На правах рукописи

ТАРАСОВА

АНАСТАСИЯ ВИКТОРОВНА

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОСЛЕРОДОВЫХ МЕТРОЭНДОМЕТРИТОВ

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва–2023 год

Работа выполнена в Частном учреждении образовательной организации высшего образования Медицинский университет «Реавиз» города Самары.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук, профессор **Шатунова Елена Петровна**

Официальный оппоненты:

Доброхотова Юлия Эдуардовна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии лечебного факультета

Федорова Татьяна Анатольевна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, руководитель отдела трансфузиологии и экстракорпоральной гемокоррекции

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «____»_____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области (101100, г. Москва, ул. Покровка, 22а).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области (101100, г. Москва, ул. Покровка, 22а).

Автореферат разослан «____»_____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук,
профессор **Щукина Наталья Алексеевна**

ОБЩАЯ ХАРКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Гнойно-воспалительные заболевания после родов остаются одной их актуальных проблем современного акушерства (Агарев А.Е., 2018; Айламазян Э.К., 2019; Доброхотова Ю.Э. и соавт., 2020; Зароченцева Н.В.,2020; Шугинин И.О., Петрухин В.А. и соавт.,2021; Щукина Н.А. и соавт., 2021) и занимают третье место среди причин материнской смертности наряду с акушерскими кровотечениями и преэклампсией. (Баранов И.И. и соавт., 2021; Ищенко А.И. и соавт., 2022). При этом, несмотря на совершенствование профилактических мероприятий и хирургической техники кесарева сечения, частота послеродовых заболеваний остается высокой (Буянова С.Н. и соавт., 2020; Федорова Т.А. и соавт., 2020).

В настоящее время имеют место недооценка тяжести течения послеродового эндометрита в акушерских отделениях и запоздалое начало лечения (Краснопольский В.И. и соавт., 2018). В пуэрперальном периоде привычная условно-патогенная микрофлора может стать патогенной (Самойлова Т. Н. и соавт., 2018; P. M. Jayaram, M. K. Mohan, J. Konje, 2020), вызывая гнойно-септические осложнения послеродового периода. Развитие послеродового метроэндометрита (ПМЭ) объясняется и тем, что происходит изменение спектра возбудителей с увеличением антибиотикоустойчивых микроорганизмов, трансформацией клинической симптоматики в сторону стертых и атипичных форм, запоздалой диагностикой и, соответственно, поздним началом лечения (Радзинский В.Е., Логутова Л.С. и соавт.,2018).

В последние годы особое внимание уделяется предикции и превенции акушерских осложнений (Радзинский В.Е., Князев С.А., Костин И.Н., 2021). Недостаточная информативность и отсутствие четких критериев подчеркивают трудности ранней диагностики и прогнозирования послеродового эндометрита. Однако до сих пор недостаточно отечественных и зарубежных исследований, посвященных проблеме прогнозирования и профилактики ПМЭ (Knight M., Chiocchia V., Partlett C. и соавт., 2019; Батракова Т.В., Зазерская И.Е., Вавилова Т.В.,2021).

Степень научной разработанности темы

В настоящее время при изучении патогенеза различных заболеваний большое внимание уделяется патогенетическим механизмам, происходящим на клеточном и молекулярно-генетическом уровнях. Исследование генов, контролирующих активность цитокинов, — одна из важных задач в раскрытии патогенетических звеньев инициации и течения заболеваний и выявлении на ранних сроках предрасположенности к ним (Пузырева Л.В., Сафонов А.Д.2018; В. Т. Долгих и соавт., 2019). Вышеизложенное позволяет, с одной стороны, прогнозировать риск развития патологического процесса или тяжесть его течения, с другой — индивидуально подобрать специфическую терапию для конкретного пациента (Никонов А.П. и соавт., 2020). В литературных источниках приводятся данные, касающиеся оценки уровня продукции отдельных про- и противовоспалительных цитокинов при послеродовых воспалительных заболеваниях матки (Баринов С.В., Блауман Е.С., Лазарева О.В. и соавт., 2019), но в них не установлена их диагностическая и прогностическая значимость.

В настоящее время исследования, изучающие взаимосвязи между акушерско-гинекологическими заболеваниями и полиморфизмом генов цитокинов продолжаются (Гордеева Л.А. и соавт., 2018; Дубровина С.О. и соавт., 2021;

Филипенкова Т.Е.. и соавт., 2021). Исследование генетических полиморфизмов дает возможность прогнозировать реализацию заболеваний задолго до их возможного развития. Мы полагаем, что изучение генов цитокинов в аспекте прогнозирования ПМЭ представляется перспективным и актуальным, что и побудило нас провести данное исследование.

Цель исследования: совершенствование прогнозирования и ранней диагностики послеродовых метроэндометритов.

Задачи исследования:

1. Выявить клинико-анамнестические факторы риска формирования ПМЭ у родильниц изучаемой когорты.

2. Изучить микробный пейзаж лохий у пациенток с послеродовыми метроэндометритами и определить его чувствительность к антибиотикам.

3. Определить уровень цитокинов ИЛ-10, ФНОα в сыворотке крови у женщин с послеродовыми метроэндометритами различной степени тяжести и у здоровых родильниц.

4.Провести сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов (G1082A) гена цитокина ИЛ-10 и (G308A) гена ФНОα с определением уровня основных гематологических показателей у родильниц с неосложненным течением послеродового периода и у родильниц с ПМЭ.

5.Оценить полученные данные для прогнозирования и ранней диагностики ПМЭ.

Научная новизна исследования

В диссертации разработана новая научная идея, обогащающая современную концепцию прогнозирования и ранней диагностики ПМЭ.

Установлена генетическая предрасположенность к развитию послеродовых воспалительных заболеваний матки у носителей генотипа –308A/A гена ФНОα.

Подтверждена значимость генетических предикторов развития ПМЭ. Впервые изучено и показано соотношение экспрессии провоспалительных (ФНОα) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10) в зависимости от тяжести клинического течения ПМЭ.

Выявлена зависимость гематологических параметров от вариантов SNP полиморфизма генов цитокинов. У родильниц с ПМЭ при генотипе **AA** гена ФНОα(G308A) статистически значимо снижены количество тромбоцитов и уровень СРБ ($p<0,05$), установлены их пороговые значения, позволяющие повысить точность ранней диагностики ПМЭ.

Доказана взаимосвязь между количественным содержанием ФНОα и вариантами SNP (генотипы GG и GA) генов цитокинов ИЛ-10, ФНОα, что имеет значение в диагностике ПМЭ.

Выявлены и описаны ранние ультразвуковые маркеры ПМЭ. Подтверждена их диагностическая значимость.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования расширены представления об этиологии и патогенетических аспектах развития пуэрперальных метроэндометритов. Ведущее место в этиологической структуре принадлежит условно-патогенным микроорганизмам: неферментирующим грамотрицательным палочкам (преимущественно *Escherichia coli, Klebsiella pneumonia*), энтерококкам (преимущественно *Enterococcus faecalis*), стафилококкам (преимущественно *Staphylococcus aureus, Staphylococcus haemoliticus*), находящимся в матке в большинстве случаев в массивном количестве в виде аэробно-анаэробных ассоциаций. Показана чувствительность микроорганизмов с целью выбора оптимальных схем терапии. В работе отражён комплексный подход к прогнозированию и диагностике послеродовых воспалительных заболеваний матки. Полученные данные показывают, что различным по тяжести формам ПМЭ соответствуют разные уровни цитокинов в крови (ФНОα и ИЛ-10), что дает возможность пересмотреть традиционные взгляды на клиническое течение ПМЭ. Включение в комплекс обследования родильниц дополнительных диагностических критериев (цитокиновый профиль) наряду со стандартными биохимическими, ультразвуковыми и бактериологическими исследованиями позволяет обеспечить раннюю диагностику ПМЭ.

