния здоровья супруга [31]. Однако в составлении данных моделей не учитывались патогенетические механизмы НБ и возможные серологические маркеры заболевания.

В соответствии с программой исследования, нами был проведен масс-спектрометрический анализ протеомного профиля пациенток с НБ и прогрессирующей беременностью, в результате которого были выделены 4 белка, обладающие прогностической значимостью. К таковым относились: V-домен лёгкой к-цепи иммуноглобулинов 3-15 (KV315), аполипопротеин С-II (APOC2), транстиретин (ТТНУ) и ангиотензиноген (ANGT).

V-домен лёгкой к-цепи иммуноглобулинов – белок-мономер, синтезирующийся плазматическими клетками, участвующий в построении молекул иммуноглобулинов [38]. Описаны изменения концентрации данного маркера в сыворотке крови беременных в III триместре: средняя равновесная концентрация KV315 составляет (1,111), что является более низким значением по сравнению с уровнем у небеременных женщин (1,178) [105]. В послеродовом периоде концентрация белка в крови резко возрастает [105]. В литературе описана связь данного маркера с онкологическими, аутоиммунными заболеваниями,

сахарным диабетом [106]. Однако исследования, свидетельствующие о связи KV315 с НБ, не проводились.

Аполипопротеин С-II – белок, участвующий в катаболизме липопротеинов, триглицеридов [30,49]. Ангиотензиноген – глобулин, участвующий в превращении ангиотензина I в ангиотензин II [50]. Транстиретин – тетрамерный белок, обеспечивающий транспорт тироксина и ретинола [120].

Согласно данным Sharma S. et al (2020), в сыворотке крови женщин с репродуктивными потерями в анамнезе концентрация ТТНУ была выше по сравнению со здоровыми респондентками [95]. Выявлено, что на повышение уровня данного белка в крови влияли трансферрин и аполипопротеин А1 [95].

Ангиотензиноген, по данным Xiong Y-M. et al. (2021) участвует в ангиогенезе формирующегося плацентарного ложа, однако при резком изменении его концентрации нарушается кровоснабжения эндометрия, в нем развиваются очаги некроза, что препятствует нормальной инвазии трофобласта и развитию эмбриона, приводя к НБ [96].

В нашем исследовании при решении поставленных задач была проанализирована концентрация каждого маркера в сыворотке крови беременных с неразвивающейся и прогрессирующей беременностью. В результате проведенного нами анализа установлено, что сывороточная концентрация KV315 у беременных с НБ была выше по сравнению с контрольной группой, а содержание белков АРОС2, ТТНУ, ANGT было, наоборот, ниже у группы НБ по сравнению с контрольной ($p < 0,05$).

Проведенный ROC – анализ по каждому из выявленных маркеров показал их низкую прогностическую ценность при индивидуальной оценке сывороточных концентраций. Однако при создании уравнений регрессии, основанных на учете концентраций четырех биомаркеров, обнаружен их значимый вклад в прогнозирование НБ.

В зависимости от концентрации четырех выявленных биомаркёров (KV315, АРОС2, ТТНУ и ANGT), с помощью метода логистической регрессии была

получена математическая модель прогноза НБ в I триместре, обладающая точностью 86,35%, чувствительностью 95,82%, специфичностью 91,3%.

Учитывая полученные нами данные о высокой информативности дислипидемии, гипореактивности иммунной системы на сроке 6-8 недель беременности, для прогнозирования НБ на данном сроке гестации нами была построена математическая модель, учитывающая сывороточные концентрации KV315, APOC2, иммунологическую реактивность плазмы, наличие/отсутствие дислипидемии. Данная модель имеет высокую прогностическую ценность 86,35%, чувствительность 95,82% и специфичность 91,3%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая все вышесказанное, следует заключить, что в основе прогнозирования НБ находится не только анализ клинико-анамнестических факторов риска, но и серологических показателей, иммунной реактивности. Разработанная математическая модель, предусматривающая персонифицированную оценку риска НБ, расширяющая возможности современных профилактических мероприятий, является наиболее обоснованной в проблеме НБ.

Проведенное исследование позволило сформулировать следующие **выводы**:

1. Распространенность неразвивающейся беременности у женщин Московского мегаполиса составляет 27,5% (2021 г.) по отношению ко всем вставшим на учёт с явной тенденцией к возрастанию в 1,5 раза по сравнению с 2017 г – 17%.

2. Клинико-анамнестическими факторами риска неразвивающейся беременности следует считать: возраст женщины старше 30 лет (ОШ=2,74; 95% ДИ: 1,27–5,91; $p=0,03$), возраст супруга старше 33 лет (ОШ=3,51; 95% ДИ: 1,47–8,35; $p=0,03$); социальный статус домохозяйки (ОШ=1,94; 95% ДИ: 0,96–3,91; $p=0,04$), курение (ОШ=14,11; 95% ДИ: 4,2–47,3, $p=0,004$), употребление более 4 чашек кофе в день (ОШ=3,52; 95% ДИ: 1,02–12,11, $p=0,02$), употребление алкоголя (ОШ=1,77; 95% ДИ: 0,64–4,9, $p<0,001$), невынашивание беременности у матери – 27,7%, $p=0,04$), неразвивающаяся беременность в анамнезе (ОШ=5,18; 95% ДИ: 1,18–22,58; $p=0,009$); ИППП в анамнезе (ОШ=3,92; 95% ДИ: 0,88–17,3; $p=0,009$) $p=0,03$), внутриматочные вмешательства в анамнезе (ОШ=4,32; 95% ДИ: 0,9–19,1; $p=0,02$); и отсутствие прегравидарной подготовки (ОШ=5,19; 95% ДИ: 2,58–10,41; $p<0,05$).

