

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
федеральное государственное бюджетное учреждение
**«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

БУЛАТОВА ЮЛИЯ СЕРГЕЕВНА

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПО
УРОВНЯМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ
МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У ЖЕНЩИН С
УГРОЖАЮЩИМ И ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ**

3.1.4. акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук,

Тетруашвили Нана Картлосовна

кандидат биологических наук,

Высоких Михаил Юрьевич

Москва – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРИВЫЧНЫХ ВЫКИДЫШЕЙ И РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ.....	13
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Критерии включения и исключения пациенток в группы исследования.....	34
2.2. Специальные методы исследования	39
2.3. Статистическая обработка материала.....	41
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
3.1. Клиническая характеристика женщин, включенных в исследование.....	43
3.2. Результаты клинико-лабораторного обследования женщин на ранних сроках беременности	51
3.3. Течение и исходы беременностей у пациенток на сроках до 22 недель	54
3.4. Митохондриальные белки микровезикул плазмы периферической крови женщин на ранних сроках беременности.....	59
3.5. Осложнения второго и третьего триместров у беременных исследуемых групп.....	63
3.6. Исходы беременностей у женщин исследуемых групп.....	64
3.7. Анализ течения родов, послеродового периода и состояния новорожденных.....	67
3.8. Прогностическая значимость провоспалительных факторов митохондриального происхождения в зависимости от гестационного срока.....	73

3.9 Анализ содержания ПФМП в плазме крови при преждевременных родах.....	81
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	87
ВЫВОДЫ.....	101
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	105
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Проблема выкидышей и ранних преждевременных родов в современном акушерстве продолжает оставаться актуальной. Реализация детородной функции в старшем репродуктивном возрасте, полиэтиологичность данной патологии, усугубление нарушений с увеличением числа неудач создают предпосылки к формированию синдрома привычной потери плода, который встречается у 3-5 % супружеских пар [4].

На сегодняшний день принято считать, что нарушения таких ранних эмбриональных процессов как инвазия трофобласта и последующая плацентация, ведут к реализации следующих гестационных осложнений таких, как синдром задержки роста плода, преждевременные роды, отслойка плаценты, преэклампсия, что повышает перинатальную и младенческую смертность [6,9,11,19].

Основные функции плаценты включают в себя: модуляцию иммунного ответа матери для предотвращения иммунологической толерантности, газообмен электролитов, продуктов метаболизма и питательных веществ между матерью и плодом, а также синтез и секрецию гормонов, цитокинов и других сигнальных молекул, необходимых для поддержания беременности и обеспечения развития роста плаценты и плода [46,174].

В то время как полноценная плацентация создает необходимые условия для пролонгирования и успешного исхода беременности, нарушение кровообращения в системе мать – плацента – плод, происходящее при отклонении формирования сосудистой сети плаценты от нормы, является ведущим компонентом в патогенезе основных акушерских осложнений [58,106].

Таким образом, обследование, прегравидарная подготовка и ведение начальных этапов беременности у женщин с привычными ранними выкидышами в анамнезе не только предотвращают гестационные

потери, но и способствуют реабилитации репродуктивной функции женщины в целом, предупреждая акушерские осложнения во втором и третьем триместрах беременности.

Процесс формирования новых сосудов имеет место не только в плаценте. Установлено, что для нормальной инвазии, имплантации и плацентации необходимо наличие хорошо васкуляризированного, рецептивного эндометрия. Ангиогенез сосудов эндометрия, обеспечивающий условия адекватной имплантации эмбриона, определяется циклическими изменениями эндометрия в течение менструального цикла [33].

Одним из триггеров невынашивания беременности, являются латентно и хронически протекающие инфекционно-воспалительные заболевания органов малого таза, приводящие к нарушению рецептивности эндометрия у пациенток с большим паритетом и внутриматочными вмешательствами. Известно, что развитие воспалительной реакции может происходить в том числе при отсутствии инфекции, например, после проведения внутриматочных манипуляций, сопровождающихся повреждением клеток и попаданием клеточного содержимого во внеклеточное пространство.