Методология и методы диссертационного исследования

Настоящее исследование выполнено на кафедре акушерства и гинекологии с курсом ЭХ и СТО Медицинского университета «Реавиз». В соответствии с поставленной целью и задачами был разработан план выполнения всех этапов работы; выбраны объекты исследования и подобран комплекс современных методов исследования. В работе использованы клинико-лабораторные, инструментальные, статистические методы исследования. Все исследования проведены с учетом требований российских и международных законодательных актов о юридических и этических принципах медико-биологических исследований у человека. Математическая обработка данных проводилась с использованием современных компьютерных технологий.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Неиспользованным ресурсом прогнозирования ПМЭ является комплексное определение генотипов цитокинов ФНОα (G 308A), ИЛ-10 (G1082A) и количественного содержания их в крови. Реализация развития послеродовых воспалительных заболеваний матки обнаружена у всех носителей генотипа – 308A/A гена ФНОα.
2. Степень тяжести клинического течения ПМЭ определяется соотношением цитокинов. При развитии легкой формы послеродового метроэндометрита существенное значение имеют увеличение провоспалительных цитокинов (ФНОα) и снижение противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10), и отношение ИЛ-10 к ФНО составляет 0,45±0,05. В случаях тяжелого течения ПМЭ экспрессия

противовоспалительных цитокинов преобладает над провоспалительными и вышеуказанное соотношение составляет 2,49±0,32 (p <0,05).

3. Высокий уровень цитокинов ФНОα и ИЛ-10 при развитии ПМЭ обусловлен носительством аллеля **G** (ФНОα (G308A и ИЛ-10 G1082A), что клинически проявляется развитием тяжелых форм ПМЭ.
4. Носительство аллеля **A** гена ФНОα (G308A) является иммуногенетическим фактором риска стертого течения ПМЭ и сопровождается снижением тромбоцитов, С-реактивного белка, фибриногена и увеличением билирубина, АСАТ, щелочной фосфатазы (p <0,05).

Апробация научных результатов

Материалы и основные положения диссертации доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аспирантские чтения – 2020 Samara International Medical Science» (Самара, 15 октября 2020 г.), на XV Международном конгрессе по репродуктивной медицине (Москва, 19–21 января, 2021), Пленуме Правления Российского общества акушеров-гинекологов и XIII региональном научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Казань, 2020), Межрегиональной научно-практической конференции с международным участием «VII Санкт-Петербургский септический форум»(2020), Межрегиональной научно-практической конференции «Джанелидзевские чтения» (Санкт-Петербург, 2020) , Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Охрана здоровья матери и ребенка» (Санкт-Петербург, 2020), Всероссийском форуме «Жигулевская долина-22» «Актуальные проблемы акушерства, гинекологии и репродукции-междисциплинарный подход» (Самара,2022).

Апробация работы состоялась на совместной научной конференции кафедры акушерства и гинекологии с курсом эндоскопической хирургии и симуляционно-тренингового обучения Медицинского университета «Реавиз», кафедры акушерства и гинекологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации 12.01.2022 г., протокол № 1.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, клинико-лабораторном обследовании женщин, сборе, обработке, хранении биологического материала и лечении пациенток, а также в проведении анализа медицинской документации, статистической обработке и научном обобщении полученных результатов. Написание и публикация результатов работы выполнены автором лично.

Соответствие диссертации паспорту полученной специальности

Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 3.1.4. Акушерство и гинекология. Работа выполнена согласно плану комплексной НИР медицинского университета «Реавиз» «Медико-социальные аспекты и

патогенетические механизмы течения воспалительного процесса у пациентов разных возрастных групп на основе поведения структур клеточных и неклеточных тканей» (номер государственной регистрации 01201369440).

Внедрение результатов исследования

Полученные результаты исследования внедрены в программу практических занятий, лекционного курса кафедры акушерства и гинекологии с курсом ЭХ и СТО Медицинского университета «Реавиз», применяются в лечебно-диагностической работе гинекологических отделений ГБУЗ СО СГКБ №1 им. Н.И.Пирогова, ГБУЗ СО СГКБ № 2 им. Н.А. Семашко, многопрофильной клиники «Реавиз».

Степень достоверности результатов проведенного исследования.

Обоснованность и достоверность результатов данного исследования подтверждается достаточным объемом клинических и молекулярно-генетических методов исследования, однородностью выборки участников исследования, применением необходимых современных методов статистического анализа.

Публикация результатов исследования

По материалам диссертационного исследования опубликовано 16 печатных работ, из них 4 статьи в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК России, и 3 - в научных журналах единой базы данных Scopus, получено рационализаторское предложение на тему: «Ступенчатая терапия ципрофлаксацином и метронидазолом у больных с сочетанными инфекционно-воспалительными заболеваниями матки и венозной системы таза в послеродовом периоде».

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 124 страницах, состоит из введения и 4 глав (обзор литературы, материал и методы исследования, результаты собственных исследований), обсуждения результатов исследований, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 31 таблицами и 10 рисунками. Использованная литература включает 112 работ отечественных авторов и 67 источников зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в Самарском медицинском университете «Реавиз» (ректор – доктор медицинских наук, профессор, академик РАМТН, лауреат губернской премии в области науки и техники, почетный работник высшего профессионального образования Минобрнауки РФ, вице-президент Российской Ассоциации гериатров и геронтологов - Н.А. Лысов) на кафедре акушерства и гинекологии с курсом ЭХ и СТО Медицинского университета «Реавиз» (заведующая кафедрой - доктор медицинских наук, профессор Е.П. Шатунова). Клинические исследования проводились на базе родильного отделения №20 и гинекологических отделений №14,19, патоморфологические - на базе патологоанатомического отделения № 27 СГКБ ГБУЗ №1 имени Н.И. Пирогова (главный врач – к.м.н. А.В. Вавилов), родильного дома №2, гинекологического отделения гнойной хирургии СГКБ ГБУЗ №2 имени Н.А. Семашко (главный врач – Я.З. Резников), иммунологические – на базе НИИ «Институт экспериментальной медицины и биотехнологий» ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (директор-д.б.н., доцент Л.В. Лимарева).

С целью уточнения роли факторов в структуре причин, приводящих к развитию послеродового метроэндометрита, мы проанализировали социально-демографические и медико-биологические особенности 138 женщин с осложненным и физиологическим течением послеродового периода на основании результатов анкетирования, проведенного в соответствии со стандартным алгоритмом сбора жалоб и анамнеза. Все пациентки подписали письменное добровольное информированное согласие на участие в исследовании и на публикацию результатов в научных статьях.

Все родильницы были разделены на 2 группы: 1 группа (основная) – 113 пациенток с послеродовыми метроэндометритами**,** развившимися после самопроизвольных родов и операции кесарева сечения. В зависимости от характера клинических проявлений основную группу мы разделили на 2 подгруппы: 1а – тяжелое течение ПМЭ (73 пациентки) и 1б – легкое течение ПМЭ (40 пациенток). К тяжелой форме ПМЭ мы относили пациенток с несостоятельным швом на матке после операции кесарева сечения и развитием метротромбофлебита.

2 группу (группу сравнения) составили 25 здоровых родильниц, не имевших в анамнезе гинекологических заболеваний, либо других хронических болезней, влияющих на состояние иммунного статуса.

Критериями включения в основную группу были клинические и лабораторные данные, позволяющие подтвердить диагноз «послеродовый эндометрит»: послеродовый период, не превышающий 42 дня; повышение температуры тела у родильниц до субфебрильных и фебрильных цифр; болезненность матки при пальпации; субинволюция матки по УЗИ; гнойные лохии. Диагноз ПМЭ поставлен на основании критериев, рекомендованных клиническими рекомендациями «Септические осложнения в акушерстве» от 06.02.2017г. и клиническими рекомендациями «Послеродовый эндометрит» №КР118 от 2016г.

Критерии исключения для проведения иммунологических исследований: инфекционные генитальные и экстрагенитальные заболевания; доброкачественные и злокачественные опухоли у родильниц; тяжелые формы экстрагенитальной патологии, системные аутоиммунные заболевания матери, преэклампсия, многоплодные беременности, беременности после экстракорпорального оплодотворения. Изучение акушерского и гинекологического анамнеза, паритета, оценка частоты выявления гинекологических и экстрагенитальных заболеваний, результаты обследования свидетельствовали о том, что группы женщин были сходны по данным признакам.

Клиническое обследование проведено в соответствии с клиническим протоколом « Септические осложнения в акушерстве» от 06.02.2017г. №15-4/10/2-278, клиническими рекомендациями «Послеродовый эндометрит» от №КР118 от 2016г., приказом МЗ РФ от 20.10.2020 № 1130н Об утверждении порядка оказания медицинской помощи по профилю акушерство и гинекология и с действующим на тот период времени приказом МЗ РФ № 572н от 01.11.2012г.(клинический анализ крови, биохимический анализ крови, гемостазиограмма, общий анализ мочи, бактериоскопическое исследование содержимого влагалища при поступлении в родильное отделение).