3. Для женщин с неразвивающейся беременностью характерны: дисменорея (ОШ=3,71; 95% ДИ: 1,62–8,46; $p=0,006$), нарушения менструального цикла (ОШ=6,81; 95% ДИ: 0,9–52,2; $p=0,02$), гипотиреоз (ОШ=3,52; 95% ДИ: 1,02–12,11; $p=0,04$), анемия до наступления беременности (ОШ=3,23; 95% ДИ: 0,93–11,16; $p=0,04$), угроза прерывания беременности в I триместре (ОШ=5,19; 95% ДИ: 2,58–

10,41, $p=0,03$); вагинит в I триместре беременности (ОШ=2,26; 95% ДИ: 0,94–5,43; $p=0,04$).

4. Протеомными профилями, потенциально значимыми в прогнозировании неразвивающейся беременности, могут быть 10 белковых молекул: Angiotensinogen, Apolipoprotein A-IV, Apolipoprotein C-II, Complement C5, Complement factor H, Immunoglobulin heavy variable 3-9, Immunoglobulin heavy variable 3-15, Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 Protein AMBP, Transthyretin.

5. Предикторами неразвивающейся беременности могут выступать: увеличивающийся KV315 ($p<0,0001$) и уменьшающиеся АРОС-2 ($p<0,0001$), ТТНУ ($p<0,001$), ANGT ($p<0,0001$) по мере приближения неразвивающейся беременности, но находящиеся в пределах нормативных значений при прогрессирующей. Пороговыми уровнями указанных белков для прогнозирования неразвивающейся беременности считаются: 0,416 для KV315 ($p<0,001$), 0,102 для АРОС-2 ($p<0,001$), 0,705 для ТТНУ ($p<0,001$), 0,141 для ANGT.

6. Разработанный алгоритм, базирующийся на математической модели совокупности клинико-anamnestических, серологических, протеомных показателей и оценки иммунной реактивности, отражающийся QR-кодом для практического использования, имеет высокую прогностическую 86,35% и диагностическую 88,54% ценность для прогнозирования и ранней диагностики неразвивающейся беременности.



На основании полученных результатов сформулированы следующие **практические рекомендации:**

1. На этапе прекоцепции среди женщин репродуктивного возраста целесообразно выделять группы риска неразвивающейся беременности. Когорту высокого риска формируют лица старше 30 лет, состоящие в браке с мужчиной старше 33 лет, с отягощённым репродуктивным анамнезом (неразвивающиеся беременности), не проходившие прегравидарную подготовку.

2. Женщинам на этапе прекоцепции рекомендовать:

а) отказ от табакокурения, употребления алкоголя, ограничить количество выпиваемого кофе,

б) определение уровня липидов крови, маркеров анемии, гормонов щитовидной железы,

в) исследование биоценоза влагалища.

3. Пациенткам с отягощенным репродуктивным анамнезом на этапе прекоцепции необходимо оценивать риск неразвивающейся беременности в I триместре с использованием прогностической модели:

$$P_{\text{НБ}} = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

$$z = -8,725 + 18,83 \times X_{KV315} - 34,253 \times X_{APOC2} - 19,397 \times X_{ТТНУ} - 23,005 \times X_{АНГТ};$$

где $P_{\text{НБ}}$ – вероятность неразвивающейся беременности

Возможно оценить риск неразвивающейся беременности на сроке 6-8 недель с использованием предложенной прогностической модели:

$$P_{\text{НБ (6-8 нед)}} = \frac{1}{1 + e^{-z}}$$

$$z = 6,402 + 18,632 \times X_{KV315} - 29,034 \times X_{APOC2} + 2,82 \times X_{\text{гипореактивность}} + 7,657 \times X_{\text{дислипидемия}};$$

где $P_{\text{НБ в 6-8 недель}}$ – вероятность наступления неразвивающейся беременности на сроке 6-8 недель.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АФС – антифосфолипидный синдром
АФА – антифосфолипидные антитела
ГБУЗ – государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
ИМТ – индекс массы тела
ИППП – инфекции, передающиеся половым путем
ИФА – иммуно-ферментный анализ
КРТ – копчиково-теменной размер
ЛПВП – липопротеины высокой плотности
ЛПНП – липопротеины низкой плотности
НБ – неразвивающаяся беременность
ОБМ – общий белок миелина
РХГ – ретрохориальная гематома
СБ – сердцебиение
СВ – самопроизвольный выкидыш
СГ – субклинический гипотиреоз
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
ССС – сердечно-сосудистая система
Т4 – тироксин
ТТГ – тиреотропный гормон
УЗИ – ультразвуковое исследование
ХЭ – хронический эндометрит
АСВР-14/18 – фракции негистоновых белков хроматина ткани мозга
АРОЕ – алипопротеин Е
АРОС2 – алипопротеин С2
АНГТ – ангиотензиноген
b-ХГЧ – b-субъединица хорионического гонадотропина человека