В 2014 г коллективом под руководством R.Romero проведено определение клинической значимости асептического воспаления в амниотической жидкости при преждевременных родах, проходящего в отсутствие инфекционных агентов бактериального происхождения [146]. Было показано, что помимо изученного ранее инфекционного генеза внутриутробного воспаления (вызванного бактериями и вирусами), существует иной тип воспаления, при котором некроз или клеточная смерть другого происхождения индуцирует высвобождение медиаторов, гиперактивирующих иммунную систему. Раннее причины асептического воспаления у пациенток при преждевременных родах (преждевременном излитии околоплодных вод или преждевременном начале родовой деятельности) не были определены. В одном из возможных вариантов

воспалительного процесса, происходит высвобождение эндогенных индукторов, называемых аларминами, определяемых в амниотической жидкости при внутриутробном воспалении [132].

К группе аларминов R.Romero и коллеги относят как белковые, так и небелковые молекулы, обладающие способностью индуцировать иммунный ответ. В частности, это белки семейства S100, группы высокой мобильности (HMGB1 или амфотерин), теплового шока (HSP) и межклеточного матрикса, образующиеся в результате повреждении тканей. К аларминам небелкового типа относятся аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), мочева кислота, гликозамингликаны и гиалуронаны межклеточного матрикса. Наконец, как фрагменты нуклеиновых кислот, так и отдельные нуклеотиды/нуклеозиды могут служить в качестве сигналов «опасности», активируя пуринергетические рецепторы.

В последнее время из широкого спектра аларминов особое внимание исследователей привлекают так называемые провоспалительные факторы митохондриального происхождения (ПФМП или mitoDAMPs в зарубежной литературе). Причины этого кроются в том, что митохондрии - органеллы, выполняющие в клетке целый ряд критически важных функций от обеспечения энергией до индукции запрограммированной клеточной гибели, в своем эволюционном прошлом происходят от симбиотических бактерий. При этом многие молекулярные компоненты митохондрий сохранили сходство с бактериальными структурами, в связи с чем распознаются иммунной системой организма как чужеродные агенты. Так, при травме эндометрия компоненты разрушенных митохондрий, сходные по своей структуре с компонентами бактериальных клеток (например, формилированные пептиды и мтДНК), попадают в кровь. Иммунная система, реагируя на них как на бактериальную инфекцию, вызывает генерализованный ответ воспалительного характера [61].

С другой стороны, именно митохондрии, степень интактности их структуры и функций, в значительной степени определяют способность клеток плаценты выполнять свою роль при беременности. Они играют ведущую роль в энергообеспечении плаценты, рецепции и генерации сигнальных молекул, депонировании внутриклеточного кальция, реализации механизмов запрограммированной гибели клеток [20,152]. Также во внутренней мембране митохондрий локализуется цитохром P450, участвующий в стероидогенезе - преобразование холестерина в прегненолон – предшественник прогестерона, играющего ключевую роль в успешном течении и исходе беременности [123]. Плацентарный биосинтез прогестерона на уровне, адекватном нормальному течению беременности, таким образом, тоже является функцией состояния митохондрий клеток плаценты. Как уже отмечалось выше, ПФМП, присутствующие в мембранах митохондрий, в случае экспозиции за пределы клетки, становятся сигнальными факторами воспаления. Известно, что повреждение синцитиотрофобласта приводит к высвобождению ПФМП, которые могут вызвать в том числе генерализованные изменения сосудов с помощью механизмов, к настоящему времени не до конца изученных, но косвенным образом связанных с активацией эндотелия [171]. В ответ на разрушение синцитиотрофобласта и неполноценную плацентацию развивается быстрая реакция организма матери, направленная на завершение беременности и в дальнейшем вызывающая толерантность иммунной системы женщины к партнеру.

Таким образом, в крови существует набор маркеров, достаточный для того, чтобы провести их анализ у женщин с привычным выкидышем в сравнении с физиологической беременностью. Выявление различий в уровне ПФМП у данных групп женщин позволит уточнить механизм, лежащий в основе привычных потерь беременности, оценить эффективность

проводимой терапии, направленной на пролонгирование гестации и прогнозировать акушерские осложнения.

Все вышеизложенное определило **цель настоящего исследования**:
Оптимизация программы ведения беременностей у женщин с угрожающим и привычным выкидышем на основании раннего прогнозирования гестационных осложнений и оценки эффективности проводимой терапии по уровням провоспалительных факторов митохондриального происхождения.