Для бактериологического исследования лохий материал забирали стерильным ватным тампоном после обнажения шейки матки стерильным гинекологическим зеркалом сразу после поступления и до вагинального осмотра и начала антибактериальной терапии у родильниц с ПМЭ. Тампон вводили непосредственно в цервикальный канал на глубину 2-3 см, затем помещали его в пробирку с жидкой питательной средой (1% сахарный бульон). Второй тампон с материалом помещали в герметичную транспортную среду КэриБлэйр для бактерий-анаэробов. Пробирки с сахарным бульоном инкубировали в термостате при 37°С в течение суток, после чего из них делали посевы на 5% кровяной агар, на среду Сабуро. Посевы инкубировали в термостате при 37°С в течение двух суток. Идентификацию микробных культур проводили по морфологическим и культуральным свойствам.

Посевы с транспортной среды для анаэробов проводили не позднее, чем через 2 часа после взятия материала на среду Wilkins-Chalgren (производства OXOID-Limited, England). Материал инкубировали в анаэростате в течение пяти суток, после чего проводили определение рода и видовой принадлежности микроорганизмов.

При посеве раневого отделяемого материал забирали стерильным ватным тампоном до начала антибактериальной терапии у родильниц с ПМЭ и помещали его в пробирку с жидкой питательной средой (1% сахарный бульон). После инкубации пробирок в термостате при 37° С в течение суток, из транспортной среды делали посевы на 5% кровяной агар.

Выделенные микроорганизмы исследовались на чувствительность к антибиотикам диско-диффузионным методом на среде Мюллера-Хилтона с использованием антибактериальных препаратов.

Исследование последа производилось методом общегистологического анализа и включало в себя макрооценку материала (с определением его размеров и массы) с последующим забором образцов из пуповины, оболочек, хориальной и базальной пластинок. Материал последа и соскоб, полученный при кюретаже и аспирации из полости матки, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, после чего заливали в парафин. Далее готовили срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином и оценивали при помощи световой микроскопии (Zeiss, Германия) при увеличении х90. Проведено гистологическое исследование 138 последов, 49 соскобов из полости матки и 14 удаленных макропрепаратов (матка с маточными трубами).

Оценку цитокинового статуса проводили на основании определения сывороточных уровней продукции цитокинов ИЛ-10, ФНОα. Использовались иммуноферментные тест-системы производства ЗАО «ВЕКТОР-БЕСТ» (Новосибирск), основанные на принципе «сэндвич»-метода с использованием пары моноклональных (мАТ) и поликлональных (пАТ) антител. Результаты реакции ИФА регистрировали с помощью ИФА-анализатора фирмы «Униплан» (Россия, Москва) при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов в исследуемых пробах определяли по оптической плотности образца с помощью построения калибровочных кривых.

Для определения сывороточных уровней цитокинов ИЛ-10 и ФНОα нами производилось взятие периферической крови в пластиковые вакуумные пробирки «Vacuette» cClotActivator. Не позднее, чем через 30 минут после взятия образца, кровь без антикоагулянта центрифугировали при режиме 400 gв течении 10 минут. Полученную сыворотку помещали в стерильные пластиковые пробирки «Эппендорф» и хранили при температуре минус 36^{0}С градусов до проведения анализа. После чего в сыворотке крови определяли уровни цитокинов.

Для определения полиморфизмов цитокинов забор буккального эпителия осуществлялся не ранее, чем через час после еды, питья, а также курения. Конец ватной палочки прислоняли к внутренней стороне щеки и вращали в течении 10 секунд с небольшим нажимом. Палочку высушивали на воздухе при комнатной температуре в течение трех часов, после чего упаковывали в герметичный пакет для транспортировки. Геномная ДНК выделялась набором «Комплекта регентов для экспресс-выделения ДНК из буккального соскоба» (НПФ «Литех»). В комплект входил раствор А -30 мл, раствор В -3 мл. Аликвоты ДНК хранились при минус 36 ^{0}С. В пробирки на 1.5 мл вносилось по 300 мкл Раствора А, в них помещали палочки с буккальным соскобом ватным тампоном вниз, после его вортексировали 10 секунд, осаждали капли на микроцентрифуге, после чего помещали пробирки в прогретый до 99 градусов термостат на 5 минут. После того как пробирки достали из термостата, пинцетом были извлечены палочки. К оставшемуся в пробирке раствору было добавлено 30 мкл раствора В, вортексировали также 10 секунд и затем центрифугировали в течение 2-х минут при 13 тыс.об. /минуту. Супернатант содержит ДНК для анализа. Для определения полиморфизмов цитокинов ФНОα(G-

308A) и ИЛ-10 (G-1082A) использовали тест-системы НПФ «Литех» с электрофоретической и флуоресцентной детекцией результатов соответственно. При использовании набора с электрофоретической детекцией результатов (ФНОαG-308A) амплификацию проводили на термоциклере T100 (Biorad, США), детекцию на трансиллюминаторе TCP-20.MC (VilberLourmat). При использовании набора с флуоресцентной детекцией результатов (ИЛ-10 G-1082A) амплификацию и детекцию проводили на амплификаторе DTlite (ООО «ДНК-Технология», Россия).

Ультразвуковое исследование матки и ее придатков проводили на 3-е сутки после родов на аппарате «Toshiba SSD-220 с частотой датчика 3,5 и 5,0 МГц в режиме двухмерной визуализации по трансабдоминальной и трансвагинальной методике. Определяли размеры матки, полости матки, эндометрия, состояние шва на матке после операции кесарева сечения, состояние маточных труб, капсулы и паренхимы яичников, наличие объемных образований в проекции яичников и выпота в малом тазу.

После измерения стандартных ультразвуковых параметров гистерометрии (длина, ширина, передне-задний размер) рассчитывали объем послеродовой матки по формуле А.Н.Стрижакова и соавт. (2004)

- V=0,5236*A*B*C;

где A – длина тела матки, B – ширина и C – переднезадний размер, 0,5236 постоянный коэффициент.

Статистически анализ полученных данных проводился на персональном компьютере Windows 10.0. В качестве программного обеспечения использовался пакет модулей для статистической обработки данных программы STATISTICA 64 bitfor Windows, а также статистических функций программы Microsoft Office Excel 2017. Статистические методы включали определение среднего арифметического значения выборки (M), среднего квадратного отклонения (σ), ошибки репрезентативности (m). Было выполнено вычисление min числа наблюдений для получения достоверного результата по формуле: $n = \frac{t^2 \times P \times q}{\Delta^2}$.

Проводилась проверка на нормальное распределение. Учитывая нормальное распределение данных, определение достоверности различий между качественными показателями было выполнено с использованием t-критерия Стьюдента и χ2 Пирсона.

При отличном от нормального характера распределении использовали непараметрические тесты Манна-Уитни, Н-тест по методу Краскела-Уоллеса. Для определения статистической значимости различий частот аллелей и генотипов в группах больных применялся критерий χ2 Пирсона и метод Фишера. Исследование взаимосвязей осуществляли с помощью корреляционного анализа Спирмена. Вычисления производили с помощью программы на сайте medstatistic.ru.

Различия в частотах считали статистически значимыми при уровне значимости <0,05 (95% уровень значимости).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлено, что между женщинами обеих групп не отмечалось достоверных различий по возрасту, паритету. Большинство обследованных родильниц всех групп находилось в возрасте от 20 до 29 лет (55,75% женщин с ПМЭ и 60,00% родильниц с физиологическим пуэрперием), и по социальному статусу были рабочими (42,48% и 29,23 % соответственно). Средний возраст начала половой жизни составил 17,7 лет. У 26,55 % имелось указание на наличие двух и более половых партнеров.

По нашим данным выявлено, что на частоту возникновения ПМЭ не влияло количество родов, самопроизвольных выкидышей, эктопических беременностей в анамнезе. Но при анализе репродуктивной функции повторно беременных женщин выяснено, что наиболее часто встречалось искусственное прерывание беременности в основной группе родильниц (42,48%, 51 случай), что можно считать, одним из предрасполагающих факторов развития ПМЭ.

Среди гинекологических заболеваний в группе женщин с ПМЭ большой процент приходился на обострение хронического сальпингоофорита (73 женщины (64,60%), вульвовагинит (30 пациенток (34,51%)). У 27,79% женщин были выполнены хирургические манипуляции на шейке матки.

Анамнестически в структуре хронической урогенитальной инфекции, у женщин с ПМЭ наиболее часто выявлены урогенитальный кандидоз (34,51%), хламидийная инфекция (26,54%), инфекция, вызванная Mycoplasma genitalium (22,12%). При анализе экстрагенитальных заболеваний обращает на себя внимание высокая частота у пациенток с ПМЭ частых респираторных вирусных инфекций (56,63%), нарушений жирового обмена (61,06%), анемии (41,59%), варикозной болезни вен нижних конечностей (33,62%).