VEGF – сосудисто-эндотелиальный фактор роста

Eli – P – test

FIGO – Fédération internationale de gynécologie et d'obstétrique

HLA – human leukocyte antigens

IL – интерлейкин

KV315 – V-домены легких цепей к-иммуноглобулинов

MTHFR – метилтетрагидрофолатредуктаза

MP-65 – фракции мембранных белков ткани головного мозга

TTHY – транстиретин

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акушерская агрессия, v. 2.0 / В.Е. Радзинский. – М.: Издательство журнала StatusPraesens, 2017. – 872с.
2. Ахмедова Н.М. Роль хронического воспаления слизистой оболочки матки при бесплодии (обзор литературы). / Ахмедова Н.М., Хасанова Ш.Б. // Re-health journal. – 2022 – №2.2 (6) – с.5-9.
3. Беременность при субмукозном расположении миоматозного узла / Синчихин С.П., Караваев В.Е., Степанян Л.В. [и др.] // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2019. – Т. 6, № 1. – С. 51-54.
4. Болатовна, М.М. Современные проблемы неразвивающейся беременности / М.М. Болатовна, Ержанұлы Р.А., Асылжанқызы Ш.А. // Вестник КазНМУ. – 2019. – № 1. – С. 26-29.
5. Бушмелева Н.Н. Этиопатогенетический аспект ранних репродуктивных потерь при совершенствовании организации медицинской помощи женщинам (аналитический обзор)./ Бушмелева Н.Н., Вахрушева Ю.Н. // Социальные аспекты здоровья населения [сетевое издание] – 2020– 66(5): – С. 6. DOI: 10.21045/2071-5021-2020-66-5-6.
6. Влияние искусственного прерывания беременности на репродуктивные возможности женщин / А.Г. Алехина, Ю.А. Петров, А.Е. Блесманович [и др.] // Здоровье и образование в XXI веке. – 2019. – № 1. – С. 15-19.
7. Влияние локализации внутриматочных гематом на течение беременности и ее исход. / Ящук А.Г., Рахматуллина И.Р., Габитова А.А. и соавт // Медицинский вестник Башкортостана. – 2019. – 14(2). – с.22-25.
8. Внутриматочные синехии: век спустя. / Попов А.А., Мананникова Т.Н., Алиева А.С. [и др.] // РМЖ. –2017. – № 12. – С. 895–899.
9. Волков В.Г. Факторы риска ранних потерь беременности / Волков В.Г., Ахильгова З.С. // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание.– 2020.– №1– с.66-72. DOI: 10.24411/2075-4094-2020-16597

10. Выявление и учет семей с невынашиванием беременности, формирование групп проспективного наблюдения. / Вартанян Э.А., Гриднев О.В., Торубаров С.Ф. [и др.] Социальные аспекты здоровья населения [сетевое издание] –2018 – DOI: 10.21045/2071-5021-2018-63-5-7.

11. Гузий Е.А. Невынашивание беременности, причинами которой явились истмико-цервикальная недостаточность и синдром Ашермана./ Гузий Е.А. // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2018. – Vol. 20. No 8 –с.21-24.

12. Диагностика и лечение субклинического гипотиреоза при планировании и во время беременности: современный подход к проблеме./ Шилова Е.С., Боровик Н.В., Попова П.В. [и др.] Проблемы эндокринологии. –2020 – №66(6) – 65-73. doi:<https://doi.org/10.14341/probl12687>.

13. Иммунобиохимические особенности гомеостаза беременных с ожирением / Зокирова Н.М., Оразмурадов А.А., Ахматова А.Н. и соавт. // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. –2023.– Т. 11. Спецвыпуск. С. 49–53. DOI: <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2023-11-suppl-49-53>

14. Иммунологические аспекты невынашивания беременности. / Хаддад Х., Оразмурадов А.А., Лопатин А.М. [и др.]// Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 8, № 3. Приложение. –С. 15-18. DOI: 10.24411/2303-9698-2020-13902

15. Исследование патогенетических аспектов неразвивающейся беременности у жительниц республики Мордовия./ Радынова С.Б., Поршина О.В., Тувина М.О. и соавт.// Медико-фармацевтический журнал «Пульс».– 2020.–22(6).– с.12-14

16. Косякова, О.В. Прогностические возможности релаксина как маркера преждевременных родов / О.В. Косякова, О.Н. Беспалова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2018. – Т. 67, No 2. – С. 16-25

17. Кохно Н.И. Прегравидарные прогностические критерии децидуита. / Кохно Н.И., Самойлова Т.Е., Докудаева Ш.А. // Гинекология. – 2019. Т. – 21, № 2. – С. 58-65.

18. Курение как фактор риска неразвивающейся беременности / А.А. Олина, Т.А. Метелева, Г.К. Садыкова [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2018. – № 5. – С. 35-39.

19. Лоскутова И.В. Липидный спектр крови у беременных с привычным невынашиванием в раннем сроке при хронических заболеваниях печени. / Лоскутова И.В., Бичевская Р.Г.// Sciences of Europe. – 2017. – № 20-1 (20). – С. 72-76.