Задачи исследования:

- 1) Провести анализ нарушений репродуктивной функции у женщин с угрожающим и привычным выкидышем на основании комплексного клинико-лабораторного обследования.
- 2) Определить содержание провоспалительных факторов митохондриального происхождения (ПФМП) в периферической крови женщин в динамике беременности, осложненной угрозой прерывания, при привычном выкидыше и при физиологической беременности.
- 3) Провести оценку эффективности раннего прогнозирования осложнений и исходов беременностей у женщин с угрожающим и привычным выкидышем на основании определения содержания ПФМП.
- 4) Оценить клиническую значимость определения ПФМП у женщин с угрожающим и привычным выкидышем для оптимизации ведения беременности и оценки эффективности проводимой терапии.
- 5) Разработать алгоритм обследования и терапевтических мероприятий у женщин с угрожающим и привычным выкидышем с учетом динамики ПФМП в плазме периферической крови.

Научная новизна

Определены уровни ПФМП, характерные для неосложненной беременности и пациенток с привычным и угрожающим выкидышем, что позволило расширить понимание патогенетических механизмов, лежащих в основе нормального и нарушенного воспалительного ответа при беременности и патологии плацентации.

Впервые проведена комплексная оценка ПФМП в динамике всей беременности на когорте женщин с физиологической беременностью, с угрожающим и привычным выкидышем. Проведенное динамическое определение уровней ПФМП у женщин, начиная с 6-й недели беременности до родоразрешения с интервалом 4 недели позволило определить критерии оценки успешности процессов имплантации/плацентации и эффективности проводимого лечения.

Практическая значимость исследования

На основании проведенных исследований определены наиболее информативные диагностические маркеры для мониторинга течения беременности, начиная со срока 6 недель. Согласно полученным данным, низкие уровни ПФМП являются предикторами самопроизвольного прерывания беременности до 12 недель. Показано, у женщин с начавшимся выкидышем при проведении терапии происходит повышение уровней ПФМП к сроку 12 недель беременности, что является положительным прогностическим признаком и коррелирует с пролонгированием беременности. Избыточный провоспалительный ответ, выражающийся в бесконтрольном росте содержания ПФМП коррелирует с развитием плацентарной недостаточности, СЗРП, элективным досрочным родоразрешением.

В результате анализа осложнений и исходов беременностей разработана модель прогнозирования ранних потерь беременности и преждевременных родов, обусловленных плацентарной недостаточностью. Внедрение предложенного алгоритма позволит прогнозировать осложнения и исходы беременностей и оценить эффективность проводимой терапии.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. При угрожающем и привычном выкидыше определение низких уровней ПФМП в периферической крови женщин в сроке 6 недель позволяет прогнозировать ранние гестационные потери, как минимум, за 2 недели до их реализации.
2. Реакция материнского организма на инвазию плаценты проявляется высокими уровнями ПФМП в периферической крови женщин с привычным выкидышем в сроке 12 недель, с угрожающим выкидышем - в 18 недель, при физиологической беременности - в 25 недель. Избыточный провоспалительный ответ на ПФМП с 15 по 18 неделю беременности предрасполагает к формированию плацентарной недостаточности, задержке роста плода и элективному досрочному родоразрешению.
3. Нормализация уровней ПФМП в динамике беременности у женщин с угрожающим и привычным выкидышем свидетельствует об эффективности проводимой терапии и может служить благоприятным прогностическим признаком пролонгирования беременности.

Личный вклад автора

Автором проведена систематизация литературных данных по теме диссертации, разработана анкета для сбора анамнеза, проведен анализ клинико-анамнестических данных и результатов обследования 132 женщин в проспективном исследовании, соответствующих критериям включения в исследование. Автор лично участвовал в ведении беременности и родоразрешении женщин, включенных в исследование. Автором осуществлялись: забор, подготовка, хранение биологического материала на преаналитическом этапе, участие в молекулярно-биологических исследованиях. Анализ, статистическая обработка полученных данных проведены автором самостоятельно в соответствии с правилами и обеспечивают достоверность результатов и сформулированных выводов. Написание и публикация результатов выполнены автором лично.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, а именно пунктам 1, 2, 3, 4.

Апробация диссертации

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ России в 26 декабря 2019 г.