Среди осложнений беременности в основной группе родильниц угроза прерывания беременности встречалась в 33,62% наблюдений, ОРВИ во время беременности – в 30,97% и многоводие – в 36, 28%.

Нами выявлено, что у женщин с ПМЭ повышена кровопотеря в последовом периоде родов по сравнению со здоровыми родильницами, что также является фактором риска развития ПМЭ (220,3±9,57 мл и 174,8±6,34 мл, соответственно).

Согласно нашим данным, запоздалые роды у женщин с ПМЭ встречались гораздо чаще - в 26,56% наблюдений против 8,00% с физиологическим пуэрперием. Патологические роды (13,27%, (15 женщин)) и хориоамнионит (1,76% (2 женщины)) встречались только у женщин основной группы.

Известно, что при абдоминальном родоразрешении значительно возрастает риск ПМЭ. У родильниц основной группы нами обнаружена большая частота экстренных операций кесарева сечения (31,85% случаев) по сравнению со здоровыми (12,00%случаев).

Анализ клинических проявлений ПМЭ у обследованных подтвердил литературные данные о важности таких симптомов, как боли внизу живота, слабость, повышение температуры до 38-38,5С, озноб, увеличение частоты сердечных

сокращений до 90-100 уд в мин, бледность кожных покровов, увеличение размеров матки, болезненность и изменение ее консистенции при пальпации.

Эхографическое исследование матки на 3 сутки послеродового периода показало, что у пациенток основной группы были достоверно большие размеры ширины матки, ее передне-заднего размера, чем в группе сравнения ($p<0,05$). Расширение полости матки у родильниц с ПМЭ составило в среднем 13,11±2,31 мм, а в ряде наблюдений до 22 мм, ширина матки -113,77±8,72 мм, длина матки - 133,48±11,46 мм. В основной группе объем матки был 585,78±23,62мм^3, что больше этого показателя у здоровых женщин (438,61±24,42мм^3) ($p <0,001$).

Исследование общего анализа крови показало, что 71 пациентки с ПМЭ отмечался умеренный до $12*10^9$/л лейкоцитоз. Выраженный лейкоцитоз в пределах $12\text{-}20*10^9$/л была выявлен у 42 женщин. Гемограмма при тяжелом эндометрите характеризовалась более выраженными изменениями: анемией, лейкоцитозом (от $14x10^9$/л до $36x10^9$/л), увеличением числа палочкоядерных лейкоцитов до 16 и СОЭ до 65мм/час.

Известно, что одним из самых чувствительных индикаторов при воспалении является С- реактивный белок (СРБ). СРБ был положителен у всех женщин с ПМЭ. Содержание его при легком течении ПМЭ составило - 19,99 мг/л, при тяжелом – 106,4 мг/л, в тяжелых случаях, осложненных перитонитом, оно повышалось до 175 мг/л. Изучение состояния свертывающей системы крови выявило, что в группе родильниц с тяжелым течением ПМЭ было более выраженное гиперкоагуляционное состояние: укорочение АЧТВ до 18,1сек, укорочение тромбинового времени до 12,1 сек, повышение уровня фибриногена до 8,9-11,2 г/л, снижение МНО до 0,81. Эти данные полностью подтверждают взаимосвязь процессов коагуляции и воспаления. Так как гиперкоагуляция и воспаление могут запустить порочный круг, который может привести к тромбообразованию, одной из задач лечения тяжелого ПМЭ должно быть противодействие процессу свертывания крови.

Согласно второй задаче, мы исследовали микрофлору половых путей женщин с ПМЭ и определили ее чувствительность к антибиотикам. В 37 наблюдениях (42%) из содержимого полости матки были выделены различные варианты бактериальных ассоциаций с преобладанием 3-х и 4-х компонентных. Основными ассоциантами являлись неферментирующие грамотрицательные палочки и стафилококки. При анализе спектра микрофлоры у родильниц с ПМЭ выявлено, что среди факультативных анаэробов наиболее часто выделяли *Escherichia coli,* E*nterococcus faecalis, Staphylococcus aureus,* несколько реже встречались *Staphylococcus haemoliticus, Klebsiella pneumonia*. Строго анаэробная микрофлора в монокультуре была обнаружена в полости матки у 2 родильниц (6,25 %), факультативно анаэробная – у 19 (16,8%). Эти полученные нами результаты подтверждаются другими авторами (Axelsson D., Brynhildsen J., Blomberg M.,2018; Жилинкова Н.Г.,2019), которые считают, что анаэробная флора занимает в этиологической структуре ПМЭ от 10% до 15 % и не является основным возбудителем развития послеродового эндометрита.

При определении чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам при осложненном метроэндометритом пуэрперии выявлена большая

чувствительность к амоксициллину. Из антибиотиков группы пенициллинов максимально эффективны в отношении возбудителей ПМЭ были аминобензиловые препараты, а минимально - природные пенициллины. Согласно нашим данным, среди фторхинолонов лидирующее место занял ципрофлоксацин, наименьшая чувствительность представлена к левофлоксацину. В группе аминогликозидов наибольшая чувствительность выявлена к гентамицину, наименьшая - к амикацину.

Таким образом, послеродовые метроэндометриты отличаются полиэтиологичностью, различной антибиотикочувствительностью флоры и различными по тяжести клиническими проявлениями, что может создавать трудности в их диагностике. Наше исследование не обнаружило статистически значимой связи между микрофлорой из цервикального канала у родильниц с ПМЭ и аллельным полиморфизмом генов цитокинов ИЛ-10 (G1082A) и ФНОα (G308A).

Следующая задача нашего исследования заключалась в изучении распределения аллельных вариантов генов ИЛ-10 (G1082A) и ФНОα (G308A) и оценке концентрации соответствующих цитокинов (ИЛ-10 и ФНОα) в сыворотке крови здоровых женщин и у женщин с ПМЭ. Среднее содержание цитокинов и их соотношение представлено в таблице1.

При легкой форме ПМЭ содержание ФНОα было выше средних значений, а при тяжелой – в отдельных случаях снижалось до 4,3 пг/ мл(табл.1).

Таблица 1 - Содержание цитокинов ИЛ-10 и ФНОα у родильниц с ПМЭ.

Показатель	ИЛ-10, пг/ мл	ФНОα, пг/ мл	Отношение ИЛ-10 к ФНОα
Родильницы с физиологическим пуэрперием (n=25)	11,31+1,63	4,12±0,21	2,74±0,31
Родильницы с ПМЭ (n=50)	9,74±1,21	7,82+0,69*	1,24±0,12*
P	>0,05	<0,001	<0,01

Примечание: *- различия статистически значимы (p<0,05).

У здоровых женщин после родов относительно преобладал противовоспалительный цитокин и отношение ИЛ-10 к уровню ФНОα оказалось в 2,74 раза больше. При развитии метроэндометрита уровень ИЛ -10 был ниже, чем у здоровых, и отношение его к ФНОα уменьшилось до 1,24. При легкой форме ПМЭ содержание данного цитокина (ИЛ-10) уменьшается по сравнению со здоровыми почти на 50% (5,22±0,71пг/мл и 11,31+1,63пг/мл соответственно) (p<0,05), а при тяжелой - увеличивается (таблица 2). Отметим, что если не выделять группы больных по клиническому течению на легкие и тяжелые формы послеродового метроэндометрита, то в среднем уровень провоспалительных цитокинов преобладает над противовоспалительными. Согласно данным литературы, увеличение уровня ИЛ-10 может свидетельствовать о развитии иммунодепрессивной фазы системного

воспаления, при которой уровень провоспалительных цитокинов имеет тенденцию к снижению Булава Г.В. и соавт., 2018; Ranzani A.T. и соавт., 2019).

В случаях тяжелого течения ПМЭ установлена положительная коррелятивная связь между ФНОα и СРБ (r=+0,64), между ФНОα и лейкоцитозом - (r=+0,77), между ФНОα и содержанием билирубина-(r=+0,40), креатинина - (r=+0,58)((p<0,01), между уровнем ИЛ -10 и С - реактивного белка - (r=+0,63(p<0,05)), между уровнем ИЛ -10 и содержанием фибриногена - отрицательная (r=- 0,53, (p<0,05)) (табл.3).

Таблица 2 - Показатели лабораторных данных в группах больных с ПМЭ.