20. Лычагин А.С. Невынашивание беременности: вклад мужского фактора и возможности его преодоления./ Лычагин А.С, Малинина О.Ю.// Проблемы репродукции.–2017.–5.– с.106-114. <https://doi.org/10.17116/repro2017235106-114>

21. Метаболические особенности пациенток с неразвивающейся беременностью./ Хаддад Х., Оразмурадов А.А., Морозов С.Г. [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2021 – Т. 9, № 3. Приложение. – С. 30-34. DOI: <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2021-9-3suppl-30-34>.

22. Неразвивающаяся беременность в анамнезе: реабилитация и подготовка к следующей гестации. Методические рекомендации Междисциплинарной ассоциации специалистов репродуктивной медицины (МАРС) / [Коллектив авторов]. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2021. — 68 с.

23. Неразвивающаяся беременность: этиопатогенез, диагностика, лечение/ Манухин И.Б., Крапошина Т.П., Манухина Е.И. [и др.] // ТМБВ. –2018. –№2-2.

24. Ожирение и беременность: возможные пути преодоления осложнений и улучшения репродуктивных исходов. /Лапина И.А., Доброхотова Ю.Э., Таранов В.В.// Гинекология. – 2022. –24(6) – с.518–524. DOI:10.26442/20795696.2022.6.202024

25. Олина А.А. Гипотиреоз и неразвивающаяся беременность/ Олина А.А. // Журнал акушерства и женских болезней. — 2018. — Т. 67. — № 3. — С. 49–54.

26. Особенности видового состава и функциональной активности тучных клеток в децидуальной ткани пациенток с неразвивающейся беременностью и синдромом поликистозных яичников. / Енькова В.В., Хоперская О.В., Енькова Е.В.

[и др.] // Научные результаты биомедицинских исследований. – 2020 – №6(1) – С.107-117. DOI: 10.18413/2658-6533-2020-6-1-0-9.

27. Ордиянц, И.М. Неразвивающаяся беременность: взгляд на проблему / Ордиянц И.М., Барабашева С.С. // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучени. – 2018. – № 3. – С. 92-96.

28. Ордиянц, И.М. Профиль органических кислот у женщин с неразвивающейся беременностью / Ордиянц И.М., Барабашева С.С., Савичева А.М. // Фундаментальная и клиническая медицина. – 2019. – № 3. – С. 22-26.

29. Оценка эффективности лечения вагинальных инфекций у пациенток с невынашиванием беременности в анамнезе. / Синякова А.А., Шипицына Е.В., Будилова О.В., и др. // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68. – № 5. – С. 63–74. <https://doi.org/10.17816/JOWD68563->

30. Петров Ю.А. Гипофункция щитовидной железы и беременность. / Петров Ю.А., Блесманович А.Е., Алехина А.Г. // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5.

31. Потапов Н.Н. Математическое моделирование потери беременности в I триместре при нормальном кариотипе эмбриона./ Потапов Н.Н., Кудрявцева Е.В., Ковалев В.В. // Акушерство, Гинекология и Репродукция. –2021. – 15(4). – с.379–389. <https://doi.org/10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2021.239>.

32. Предиктивное акушерство / В.Е. Радзинский, С.А. Князев, И.Н. Костин и др.; под ред. В.Е. Радзинского, С.А. Князева, И.Н. Костина. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2021. — 520 с.

33. Прогнозирование ранних репродуктивных потерь: версии и контраверсии. / Ордиянц И.М., Молчанова О.К., Алеев И.А. [и др.] // Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение. – 2021 – Т. 9, № 3. Приложение. – С. 56–59. DOI: <https://doi.org/10.33029/2303-9698-2021-9-3suppl-56-59>.

34. Прохоренко Н.Ф. Демографический вызов России: рациональные решения и готовность системы общественного здоровья. / Прохоренко Н.Ф., Гинойн А.Б.// ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ. —2018. — № 4. — С. 28–52. doi: 10.24411/2411-8621-2018-14002.

35. Пути преодоления привычного невынашивания. Саногенез эндометрия в профилактике рецидива выкидыша: возможности системной энзимотерапии. Информационный бюллетень / И.М. Ордянц, Е.А. Коган; под ред. В.Е. Радзинского. — М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2019 — 20 с.

36. Результативность протоколов ЭКО/ИКСИ у женщин с субклиническим гипотиреозом и носительством антител к щитовидной железе. / Сафарян Г.Х., Гзгзян А.М., Джемлиханова Л.Х. [и др.]// Журнал акушерства и женских болезней. — 2019. — Т. 68. — № 4. — С. 83–94. <https://doi.org/10.17816/JOWD68483-94>.

37. Роль хронического цервицита и нарушений местного иммунитета шейки матки в этиологии неразвивающейся беременности./ Федорова А.И., Новиков Е.И., Гринь Е.А. и соавт.// Гинекология. — 2021. —23(6). — с.509–515. DOI: 10.26442/20795696.2021.6.201259

38. Свободные легкие цепи иммуноглобулинов в диагностике и прогнозе множественной миеломы. / Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Вотякова О.М. и соавт. // Альманах клинической медицины. — 2017.— 45(2). —с.102-108.

39. Современный взгляд на проблему неразвивающейся беременности. / Андреева М.В., Шевцова Е.П., Заболотнева К.О. [и др.] // Медицинский вестник Юга России. — 2021—№12(3) — С. 6-11. DOI 10.21886/2219-8075- 2021-12-3-6-11.