Апробация диссертационного материала

Результаты данной диссертационной работы представлены на XVII, XVIII, XX, XI Всероссийских научно-образовательных форумах «Мать и дитя» (2016, 2017, 2019, 2020, 2021 гг.), региональном XII научно-образовательном форуме «Мать и дитя» 2019, I Национальном Конгрессе с международным участием «Лабораторные технологии в репродуктивной медицине и неонатологии: от науки к практике» 2019 г. Результаты работы доложены на международных конференциях: «Preterm birth international collaborative (prebic) annual meeting» 19-22.04.2018 г; 29.09.2018

Внедрение результатов работы в практику

Основные рекомендации, вытекающие из результатов исследования, используются во 2-м отделении акушерском патологии беременности при обследовании и лечении супружеских пар с привычными потерями плода

Публикации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, все в рецензируемых научных изданиях.

Структура работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, изложена на 125 страницах компьютерного текста. Работа содержит 21 таблицу и 27 рисунков. Библиографический указатель включает 174 литературных источника, из них 38 отечественных и 136 иностранных авторов.

Глава 1

ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРИВЫЧНЫХ ВЫКИДЫШЕЙ И РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

Обзор литературы

Частота самопроизвольных выкидышей составляет от 15% до 20% от числа всех желанных беременностей [74,101]. Причины спорадического самопроизвольного выкидыша разнообразны и не всегда четко обозначены. При спорадическом выкидыше действие повреждающих факторов носит преходящий характер, не нарушая репродуктивную функцию женщины в будущем. Вместе с тем, в группе женщин, потерявших первую беременность, существует категория пациентов (2-5%), в последующем развивающих симптомокомплекс привычного выкидыша [2,30,37]. Несмотря на многочисленность проведенных исследований, до сих пор нет единого мнения об определении привычного выкидыша. Согласно определению ВОЗ, привычным выкидышем считают три и более последовательные потери беременности [23]. Королевское общество акушеров-гинекологов Великобритании полагает, что привычными можно признать более 3 выкидышей, и даже в том случае, если они не были последовательными, а чередовались с выношенными беременностями [141]. Американское общество акушеров – гинекологов рекомендует начинать обследование при наличии двух потерь беременности, подтвержденных данными ультразвукового исследования или гистологически [41,129]. Европейское общество специалистов по репродукции человека и эмбриологии утверждает, что достаточно двух ранних потерь беременности, чтобы начать обследование и комплекс мер по подготовке к беременности. Необходимость четких определений вытекает из возрастающего риска потерь беременности с

увеличением числа неудач. Так, было показано, что после двух выкидышей риск потери беременности составляет 24,4%, что достоверно отличается от 33,1% после трех самопроизвольных прерываний беременностей [92].

Среди причин как спорадических, так и привычных ранних выкидышей выделяют генетические, анатомические, тромбофилические, инфекционные, эндокринные, иммунологические, идиопатические (неясные) факторы, однако вклад тех или иных нарушений в реализацию патологического процесса различается при случайном и повторяющемся самопроизвольном прерывании беременности.

Актуальность предотвращения привычных потерь беременности обусловлена не только возрастающим риском выкидышей при увеличении числа неудач, но и воздействием осложненного течения беременности на ранних сроках на перинатальные исходы [94].

В настоящее время общепризнана ведущая роль нарушений инвазии трофобласта и последующей плацентации в индукции и манифестации поздних гестационных осложнений, повышающих перинатальную и младенческую смертность: отслойки плаценты, СЗРП, преэклампсии, поздних преждевременных родов.

С другой стороны, беременные с угрожающим и привычным выкидышем составляют группу риска по реализации самопроизвольного прерывания беременности до 22 недель, неоднократных кровотечений во время беременности во II и III триместрах, ранних и очень ранних преждевременных родов, преждевременного излития околоплодных вод до достижения доношенного срока, задержки роста плода. [1,10,31,85].

В течение последних десятилетий проводилось интенсивное изучение патогенетических механизмов нарушения инвазии трофобласта: исследовалась роль металлопротеиназ и их ингибиторов, различных сигнальных молекул, внеклеточной фетальной ДНК, провоспалительных и регуляторных цитокинов, ростовых факторов [14,16,32].