Показатель	Лейкоциты, (10 9/л)	Фибриноген, г/л	СРБ, мг/ л	ИЛ-10,пг/ мл	ФНОα,пг/ мл	Отношение ИЛ-10 к ФНОα
Группа 1а тяжелое течение (n=25)	22,12±2,41*	8,42±1,22*	106,53±12,21*	16,32±2,11*	6,52±0,47*	2,49±0,32*
Группа 1б легкое течение (n=25)	10,51 ±1,31*	4,71±0,61	19,92±2,31	5,22±0,71*	11,4±1,32	0,45±0,05
P	<0,001	<0,01	<0,001	<0,01	<0,01	<0,001

Примечание: *- различия статистически значимы (p<0,05).

Таблица 3 –Корреляционная зависимость (значение(r)) между параметрами цитокинов и гематологическими показателями у родильниц с ПМЭ.

Показатель	ФНОα, n=25	ИЛ-10, n=25
Интерлейкины:		
ИЛ-10,пг/ мл	+0,22	0
ФНОα,пг/ мл	0	+0,22
Показатели общего анализа крови:		
Лейкоциты ,10^{9}/л	+0,77*	+0,26
Эритроциты,10^{12}/л	-0,30	-0,03
Гемоглобин, г/л	-0,29	-0,14
Биохимические показатели крови:		
Фибриноген, г/л	+0,56*	-0,53*
СРБ, мг/л	+0,64*	+0,63*
Общий белок, г/л	-0,19	-0,20
Билирубин, мкмоль/л	+0,40*	+0,07
Креатинин, мкмоль/л	+0,58**	+0,31
Коагулограмма:		
АЧТВ, с	-0,42*	+0,19
РФМК, мг/дл	+0,49	+0,50
МНО	-0,43*	+0,18

Примечание: * - разница статистически значима p<0,05, **-p<0,001

Мы выявили, что нормальное гомозиготное носительство ФНОα (-308GG) среди здоровых, послеродовых женщин имеет место в 68,00 % случаев, в группе пациенток с ПМЭ – в 64%. Частота аллелей **G** и **A** у здоровых женщин составила 84% и 16%, (что соответствует популяционным данным 86% и 14% соответственно) в то время как у родильниц с ПМЭ – 64% и 36% соответственно. Носительство аллельного гена **A** гена ФНОα было обнаружено в 36,00±4,51% наблюдений у родильниц с ПМЭ против – 16,00+6,32 % в группе сравнения (p<0,01). Таким образом, можно предположить, что пациентки с носительством аллельного гена **A** ФНОα относятся к группе высокого риска по развитию послеродовых метроэндометритов (ОШ = 2,95; 95% ДИ: 1,50-5,78). Встречаемость гетерозиготного варианта полиморфизма (-308GA) гена ФНОα у здоровых составила 32%, как и у пациенток с ПМЭ (32%). Нами установлено, что носителями гомозиготного генотипа AA(G308A) были только пациентки из основной группы (4%), в группе здоровых его не было.

Мы обратили внимание, что при наличии гомозиготного фенотипа (-308GG) уровень ФНОα у пациенток основной группы был в 1,22 раза выше по сравнению гетерозиготным вариантом полиморфизма (-308 GA) и в 1,37 раза выше гомозиготного (-308AA) гена ФНОα (табл. 4,5).

Таблица 4 -Зависимость содержания показателей крови здоровых родильниц в зависимости от полиморфизма гена ФНОα(G308A).

Показатель	ФНОα(G308A)		p
	Гомозиготы GGn=34	Гетерозиготы GA n=16	
ФНОα, pg/ml	4,24±0,26	3,88±0,32	0,484
ИЛ-10 pg/ml	12,87±1,22*	8,06±1,50	0,020
Общий белок, г/л	61,51±1,11	58,35±1,13	0,091
Креатинин, мкмоль/л	56,91±2,64*	67,14±2,35	0,036
ПТИ	108,80±1,39*	101,15±3,94	0,040
Фибриноген, г/л	5,24±0,30	5,25±0,23	0,321
АЧТВ, с	25,89±0,73	25,70±0,82	0,871
МНО	0,93±0,01	0,96±0,03	0,169
Протромбиновое время, с	10,42±0,17	10,78±0,26	0,142

Примечание: *- разница статистически не значима p<0,05.

В группе здоровых женщин при наличии гомозиготного генотипа (-308GG) уровень ФНОα был в 1,2 раза выше по сравнению гетерозиготным вариантом полиморфизма -308GA. Иными словами, гомозиготы GG имеют большую продукцию цитокина ФНОα среди всех обследованных женщин.

При изучении влияния полиморфизма гена ФНОα (308G>A) на экспрессию ИЛ -10 самый высокий уровень ИЛ-10 был у гомозигот **GG** как в основной, так и в группе сравнения. В группе здоровых этот показатель преобладал у гомозигот GG по сравнению с гетерозиготами GA в1,6 раза (12,87±1,22пг/мл и 8,06±1,50пг/мл соответственно (p<0,02), а в основной группе в 1,05 раза(p>0,05).

Таблица 5 -Зависимость содержания показателей крови родильниц с ПМЭ от полиморфизма гена ФНОα(G308A**).**

	ФНОα (G308A)			p		
	Гомозиготы GGn=32	Гетерозиготы GAn=16	Гомозиготы AAn=2	p_{GG-GA}	p_{GG-AA}	p_{GA-AA}
ФНОα, pg/ml	7,12±0,74	5,83±0,35*	5,18±0,38	0,122	0,026	0,227
ИЛ-10 pg/ml	10,15±1,13	9,69±1,48**	3,52±0,41**	0,806	0,001	0,001
Hb , г/л	108,63±3,90	116,63±8,26	120,00±9,2	0,385	0,263	0,788
Le ,10^{9}/л	12,76±1,74	14,58±1,44	11,60±1,22	0,424	0,589	0,135
Tr, 10^{9}/л	310,13±29,95	281,38±26,14*	199,00±18,4*	0,473	0,003	0,021
Билирубин, мкмоль/л	10,29±1,29	8,99±1,07*	15,24±1,23**	0,442	0,009	0,001
Мочевина, ммоль/л	4,36±0,32	4,53±0,36**	5,90±0,45*	0,725	0,008	0,031
АЛТ, Е/л	16,86±1,26	21,39±5,36*	32,50±6,56	0,415	0,025	0,209
АСТ, Е/л	19,76±2,07	18,21±2,42*	28,50±3,44*	0,628	0,037	0,027
Щелочная фосфатаза, Е/л	194,57±18,13	175,65±47,28**	353,20±42,12*	0,710	0.001	0,013
Глюкоза, ммоль/л	4,38±0,15	4,62±0,55*	5,30±0,42	0,675	0,047	0,341
СРБ, мг/л	63,47±12,20	67,13±22,41	34,20±12,80*	0,886	0,107	0,021
ПТИ	84,94±4,78	77,95±4,38*	105,00±5,56**	0,286	0,010	0,001
Фибриноген, г/л	5,00±0,24	5,58±0,74**	3,85±0,33*	0,459	0,008	0,049
МНО	1,11±0,05	1,17±0,05*	0,97±0,05*	0,400	0,056	0,012
Протромби - новое время, с	13,89±0,51	13,74±0,40**	10,60±0,48**	0,818	0,001	0,001
РФМК, мг/дл	19,58±3,75*	8,30±2,37*	8,12±2,24	0,014	0,013	0,956

Примечание: *- различия статистически значимы (p<0,5), ** - (p<0,01).

Пациентки основной группы – гомозиготы **АА** ФНОα(-308АА) имели самую низкую экспрессию ИЛ-10 (3,52±0,41пг/мл) и ФНОα (5,18±0,38 пг/мл) среди других полиморфизмов. Ещё раз подчеркнем, что полиморфизм (-308АА) гена ФНОα у здоровых родильниц не встречался. Согласно этим данным, можно считать, что

носительство аллельного гена **A** и особенно наличие генотипа (– 308A/A) гена ФНОα способствует низкой экспрессии цитокина ФНОα и ИЛ-10, что, вероятно, определяет более слабый иммунный ответ у этих женщин при развитии ПМЭ.

При изучении влияния полиморфизма гена ФНОα (G308A) на биохимические показатели крови мы отметили статистически значимое большее количество креатинина и протромбинового индекса в крови здоровых родильниц при генотипе GG по сравнению с генотипом GA. Остальные показатели при генотипе GG были также выше (содержание общего билирубина было на 17,5% выше, АЛТ – на 22,7% выше, АСТ – на 11,5%), хотя мы вынуждены признать, что эти различия статистически не значимы.