40. Тетруашвили, Н.К. Привычный выкидыш / Н.К. Тетруашвили // Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. — 2017. — №4. — С. 70-87.

41. Характер распределения антигенов системы hla у супружеских пар с репродуктивными расстройствами / А.Н. Киселева, Е.В. Бутина, Н.В. Исаева [и др.] // Акушерство, гинекология и репродукция. — 2019. — № 2. — С. 112-118.

42. Цахилова С.Г. Клиническое значение определения аутоантител в прегравидарной подготовке женщин группы риска рождения ребенка с расстройством аутистического спектра. Дисс. Канд.мед.наук: 14.01.01 – ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова»,Москва,2017, 139с.

43. Шаталов, А.Е. Тромбофилия как фактор невынашивания беременности / Шаталов А.Е., Петров Ю.А. // *Здоровье и образование в XXI веке.* – 2019. – № 4. – С. 63-67.
44. Abnormal expression of microRNA-575 leads to missed abortion through regulating apoptosis and angiogenesis./ Xia S., Zhen Y., Ma H. [et al.] // *Experimental and therapeutic medicine.* – 2017–14(5)–p.3993–4000.
45. Advanced paternal age is associated with an increased risk of spontaneous miscarriage: a systematic review and meta-analysis. / Fossé N., Hoorn M-L. P., Jan M.M. [et al.]// *Human Reproduction Update* – 2020.– Vol.26, No.5, –p. 650–669. doi:10.1093/humupd/dmaa010.
46. Alcohol Use in Pregnancy and Miscarriage: A Systematic Review and Meta-Analysis. / Sundermann A.C., Zhao S., Young Ch.L. et al.// *Alcohol Clin Exp Res.* – 2019.– 43(8) –p.1606-1616. doi: 10.1111/acer.14124.
47. Amiri M. Potential Adverse Effects of Female and Male Obesity on Fertility: A Narrative Review. /Amiri M., Tehrani F. R.// *Int J Endocrinol Metab.* –2020 – 18(3):e101776. doi: 10.5812/ijem.101776.
48. A proteomic analysis of the endometrium in obese and overweight women with recurrent miscarriage: preliminary evidence for an endometrial defect./ Metwally M., Preece R., Thomas J. [et. al.] // *Reprod Biol Endocrinol.*– 2014 –5;12:75.
49. Apolipoprotein C-II: New findings related to genetics, biochemistry, and role in triglyceride metabolism./ Wolska A, Dunbar RL, Freeman LA. et al. // *Atherosclerosis.* –2017. –267– p.49-60.
50. Association of renin-angiotensinogen system genes polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. / Heidari M.M., Sheikholeslami M., Yavari M. [et. al.]// *Hum Fertil (Camb).* – 2019 – 22(3) – p. 164-170.doi: 10.1080/14647273.2017.1388545.
51. Association of testosterone and antimüllerian hormone with time to pregnancy and pregnancy loss in fecund women attempting pregnancy./ Lindsey AS, Sunni LM, Daniel LK [et al.]// *Fertil. Steril.* – 2018;109(3):540-548. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.11.014.

52. Biochemical clinical factors associated with missed abortion independent of maternal age: A retrospective study of 795 cases with missed abortion and 694 cases with normal pregnancy./ Fang J, Xie B, Chen B [et al.] // *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(50):e13573.
53. Chinnaswamy S. The Genetic Association of IFN- λ s with Human Inflammatory Disorders Remains a Conundrum. / Chinnaswamy S., Kowalski M.L.// *J Interferon Cytokine Res.*– 2019. – 39(10). – p. 594-598.doi: 10.1089/jir.2019.0009.
54. Choi H. Maternal coffee intake and the risk of bleeding in early pregnancy: a cross-sectional analysis / Choi H., Koo S., Park H-Y // *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020 Feb 21;20(1):121.doi: 10.1186/s12884-020-2798-1.
55. Coagulation Biomarkers in Women with Recurrent Miscarriage and Polycystic Ovarian Syndrome: Systematic Review and MetaAnalysis. / Cavalcante MB, Sarno M, Cavalcante CT [et al.] // *Geburtshilfe Frauenheilkd* – 2019. – 79(7).–697-704. DOI: 10.1055/a-0884-3212.
56. Comprehensive analysis of the differential expression profile of microRNAs in missed abortion. / Tian Q-X., Xia S-H., Wu Y-H. [et al.] // *The Kaohsiung Journal of Medical Sciences* – 2020. – 36(2) – p. 114 -121.
57. Definition and Multiple Factors of Recurrent Spontaneous Abortion. Xiaolin La X., Wang W., Zhang M. [et.al]. *Adv Exp Med Biol*. –2021–1300. – p.231-257.doi: 10.1007/978-981-33-4187-6_11.
58. Delayed endometrial decidualisation in polycystic ovary syndrome. the role of ARMAGEA11. / Younas K, Quintela M, Thomas S, [et al.]// *J. Mol. Med. (Berl)*.– 2019;97(9):1315-1327. DOI: 10.1007/s00109- 019-01809-6.
59. De Leo S. Autoimmune thyroid disease during pregnancy. / De Leo S., Pearce E.// *Lancet Diabetes Endocrinol*. – 2018. – 6(7) – p.575-586.
60. Does subclinical hypothyroidism and/or thyroid autoimmunity influence the IVF/ICSI outcome? Review of the literature./ Khachikovna G., Gzgzyan A., Kharryasovna L. [et. al.] // *Gynecol Endocrinol*. 2019;35(sup1):56-59. doi: 10.1080/09513590.2019.1653564.