Исследователи многих стран уделяли пристальное внимание роли провоспалительных факторов различного генеза, чаще инфекционного, в развитии акушерской патологии на разных сроках гестации. К настоящему времени сложился определенный консенсус относительно последовательности событий при развитии воспаления инфекционного генеза, а также состава провоспалительных цитокинов, факторов и рецепторов, приводящих к нарушению нормального течения беременности и патологическому состоянию, неблагоприятному как в отношении исхода беременности, так и состояния матери [48]. Известно, что одним из триггеров невынашивания беременности являются латентно и хронически протекающие инфекционно-воспалительные заболевания, приводящие к нарушению рецептивности эндометрия у пациенток с большим паритетом и внутриматочными вмешательствами. Персистируя длительное время, бактериальная инфекция может приводить к изменению антигенной структуры инфицированных клеток за счет собственно антигенов, включаемых в структуру поверхностных мембран, а также образования новых клеточных антигенов, детерминированных клеточным геномом. При этом развивается иммунный ответ на гетерогенизированные аутоантигены, приводящие к появлению аутоантител, который, с одной стороны, оказывает разрушающее действие на клетки собственного организма, с другой стороны, является защитной реакцией, направленной на сохранение гомеостаза [81,97,106]. В случае наступления беременности аутоиммунные реакции и активация инфекции могут приводить к развитию диссеминированного внутрисосудистого свертывания, возникновению локальных микротромбозов в области плацентации с образованием инфарктов и последующей отслойкой плаценты. Таким образом, хроническая бактериальная инфекция у пациенток с привычным выкидышем, длительное время оставаясь бессимптомной, приводит к активации системы гемостаза и иммунитета на локальном уровне,

которые непосредственно участвуют в процессах гибели и отторжения плодного яйца [130].

Международная группа исследователей, возглавляемая профессором Йеном Бросенсом (Jan Brosens) из Школы медицины Уорвикского университета (Великобритания) впервые раскрыла биологический механизм, лежащий в основе привычного выкидыша, объяснив ключевую роль, которую играют в этом процессе клетки-киллеры иммунной системы матери, и обосновала адекватность профилактики повторных потерь беременностей с помощью кортикостероидных гормонов. Работа опубликована в журнале *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* в сентябре 2013 года под многообещающим названием: «New Hope for Women Suffering from Recurrent Miscarriage» [72,166].

О том, что НК-клетки, роль которых заключается в защите от вирусных патогенов, способствуют прерыванию беременности, сообщалось и ранее, но иммунологические механизмы, ведущие к отторжению, до сегодняшних дней не установлены [154, 158].

Хронический воспалительный процесс, который наблюдается у когорты женщин с привычным выкидышем, изначально способствует повышению уровня НК-клеток в эндометрии. При высоком содержании киллерных клеток биосинтез кортизола в период децидуализации нарушается. Кортизол – гормон, выполняющий, в том числе, иммуносупрессивную функцию. При дефиците этого гормона и сопутствующей неадекватной иммуносупрессии уровень НК-клеток еще больше увеличивается. Формируется своеобразный замкнутый круг, который приводит к нарушению основных биохимических процессов в эндометрии, что в свою очередь препятствует нормальному протеканию беременности.

Таким образом, делают вывод авторы, тестирование на уровень НК-клеток в тканях эндометрия показывает, что, в случае превышения нормы, женщина находится в зоне риска по невынашиванию беременности из-за

дефицита кортизола, и ей необходима терапия кортикостероидными гормонами, подавляющими активность иммунной системы. Однако, подобный вывод нельзя считать однозначным, принимая во внимание наличие и других механизмов прерывания беременности у женщин с привычным выкидышем.

Агрессивный иммунный ответ материнского организма на аллоантигены плода развивается в случае отсутствия иммунологической толерантности к ним. Поэтому широкие дискуссии вызывают вопросы механизмов развития толерантности к антигенам плода отцовского происхождения и определения факторов, способствующих нарушениям этого процесса [69,133]. Одной из подобных причин долгое время рассматривали слабый ответ на отцовские антигены вследствие совместимости супругов по системе главного комплекса гистосовместимости (HLA), что, по мнению некоторых исследователей, приводило к развитию привычных выкидышей [28,30,84].

В основе реализации механизмов толерантности рассматривалось участие различных типов клеток, однако ведущая роль, по всей видимости, принадлежит Т-клеткам с фенотипом CD4⁺CD25⁺ и внутриклеточной экспрессией фактора Foxp3 - Т-регуляторным клеткам (Трег) [71,172]. Это уникальная субпопуляция клеток, обладающих специфической супрессорной активностью. Т-регуляторные клетки играют критическую роль в периферической толерантности, в подавлении аутоиммунитета и реакции отторжения трансплантата [71,135]. Показано, что во время беременности наблюдается динамика Трег-клеток, заключающаяся в увеличении их доли среди CD4⁺-клеток периферической крови и децидуальной оболочки матки в течение первых недель беременности и во втором триместре и уменьшении в послеродовом периоде [117,148]. Многие авторы дефицит Трег-клеток связывают с развитием привычного выкидыша [171].