Анализируя метаболический профиль у пациенток основной группы с генотипом **AA** гена ФНОα- (G 308 A) (таблица 5), выявлено низкое содержание тромбоцитов (199,00±18,4*10 ^{9}г/л), лейкоцитов (11,60±1,22 10^{9}г/л), фибриногена (3,85±0,33 г/л), МНО (0,97±0,05), протромбинового времени (10,60±0,48 с.), С – реактивного белка (34,20±12,80 мг/л) по сравнению с другими генотипами. У этих пациенток нами отмечены стертая клиническая картина, отсутствие выраженной температурной реакции. В тоже время, увеличение уровней мочевины (5,90±0,45 ммоль/л), АЛТ (32,50±6,56 Е/л), АСТ (28,50±3,44 Е/л), щелочной фосфатазы (353,20±42,12 Е/л), глюкозы (5,30±0,42 ммоль/л), протромбинового индекса (105,00±5,56) в этой группе больных может быть связано с функциональным напряжением метаболической функции печени.

Далее мы обратили внимание, что уровни ФНОα различаются у носителей аллеля **G** гена ИЛ-10 как у здоровых 56,00±5,71%, так и у пациенток с ПМЭ 76,00±3,52% (ОШ = 2.48; 95% ДИ: 1,35-4,55) (таблица 29). А у носительниц генотипа AA гена ИЛ-10 G1082A различий между здоровыми женщинами 44,00±2,21% и с послеродовыми эндометритами 24,00±1,34% не выявлено (ОШ = 0.40; 95% ДИ: 0,21-0,73). (табл. 6)**.**

Таблица 6-Зависимость содержания ФНО от полиморфизма гена ИЛ-10 G1082A.

Генотипы по гену ИЛ-10 G1082A	ФНО-альфа, pg/ml Здоровые	ФНО-альфа, pg/ml Эндометрит	p
Гомозиготы GG	4,36±0,23	7,40±0,59	<0,001
Гетерозиготы GA	3,51±0,18	6,63±0,71	<0,001
Гомозиготы AA	4,73±0,54	4,71±0,58	0,569

В основной группе гомозиготы **GG** (ИЛ-10 -1082A) показали более высокую продукцию ФНОα (7,40±0,59 пг/мл), а гомозиготы **AA** - наиболее низкую (4,71±0,58 пг/мл). Гетерозиготы GA занимали среднюю позицию по продукции данного цитокина (6,63±0,71пг/мл).

Если сравнивать содержание ИЛ-10 между обследованными в зависимости от аллельного полиморфизма, то у гомозигот **GG** уровень его выше у здоровых родильниц в 1,72 раза по сравнению с основной группой (15,22±1,98 пг/мл и 8,80±0,83 пг/мл соответственно (p<0,001)) (табл.7,8).Что касается гомозигот **AA**, то экспрессия ИЛ-10 также была выше в группе сравнения (9,71±1,16 пг/мл) по сравнению с основной группой на 46% (6,63±2,05 пг/мл)(p>0,05) (табл.7,8).

Подчеркнем, что у гомогозигот **AA** гена ИЛ-10 (G1082A) в основной группе (таблица 8) оказалось более высокое содержание лейкоцитов (18,8±8,78 10^9г/л), тромбоцитов (417,33±95,43 10^9г/л), общего белка (68,5±3,04 г/л), РФМК (24,00±6,92мг/дл), и самое низкое содержание не только ФНО*α* (4,71±0,58пг/мл) и ИЛ-10 (6,63±2,05пг/мл), но и креатинина (46,73±3,67 мкмоль/л), АЛТ (14,33±4,48 Е/л), АСТ (17,6±6,91 Е/л), глюкозы (4,00±0,29 ммоль/л), С- реактивного белка (27,82±25,1 мг/л), протромбинового времени (14,30±2,17с). Соотношение ИЛ-10/ФНО*α* составляет у этих пациенток - 1,4±0,15(у здоровых родильниц 2,74± 0,31,p<0,01).Эти данные могут свидетельствовать о выраженной воспалительной и недостаточной противовоспалительной ответной реакции организма у гомозигот AA гена ИЛ-10 (G1082A).

Гомозиготы **GG** ИЛ-10(G1082A) в основной группе по сравнению с другими полиморфизмами имели более высокую продукцию креатинина (70,12±7,74 мкмоль/л), АСТ(24,12±3,52 Е/л), глюкозы (4,62±0,76 ммоль/л), С- реактивного белка (85,62±24,94 мг/л), фибриногена (5,26±0,50 г/л), что возможно обусловлено у них более высокой выработкой ФНО*α* (табл.8). А в случаях аллельного гетерозиготного варианта GA по сравнению с гомозиготными генотипами мы наблюдали повышенную продукцию ИЛ-10(11,67±1,01 пг/мл). Все вышеуказанное указывает на важный вклад аллельного полиморфизма гена ИЛ-10 (G1082A) в развитие и проявление послеродового воспалительного процесса в матке.

Выявленные изменения цитокинового баланса при ПМЭ могут использоваться в качестве дополнительного метода для оценки характера его течения. Сопоставление концентрации в крови цитокинов с клиникой позволяет врачу судить о тяжести системного воспалительного ответа, а также глубже понять патофизиологические процессы, происходящие у пациенток с ПМЭ. Результаты нашего исследования подтверждают многочисленные данные о зависимости экспрессии цитокинов в том числе и от генетической вариабельности кодирующих их генов. Безусловно, аллельный полиморфизм генов цитокинов оказывает различное влияние на их содержание в крови и соответственно - на различное течение и тяжесть послеродового воспалительного процесса в матке.

Таблица 7 -Зависимость содержания показателей крови здоровых родильниц в зависимости от полиморфизма гена ИЛ-10 G1082A.

	ИЛ-10 G1082A			p_{GG-GA}	p_{GG-AA}	p_{GA-AA}	p_{K-W}
	Гомозиготы GG n=16	Гетерозиготы GA n=20	Гомозиготы AA n=14				
ФНОα, pg/ml	4,36±0,23*	3,51±0,18	4,73±0,54*	0,013	0,817	0,010	0,010
ИЛ-10 pg/ml	15,22±1,98*	9,35±1,83*	9,71±1,16	0,05	0,05	0,495	0,130
Общий белок, г/л	61,76±1,59	58,50±1,05	61,91±1,92	0,083	0,908	0,157	0,168
Билирубин, мкмоль/л	5,13±0,41	4,92±0,52	7,48±1,90	0,721	0,685	0,405	0,714
Мочевина, ммоль/л	3,41±0,26	3,03±0,30	3,37±0,25	0,305	0,727	0,591	0,595
Креатинин, мкмоль/л	61,75±2,36	57,49±4,28	62,24±4,08	0,450	0,954	0,591	0,739
АЛТ, Е/л	16,43±2,19	10,68±2,05	16,57±2,73	0,131	0,862	0,107	0,175
АСТ, Е/л	20,40±4,38	14,54±1,05*	21,29±3,57	0,307	0,451	0,071	0,185
Щелочная фосфотаза, Е/л	293,05±31,42	319,00±16,08*	185,47±37,38*	1,000	0,032	0,007	0,020
Глюкоза, ммоль/л	4,25±0,19	4,38±0,16	4,31±0,14	0,624	0,684	0,732	0,844
ПТИ	109,39±1,43	107,73±2,24*	100,91±4,50	0,592	0,042	0,240	0,159
Фибриноген, г/л	4,88±0,25	5,06±0,22	5,92±0,58	0,624	0,116	0,241	0,268
АЧТВ, с	26,59±1,20	25,63±0,76	25,27±1,00	0,378	0,391	0,912	0,599
МНО	0,94±0,01	0,97±0,02	0,90±0,03	0,194	0,293	0,078	0,136
Протромби-новое время, с	10,21±0,09	10,53±0,23	10,91±0,35	0,529	0,092	0,279	0,239

Примечание: *- различия статистически значимы (p<0,05); **(p<0,001).

Таблица 8 – Зависимость содержания показателей крови родильниц с ПМЭ в зависимости от полиморфизма гена ИЛ-10 G1082A.