61. Early missed abortion is associated with villous angiogenesis via the HIF-1 α /VEGF signaling pathway. / Zhi Zh., Yang W., Liu L. [et al.]. // *Maternal-Fetal Medicine*. – 2018. – 298(3) - 537–543.
62. Early pregnancy loss. ACOG Practice Bulletin No. 200. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2018;132:e197–207.
63. Effect of antithyroid antibodies on women with recurrent miscarriage: A meta-analysis./ Xie J., Jiang L., Sadhukhan A. . [et. al.] // *Am J Reprod Immunol*. –2020 –83(6):e13238. doi: 10.1111/aji.13238.
64. Endometrial causes of recurrent pregnancy losses: endometriosis, adenomyosis, and chronic endometritis. / Pirtea P., Cicinelli E., De Nola R. // *Fertility and Sterility*. American Society for Reproductive Medicine, Published by Elsevier Inc. Vol. 115, No. 3 – 2021 – 0015-0282. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2020.12.010>.
65. Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrent pregnancy loss / Arias-Sosa L.A., Acosta I.D., Lucena-Quevedo E. [et al.] // *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. – 2018. – Vol. 35, № 3. – P. 355-366.
66. Hashem A., Sarsam S.D. The Impact of Incidental Ultrasound Finding of Subchorionic and Retroplacental Hematoma in Early Pregnancy / A. Hashem, S.D. Sarsam // *Journal of Obstetrics and Gynecology of India*. – 2019. – Vol. 69, № 1. – P. 43-49.
67. High and Low Haemoglobin Levels in Early Pregnancy Are Associated to a Higher Risk of Miscarriage: A Population-Based Cohort Study./ Díaz-López A., Ribot B., Josep Basora J. et al. // *Nutrients*. – 2021. – 8;13(5):1578. doi: 10.3390/nu13051578.
68. Horn, J. Early or late pregnancy loss and development of clinical cardiovascular disease risk factors: a prospective cohort study / J. Horn, L.J. Tanz, J.J. Stuart // *BJOG*. – 2019. – Vol. 126, № 1. – P. 33-42.
69. <https://mosstat.gks.ru/>
70. Identifying the risk factors and incidence of Asherman Syndrome in women with post-abortion uterine curettage/ Sevinç F., Oskovi-Kaplan Z.A., Çelen S.// *J Obstet Gynaecol Res*. – 2021. – 47(4). –1549-1555.doi: 10.1111/jog.14667. Epub 2021 Jan 18.

71. Intra- versus retroplacental hematomas: a retrospective case-control study on pregnancy outcomes / J. Ott, P. Pecnik, R. Promberger [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2017. – Vol. 17, № 1. – P. 366.
72. Interactive Effects of Maternal Vitamin D Status and Socio-Economic Status on the Risk of Spontaneous Abortion: Evidence from Henan Province, China./ Lin Sh., Zhang Y., Jiang L. [et. al.]// *Nutrients*. –2022 –14(2):291.doi: 10.3390/nu14020291.
73. Jiang W-Z. Risk factors for missed abortion: retrospective analysis of a single institution's experience. / Jiang W-Z., Yang X-L., Luo J-R. // *Reprod Biol Endocrinol*. 2022 Aug 9;20(1):115.doi: 10.1186/s12958-022-00987-2.
74. Kebede, A.S. Factors associated with adverse pregnancy outcome in Debre Tabor town, Northwest Ethiopia: a case control study / Kebede A.S., Muche A.A., Alene A.G. // *BMC Research Notes*. – 2018. – Vol. 11, № 1. – P. 820.
75. Kling, C. Fertility after recurrent miscarriages: results of an observational cohort study/ C. Kling, J. Hedderich, D. Kabelitz // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2018. – Vol. 297, № 1. – P. 205-219.
76. Koyyada A. Role of hypothyroidism and associated pathways in pregnancy and infertility: Clinical insight. / Koyyada A., Orsu P. // *Tzu Chi Med J*. – 2020. – 32(4) – 312-317. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_255_19.
77. Langley-Evans S.C. Overweight, obesity and excessive weight gain in pregnancy as risk factors for adverse pregnancy outcomes: A narrative review/ Langley-Evans S.C., Pearce J., Ellis S. // *J Hum Nutr Diet* – 2022 –35(2):250-264/ doi: 10.1111/jhn.12999.
78. Li Y.H. Recurrent pregnancy loss: A summary of international evidence-based guidelines and practice // Li Y.H., Marren A., *Aust J Gen Pract*. 2018 Jul;47(7):432-436.doi: 10.31128/AJGP-01-18-4459.
79. Lidegaard O., Mikkelsen A.P., Egerup P., Kolte A.M., Rasmussen S.C., Nielsen H.S. Pregnancy loss: A 40-year nationwide assessment // *Acta Obstet. Gynecol. Scand*. 2020. Vol. 99, N 11. P. 1492-1496.