Другие клеточные иммунные механизмы также, вероятно, играют важную роль в развитии привычного выкидыша. Например, дефицит супрессорных клеток с фенотипом CD3-CD8⁺ и повышенная активность макрофагов рассматривается как один из возможных механизмов прерывания беременности [168].

В последние годы, значительный вклад в формирование правильного ответа иммунной системы матери на антигены отцовского происхождения отводят клеткам CD200⁺. Как известно, поверхностный маркер CD200 обладает иммуносупрессивными свойствами и экспрессируется на Т- и В-лимфоцитах, дендритных клетках, а также клетках трофобласта и эндотелия. В эксперименте на животных было наглядно показано, что блокада этого маркера *in vivo* вызывает выкидыши у беременных самок [63]. При взаимодействии CD200 с рецепторами NK-клеток, дендритных клеток в них происходит синтез индоламиндиоксигеназы. Активированные NK-клетки индуцируют миграцию Т-регуляторных клеток и способствуют формированию иммунологической толерантности благодаря продукции трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) [57,68,90]. В группе женщин, беременность которых закончилась родами, число CD200-позитивных клеток среди введенных лимфоцитов было существенно выше, чем у женщин, беременность которых закончилась выкидышем [63].

Таким образом, иммунологические маркеры, которые могли бы быть связаны с аллоиммунным генезом привычного выкидыша, указывают на возможность нарушений процессов распознавания аллоантигенов и формирования толерантности. Поэтому способ коррекции аллоиммунных нарушений рассматривается с точки зрения изменения состояния иммунного реагирования, то есть с точки зрения применения иммуномодулирующей терапии.

Исследования последних лет показали, что эндометрий женщин с привычным выкидышем отличается от эндометрия фертильных женщин в

том числе составом провоспалительных факторов – IFN- γ , IL-12, IL-18 (достоверно повышены в тканях и крови женщин с ПВ), тогда как другие факторы - MIF и LIF достоверно ниже, чем у фертильных женщин [106].

Другие авторы исследовали состав инфламмасом эндометрия у женщин с ПВ (2016), в результате чего установлено, что повышена экспрессия протеина ASC, инфламмасом NALP-3, повышена активация каспазы -1, уровней IL-1 β и IL-18 [39,107].

Тем не менее, поиск маркеров воспаления в периферической крови остается актуальной задачей в связи с необходимостью неинвазивного определения интенсивности происходящих изменений.

Нельзя не отметить значимость воспалительного компонента в развитии иммунотолерантности к антигенам полуаллогенного плода при нормальном течении беременности на ранних сроках.

При определенных условиях избыточный характер таких реакций может оказывать негативное воздействие на течение гестационного процесса и приводить к угрожающему выкидышу и ранним потерям беременности [73,86].

Известно, что развитие воспалительной реакции может происходить и при отсутствии бактериальной инфекции, например, после проведения внутриматочных вмешательств с нанесением раневого повреждения тканей при операции (рис.1).