	ИЛ-10 G1082A			p GG-GA	p GG-AA	p GA-AA	p K-W
	Гомозиготы GG n=12	Гетерозиготы GA n=32	Гомозиготы AA n=6				
ФНОα, pg/ml	7,40±0,59	6,63±0,71*	4,71±0,58	0,131	0,020	0,180	0,065
ИЛ-10 pg/ml	8,80±0,83*	11,67±1,01	6,63±2,05*	0,050	0,606	0,050	0,728
Hb, г/л	107,00±10,00	114,56±4,31	105,33±2,40	0,531	0,606	0,198	0,424
Er, 10^{12}/л	3,51±0,33	4,07±0,13	3,87±0,15	0,121	0,796	0,538	0,297
Le, 10^{9}/л	13,89±1,92	12,04±0,84	18,80±8,78	0,210	1,000	0,655	0,473
Tr, 10^{9}/л	244,33±27,67	293,38±23,27*	417,33±95,43	0,302	0,039	0,118	0,107
Общий белок, г/л	65,25±2,56	63,46±2,38	68,50±3,04	0,854	0,606	0,288	0,612
Билирубин, мкмоль/л	8,33±1,23	11,05±1,30	8,27±0,55	0,224	1,000	0,502	0,439
Мочевина, ммоль/л	4,63±0,30	4,39±0,36	4,60±0,40	0,657	0,895	0,737	0,876
Креатинин, мкмоль/л	70,12±7,74	66,38±3,48*	46,73±3,67*	0,507	0,039	0,019	0,044
АЛТ, Е/л	19,18±4,24	19,67±2,54	14,33±4,48	0,768	0,517	0,341	0,626
АСТ, Е/л	24,12±3,52	18,30±1,62	17,60±6,91	0,121	0,302	0,654	0,265
Щелочная фосфотаза, Е/л	109,38±21,95*	224,06±22,48	209,00±78,77	0,003	0,362	0,823	0,019
Глюкоза, ммоль/л	4,62±0,76	4,55±0,14	4,00±0,29	0,149	0,897	0,122	0,162
СРБ, мг/л	85,62±24,94	61,85±12,17	27,82±25,10	0,417	0,197	0,094	0,195
ПТИ	79,63±6,44	87,51±4,05	69,87±14,24	0,356	0,517	0,179	0,317
Фибриноген, г/л	5,26±0,50	5,20±0,40	4,62±0,50	0,531	0,302	0,655	0,638
АЧТВ, с	29,98±2,09	30,74±0,93	34,07±2,14	0,971	0,302	0,105	0,302
МНО	1,18±0,08	1,06±0,03	1,35±0,15*	0,209	0,302	0,044	0,085
Протромби-новое время, с	13,57±0,79	13,63±0,36	14,30±2,17	0,725	0,897	0,678	0,884
РФМК, мг/дл	6,00	14,33±3,16	24,00±6,92	0,222	0,317	0,383	0,318

Примечание: *- различия статистически значимы (p<0,05); **(p<0,001).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование дает основание сделать следующие ВЫВОДЫ:

1. Анамнестическими факторами риска формирования ПМЭ у женщин являются хронический сальпингоофорит(64,60%, p<0,001; ОШ = 20,98; 95% ДИ: 4,70-93,63), хронический эндометрит (20,35%, p<0,05;ОШ = 6,81; 95%ДИ:0,87-52,91), неспецифический вульвовагинит(34,51%,p<0,05; ОШ = 8,67;95%ДИ:1,12-66,94). Во время настоящей беременности и в родах факторами риска развития ПМЭ являются перенесенные ОРВИ (56,63%, p<0,001; ОШ = 6,87;95%ДИ: 2,21-21,27), анемия

(41,59%, p<0,05; ОШ = 2,84;95%ДИ: 0,99-8,13), многоводие/маловодие (36,28%, p<0,05; ОШ=6,54; 95%ДИ: 1,46-22,2), угроза прерывания беременности (33,62%, p<0,05; ОШ=3,71;95% ДИ:1,04-13,21), запоздалые роды(26,6%,p<0,05; ОШ = 4,15;95%ДИ:0,92-18,70), экстренное кесарево сечение (31,85%, p<0,05;ОШ= 3,42;95%ДИ:0,96-12,20), кровопотеря в третьем периоде родов более 0,5% от массы тела (13,27%,p<0,05; ОШ = 3,67;95%ДИ:0,46-19,19).

2. Микробный пейзаж лохий у родильниц с ПМЭ характеризуется преобладанием условно – патогенной флоры: неферментирующих грамотрицательных палочек (преимущественно Escherichia coli, Klebsiella pneumonia), энтерококков (преимущественно Enterococcus faecalis), стафилококков (преимущественно Staphylococcus aureus, Staphylococcus haemoliticus). Наибольшая чувствительность выделенной микрофлоры определена к амоксициллину - 65,4%, цефтриаксону – 56,7% и имипенему – 55,7%.

3. Ранними (на 3-и сутки после родов) ультразвуковыми маркерами ПМЭ являются : расширение полости матки 13,11±2,31 мм (p<0,05)(ОР =22,78;. 95%ДИ:3,33-155,62(чувствительность 99,0% и специфичность 70,6%) и увеличение объема матки 585,78±23,62мм^3, (p<0,001)(ОР=23,00;.95%ДИ:3,36-157,20) (чувствительность 99,0% и специфичность 72,6%).

4. В группу женщин с прогнозируемым развитием ПМЭ следует отнести пациенток с экспрессией ФНОα на 4 сутки более 6,59 пг/мл (чувствительность 96,3% и специфичность 82,6%) и с экспрессией ИЛ-10 ниже 9,7 пг/мл (чувствительность 89,3% и специфичность 72,6%). Вышеизложенное является резервом ранней диагностики ПМЭ.

5. Послеродовые воспалительные заболевания матки при различных вариантах клинического течения характеризуются неоднородностью цитокинового профиля. У здоровых женщин после родов относительно преобладает противовоспалительный цитокин и соотношение ИЛ-10/ФНОα составляет 2,74±0,31 против 1,24±0,12при всех формах ПМЭ (p<0,01). При легком течении ПМЭ отмечается преобладание ФНОα над ИЛ-10, и соотношение ИЛ-10/ФНОα составляет 0,45±0,05. Тяжелое течение ПМЭ характеризовалось увеличением соотношения ИЛ-10/ФНОα до 2,49±0,32 (p<0,05) за счет увеличения продукции противовоспалительного цитокина.

6. Пациентки с носительством аллельного гена **А** ФНОα относятся к группе высокого риска по развитию послеродовых метроэндометритов (ОШ = 2,95; 95% ДИ: 1,50-5,78). Гомозиготный генотип АА гена ФНОα (G308A) определен только у больных с ПМЭ и у них отмечается самая низкая продукция цитокинов ИЛ-10 (3,52±0,41пг/мл) и ФНОα (5,18±0,38пг/мл) по сравнению с гетерозиготами (p<0,05). Присутствие аллельных гомозиготных вариантов ИЛ-10 (G1082A) ассоциировано с уменьшением продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10: у гомозигот GG (8,8±0,83пг/мл) и у гомозигот АА (6,63±2,05пг/мл) по сравнению с гетерозиготами в основной группе(p<0,05).

7. У родильниц с ПМЭ при генотипе **АА** гена ФНОα(G308A) статистически значимо повышены уровни мочевины, АЛТ, АСТ, щелочной фосфатазы и снижено количество тромбоцитов и СРБ (p<0,05). При полиморфизме гена ИЛ- 10 (G1082A) у родильниц с ПМЭ при различных генотипах, особенно у гомозигот АА и GG, статистически значимо меняется содержание тромбоцитов, креатинина, щелочной фосфатазы (p<0,05). При генотипе **АА** ИЛ-10 (G1082A) отмечены низкие уровни креатинина (46,73±3,67 мкмоль/л) (p<0,05), С-реактивного белка(27,82±25,1 мг/л),

высокие – тромбоцитов (417,33±95,43*10^9/л) (p<0,05), по сравнению с другими генотипами, а при генотипе **GG** ИЛ-10 (G1082A) продукция креатинина повышается в 1,5 раза (70,12±7,74 мкмоль/л), СРБ в 3,0 раза (85,62±24,94 мг/л, (p=0,09), количество щелочной фосфатазы снижается (109,38±21,95 Е/л) (p<0,05).

8. В случаях тяжелого течения ПМЭ установлена положительная коррелятивная связь между ФНОα и СРБ (r=+0,64), между ФНОα и лейкоцитозом (r=+0,77), между ФНОα и содержанием билирубина (r=+0,40), креатинина (r=+0,58)((p<0,01), между уровнем ИЛ -10 и С - реактивного белка (r=+0,63(p<0,05)), между уровнем ИЛ -10 и содержанием фибриногена - отрицательная (r=- 0,53, (p<0,05)).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ:

1. Полученные данные позволяют разработать программу предикции и превенции ПМЭ. Врачам амбулаторного и стационарного звеньев родовспоможения рекомендуется учитывать анамнестические факторы риска формирования ПМЭ и проводить этим пациенткам индивидуальную прегравидарную подготовку (эрадикация возбудителей ИППП, адекватное лечение хронических воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин, санация хронических очагов инфекции). При наступлении беременности у женщин группы высокого риска по развитию ПМЭ в качестве предикции необходимо определить генотип цитокинов ФНО*α*, ИЛ -10.