80. Male ageing is negatively associated with the chance of live birth in IVF/ICSI cycles for idiopathic infertility./ Horta F., Vollenhoven B., Healey M. [et al.] // *Hum Reproduction*. – 2019. –1; 34(12). – p.2523-2532/ doi:10.1093/humrep/dez223.

81. Maternal antithyroid antibodies and euploid miscarriage in women with recurrent early pregnancy loss./ Cueva Sh., Burks Ch., McQueen D. [et. al.] // *Fertility and Sterility*.– 2018 –110(3) – p.452-458.

82. Maternal ApoE genotype and risk of recurrent pregnancy loss: An updated systematic review and meta-analysis./ Cargnin S., Agnusdei Fr., Shin J. [et. al.] // *J Gene Med*. –2023 –25(3):e3467. doi: 10.1002/jgm.3467. Epub 2022 Dec 9.

83. Maternal Thrombophilia and Recurrent Miscarriage - Is There Evidence That Heparin is Indicated as Prophylaxis against Recurrence? / A.L. Stefanski, C. Specker, R. Fischer-Betz [et al.]// *Geburtshilfe und Frauenheilkd*. – 2018. – Vol. 78, № 3. – P. 274-282.

84. MiR-98 is involved in missed abortion by targeting GDF6 and FAPP2./ Zhu Q., Dong Y.C., Zhang L. [et al.] // *Reproduction*.– 2020. –159(5) – p.525-537.

85. Molecular Analysis of HLA-G in Women with High-Risk Pregnancy and Their Partners with Regard to Possible Complications / Sipak O., Rył A., Grzywacz A. [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2019. – № 16. – P. 982.

86. Obesity Affects Endometrial Receptivity by Displacing the Window of Implantation. / Bellver J., Marin C., Lathi R. et al.// *Reprod Sci*. – 2021. – 28(11) – p.3171-3180. doi: 10.1007/s43032-021-00631-1.

87. Obesity and recurrent miscarriage: A systematic review and meta-analysis / M.B. Cavalcante, M. Sarno, A.B. Peixoto et al. // *Journal of Obstetrics and Gynecology Research*. – 2019. – Vol. 45, № 1. – P. 30-38.

88. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Obesity and reproduction: a committee opinion. *Fertility and Sterility*/ 2021 Nov;116(5):1266-1285. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.08.018.

89. Preconception Hb concentration with risk of spontaneous abortion: a population-based cohort study in over 3·9 million women across rural China. / Xu Q.,

Yang Y., Liu F. et al. // *Public Health Nutr.* 2020 Nov;23(16):2963-2972. doi: 10.1017/S1368980019003811.

90. Pre-pregnancy caffeine and caffeinated beverage intake and risk of spontaneous abortion / Gaskins A.J., Rich-Edwards J.W., Williams P.L. [et.al.] // *European Journal of Nutrition.* – 2018. – Vol. 57, № 1. – P. 107-117.

91. Pregnancy intervals after stillbirth, neonatal death and spontaneous abortion and the risk of an adverse outcome in the next pregnancy in rural Bangladesh / B.A.S. Nonyane, M. Norton, N. Begum [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 62.

92. Prevalence and clinical, social, and health care predictors of miscarriage. / Strumpf E., Lang A., Austin N. [et al.]// *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021 Mar 5;21(1):185.doi: 10.1186/s12884-021-03682-z.

93. Prevalence and determinants of post--abortion family planning utilization in a tertiary Hospital of Northwest Ethiopia: a cross sectional study. / Abate E., Smith Y., Kindie W. [et. al.] // *Contracept Reprod Med.* – 2020 –14;5(1):39.doi: 10.1186/s40834-020-00143-4.

94. Proportion of Risk Factors among Women Attending Antenatal Checkup Unit of A Tertiary Level Hospital of Bangladesh. / Annur B.M., Dhar S., Kaisar M.A. [et al.] // *Mymensingh Med J.* 2022 Oct;31(4):970-975.

95. Protein signatures linking history of miscarriages and metabolic syndrome: a proteomic study among North Indian women. / Sharma S., Yadav S., Chandiok K. [et. al.] // *PeerJ.* –2019 – 14;7:e6321.doi: 10.7717/peerj.6321. eCollection 2019.

96. Proteomic and functional analysis of proteins related to embryonic development of decidua in patients with recurrent pregnancy loss. / Xiong Y-M., Pan H-T., Ding H-G. [et. al.]. // *Biol Reprod.* – 2021 – 105(5) – p. 1246-1256. doi: 10.1093/biolre/ioab140.

97. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome / Teede H.J., Misso M.L., Costello M.F. [et al.] // *Fertility and Sterility.* – 2018. – Vol. 110, № 3. – P. 364-379.

98. Reproductive Factors and Risk of Spontaneous Abortion in the Jinchang Cohort/ Hu X., Miao M., Bai Y. [et al.] // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2018. – Vol. 15, № 11. – P. 2444.

99. Risk factors for miscarriage in Syrian refugee women living in non-camp settings in Jordan: results from the Women ASPIRE cross-sectional study/ Khandra M.M., Suradi H.H., Amarin J.Z. [et al.] // Confl Health. 2022 Jun 7;16(1):32. doi: 10.1186/s13031-022-00464-y.

100. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study./ Magnus M.C., Wilcox A.J., Morken N.H. [et al.] // BMJ. — 2019. — Vol. 364. — P. 1869.

101. Rossen, L.M. Trends in Risk of Pregnancy Loss Among US Women, 1990-2011 /L.M. Rossen, K.A. Ahrens, A.M. Branum // Paediatric and Perinatal Epidemiology.– 2018. – Vol. 32, № 1. – P. 19-29.

102. Ruchliada N.N. Vaginal microbiota composition and infection – related miscarriage. / Ruchliada N.N., Vinnikova S.V., Tsechoyeva L.S. // Global reproduction. –2020.–#3.c5-8.

103. Runkle I. Early Levothyroxine Treatment for Subclinical Hypothyroidism or Hypothyroxinemia in Pregnancy: The St Carlos Gestational and Thyroid Protocol. / Runkle I., Paz de Miguel M., Barabash A. // Front Endocrinol (Lausanne). –2021; 12:743057. doi: 10.3389/fendo.2021.743057.

104. Sealock T. Smoking Cessation/ Sealock T., Sharma S. // StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. – 2023.

105. Serum markers of B-cell activation in pregnancy during late gestation, delivery, and the postpartum period. / Lima J, Cambridge G, Vilas-Boas A et al.// Am J Reprod Immunol.– 2019.–81(3):e13090. doi:10.1111/aji.13090

106. Sinkora M. Immunoglobulin light chain κ precedes λ rearrangement in swine but a majority of λ^+ B cells are generated earlier. / Sinkora M, Stepanova K, Sinkorova J. // Dev Comp Immunol. – 2020. –111:103751.

107. So Sh. Risk factors of subclinical hypothyroidism and the potential contribution to miscarriage: A review. /So Sh., Tawara F.// *Reprod Med Biol.* –2020–19(3):232-242.doi: 10.1002/rmb2.12325.

108. Spontaneous and repeat spontaneous abortion risk in relation to occupational characteristics among working Korean women: a cross-sectional analysis of nationally representative data from Korea / W. Lee, S.W. Jung, Y.M. Lim et al. // *BMC Public Health.* – 2019. – Vol. 19, № 1. – P. 1339.

109. Successful Implantation and Live Birth Following Autologous Platelet-rich Plasma Treatment for a Patient with Recurrent Implantation Failure and Chronic Endometritis / Sfakianoudis K., Simopoulou M., Nitsos N. [et al.]// *In Vivo.* – 2019. – Vol. 33, № 2. – P. 515-521.

110. The association between vaginal microbiota disorders and early missed abortion: A prospective study./ Sun D., Zhao X, Pan Q. [et al.]// *Acta Obstet Gynecol Scand* –2022 –101(9):960-971. doi: 10.1111/aogs.14410.

111. The effect of paternal factors on perinatal and paediatric outcomes: a systematic review and meta-analysis. // Oldereid NB, Wennerholm UB, Pinborg A. [et al.]// *Hum Reprod Update* –2018– 24:320–389.

112. The impact of first-trimester intrauterine hematoma on adverse perinatal outcomes / A.B. Peixoto, T.M.R.D.C. Caldas, C.G. Petrini [et al.] // *Ultrasonography.* – 2018. – Vol. 37, № 4. – P. 330-336.

113. The Prevalence of Thrombophilia in Women with Recurrent Fetal Loss and Outcome of Anticoagulation Therapy for the Prevention of Miscarriages / Nahas R., Saliba W., Elias A. [et al.] // *Clinical and Applied Thrombosis. Hemostasis.* – 2018. – Vol. 24, № 1. – P. 122-128.

114. The role of β -HCG and VEGF-MEK/ERK signaling pathway in villi angiogenesis in patients with missed abortion/ Jing G., Yao J., Dang Y. [et al.]//*Placenta.* – 2020. – 103. - p.16-23.

115. Thyroid autoimmunity and IVF/ICSI outcomes in euthyroid women: a systematic review and meta-analysis./ Venables A., Wong W, Way M. [et. al.] // *Reprod Biol Endocrinol.* 2020 Nov 25;18(1):120. doi: 10.1186/s12958-020-00671-3. 8

116. Thyroid Autoimmunity in Female Infertility and Assisted Reproductive Technology Outcome./ Bucci I., Giuliani C., Dalmazi G. [et. al.] // Front Endocrinol (Lausanne).– 2022 –13:768363.doi: 10.3389/fendo.2022.768363.

117. Xourgia E. An Update on Antiphospholipid Syndrome./ Xourgia E., Tektonidou M. // Curr Rheumatol Rep.– 2022 – 5;23(12):84.doi: 10.1007/s11926-021-01051-5.

118. Yakovlev P.P., Endometrium and polycystic ovary syndrome]. Journal of obstetrics and women's diseases. / Yakovlev P.P., Kogan I.Y. // 2018–67(4):60- 66. Russian. DOI: 10.17816/JOWD67460-66 13.

119. Yuan Sh. Smoking, alcohol and coffee consumption and pregnancy loss: a Mendelian randomization investigation. / Yuan Sh., Liu J., Larsson S.// Fertility and Sterility.– 2021–116(4)– p.1061-1067.doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.05.103.

120. Wiczorek E. Transthyretin: From Structural Stability to Osteoarticular and Cardiovascular Diseases. / Wiczorek E, Ożyhar A. // Cells. –2021. –10(7):1768.