2. С целью ранней диагностики послеродовых метроэндометритов в группах высокого риска реализации послеродовой инфекции матки рекомендуется определять содержание цитокинов: ФНО*α*, ИЛ -10, а также наиболее значимых биохимических показателей (фибриногена, С-реактивного белка, креатинина, билирубина, АЧТВ, МНО). Нормальными показателями после родов для ФНО*α* можно считать 4,12±0,21пг/мл, ИЛ-10 - 11,31±1,63 пг/мл. При повышении на 4 сутки после родов уровня ФНО α выше 6,59 пг/мл риск возникновения ПМЭ составляет 87% (p < 0,01) .

3. Нормальным соотношением в норме и при легком течении ПМЭ является преобладание ФНО*α* над содержанием ИЛ-10. В случаях тяжелого течения ПМЭ нужно учитывать, что соотношение меняется в сторону увеличения ИЛ-10.

4. У женщин, угрожаемых по формированию гнойно-септических осложнений, рекомендуется проводить бактериологическое и патоморфологическое исследование последа. При развитии ПМЭ необходимо учитывать особенности микрофлоры из полости матки, увеличение доли условно-патогенной флоры и ее антибиотикорезистентность. При наличии высокого риска возникновения эндометрита у женщин после оперативных родов необходимо назначать своевременное персонализированное лечение с учетом выделенной микрофлоры.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективными следует считать исследования, направленные на выявление прогностически значимых иммунологических и генетических маркеров риска развития послеродовых воспалительных заболеваний матки, применимых на этапе прегравидарной подготовки.

Будущие исследования позволят разработать программу предикции, превенции и персонализированной терапии послеродовых метроэндометритов, направленной на предотвращение развития тяжелых форм.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шатунова Е.П.Диагностика послеродового метроэндометрита/ Шатунова Е.П., Линева О.И., Федорина Т.А., Тарасова А.В., Лимарева Л.В., Костина Е.А.// Акушерство и гинекология. –2021. - № 2. - С. 135-140(**Перечень ВАК РФ, Scopus)**.

2. Шляпников М.Е.Эффективность применения деэскалационной ступенчатой комбинированной антибактериальной терапии в комплексном лечении пациенток с тяжелыми инфекционно-воспалительными заболеваниями матки и ее придатков / Шляпников М.Е, Тарасова А.В., Прохорова Л.В.// Вестник медицинского института «Реавиз». – 2018. - № 2 (32).-С. 82-86. (**Перечень ВАК РФ**).

3. Линева О.И. Профилактикагестационных осложнений низкомолекулярным гепарином у женщин с различными клиническими формами тромбофилий / Линева О.И., Давыдкин И.Л., Данилова О.Е., Куртов И.В., Шатунова Е.П., Тарасова А.В.// Акушерство и гинекология. – 2020. - № 8. - С.90-96. (**Перечень ВАК РФ, Scopus)**.

4**.** Шатунова Е.П.Послеродовые воспалительные заболевания матки: клинические и диагностические грани проблемы/ Шатунова Е.П., Линева О.И., Тарасова А.В.,Неганова О.Б.// Российский вестник акушера-гинеколога. - 2021. - Т. 21. - №1. - С. 79-83.(**Перечень ВАК РФ, Scopus)**.

5. Тарасова А.В. Деэслакационная ступенчатая комбинированная терапия фторхинолонами в комплексном лечении пациенток с воспалительными заболеваниями матки и ее придатков/ Тарасова А.В.// Сборник научных работ IX межвузовской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием. - Самара, 2019. - С.365-367.

6. Тарасова А.В. Микробный спектр и антибиотикочувствительность микроорганизмов в посеве из цервикального канала при сочетанных инфекционно-воспалительных заболеваниях в послеродовом периоде / Тарасова А.В., Шляпников М.Е., Прохорова Л.В., НегановаО.Б.// Вестник медицинского института «Реавиз». - 2019. - № 6.- С. 68 - 73.

7. Тарасова А.В. Микробный спектр и антибиотикочувствительность при послеродовых заболеваниях матки / Тарасова А.В., Шатунова Е.П.// Пленум Правления Российского общества акушеров-гинекологов и XIII региональный научно-образовательный форум «Мать и Дитя». - Казань, 2020. - С. 151-152.

8. Тарасова А.В. Оценка микробного пейзажа у родильниц с сочетанными вариантами пуэрперальных инфекционных заболеваний / Тарасова А.В., Шатунова Е.П.// Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием VII Санкт-Петербургский септический форум-2020 Межрегиональная научно-практическая конференция Джанелидзевские чтения. - Санкт-Петербург, 2020. - С. 219.

9. Шатунова Е.П. Клинические и ультразвуковые особенности послеродовых воспалительных заболеваний матки / Шатунова Е.П., Тарасова А.В. ,Кузнецова Л.В., Неганова О.Б// Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием VII Санкт-Петербургский септический форум -2020 Межрегиональная научно-практическая конференция Джанелидзевские чтения. - Санкт-Петербург, 2020. - С. 222-223.

10. Тарасова А.В. Микробный пейзаж и антибактериальная терапия у пациенток с воспалительными послеродовыми заболеваниями матки. / Тарасова А.В. // Сборник тезисов докладов конференции молодых исследователей «Аспиранские чтения - 2020». - Самара, 2020. - С. 184-187.

11. Шатунова Е.П.Особенности течения беременности и родов у ВИЧ-инфицированных./Шатунова Е.П., Неганова О.Б., Никаноров В.Н.,ФилипповаТ.Ю.,Тарасова А.В.// Международная научно-практическая конференция. Актуальные вопросы ВИЧ-инфекции. Охраназдоровья матери и ребенка.-Санкт-Петербург-2020. – С. 202-203.
12. Тарасова А.В. Диагностические критерии инфекционно-воспалительных заболеваний матки в послеродовом периоде /Тарасова А.В., Шатунова Е.П. // XV Международный конгресс по репродуктивной медицине. -Москва,202.-С. 168.
13. Тарасова А.В. Клинико-микробиологическая характеристика послеродовых заболеваний малого таза / Тарасова А.В. // XV Международный конгресс по репродуктивной медицине (конкурс работ молодых ученых).-Москва, 2021.-С. 64.
14. Тарасова А.В.Клинико-морфологическая характеристика послеродовых инфекционно-воспалительных заболеваний матки./Тарасова А.В., Шатунова Е.П.,ЛаринаТ.В. // 1 Всероссийская научно-практическая конференция «Современная патология:опыт, проблемы, перспективы» научные чтения, посвященные памяти профессора Николая Федоровича Шляпникова. -Самара,2020.-С.166-170.
15. Шатунова Е.П.Морфологические особенности рубцов на матке после абдоминального родоразрешения /ШатуноваЕ.П, ИльяшевскаяР.Я., КостинаЕ.А., ТарасоваА.В., Полетаева С.В.//1 Всероссийская научно-практическая конференция «Современная патология:опыт, проблемы, перспективы» научные чтения, посвященные памяти профессора Николая Федоровича Шляпникова.-Самара, 2020.-С.185-188.
16. Тарасова А.В. Роль анамнестических данных и показателей цитокинов в оценке тяжести послеродового метроэндометрита. / Тарасова А.В., Шатунова Е.П.// XXII Всероссийский научно-образовательный форум Мать и Дитя. -Красногорск, 2021. 29сентября – 1 октября 2021 года. - С. 40.

Рационализаторское предложение

1. Рационализаторское предложение №139 от 16.09.2019г. «Ступенчатая терапия ципрофлаксацином и метронидазолом у больных с сочетанными инфекционно-воспалительными заболеваниями матки и венозной системы таза в послеродовом периоде», выданное медицинским университетом «Реавиз».

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

ГВЗ – гнойно-воспалительные заболевания

ИЛ-10-интерлейкин-10

ОРВИ – острая респираторная вирусная инфекция

ПМЭ – послеродовый метроэндометрит

ССВР -синдром системной воспалительной реакции

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФНО-α -фактор некроза опухоли α

ЭХ и СТО-эндоскопическая хирургия и симуляционно-тренинговое обучение