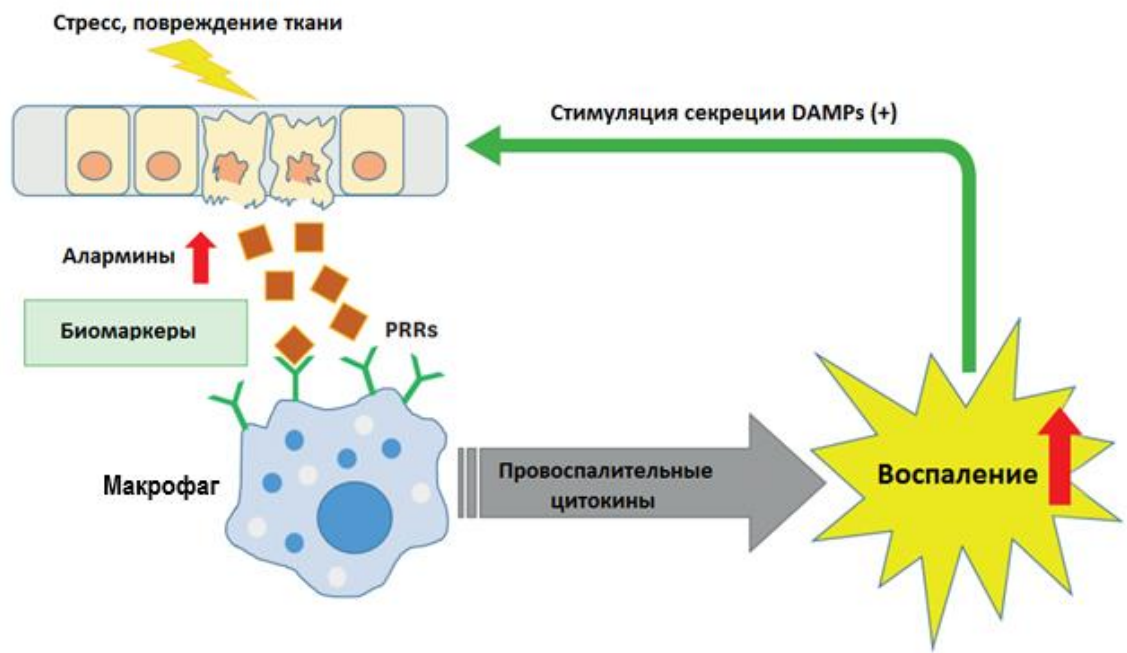


Рисунок 1. Схема формирования петли положительной обратной связи при асептическом воспалении и продукции аларминов/DAMPs.

До сих пор причины асептического воспаления у пациенток при преждевременных родах или преждевременном излитии околоплодных вод не были определены. В одном из возможных вариантов инфекционного процесса, вероятно, происходит высвобождение определенных эндогенных индукторов, называемых аларминами, найденных в амниотической жидкости при внутриутробном воспалении [54]. Клиническая значимость асептического воспаления при преждевременных родах была определена в работе, проведенной R.Romero с соавт. (2014) [118]. Оказалось, что при преждевременном излитии околоплодных вод и преждевременных родах частота асептического внутриутробного воспаления была статистически выше, чем воспалительного процесса, обусловленного микробной инфекцией. Преждевременные роды у женщин с асептическим внутриутробным воспалением были отмечены в тех же гестационных сроках, сопровождались острыми воспалительными изменениями в плаценте и неблагоприятными неонатальными исходами с той же частотой, что и у

женщин с воспалением, обусловленным микроорганизмами. Так, беременные мыши с асептическим воспалением и высокими концентрациями маркера асептического воспаления белка группы высокой мобильности HMGB1 (8.55 ng/mL) родили в более ранние гестационные сроки, чем мыши с низким уровнем HMGB1 в амниотической жидкости ($p=0.02$) [115].

Авторы исследования приходят к выводу, что алармины в случаях асептического внутриутробного воспаления являются сигнальными маркерами преждевременных родов [61].

Таблица 1.

Основные типы аларминов

Алармин	Класс соединений	Исходная локализация	Рецептор	Источник
HMGB1	Белки	Ядро	TLR2, TLR4, RAGE	[82]
S-100	Белки	Цитозоль	TLR2, TLR4, RAGE	[82]
HSP90	Белки	Цитозоль	TLR2, TLR4, CD91	[161]
Biglycan,	Белки	Внеклеточный матрикс	TLR2, TLR4, NLRP3	[65]
Tenascin	Белки	Внеклеточный матрикс	TLR4	[65]
Heparan sulfate	Углеводы	Внеклеточный матрикс	TLR4	[65]
Hyaluronic acid	Углеводы	Внеклеточный матрикс	TLR2, TLR4, NLRP3	[65]
Fibrinogen	Белки	Плазма крови	TLR4	[76]
Uric acid	Азотистое основание	Цитозоль	NLRP3, P2X7	[167]
ATP	Азотистое основание	Цитозоль	P2X7, P2Y2	[69]
Syndecans	Белки	Мембрана клетки	TLR4	[65]

Calreticulin	Белки	Эндоплазм. ретикулум	CD91	[65]
mtDNA	Нуклеиновая кислота	Митохондрии	TLR9	Hauser, 2010
TFAM	Белки	Митохондрии	RAGE	Hauser, 2010
Formyl peptide	Пептиды	Митохондрии	FPR1	Hauser, 2010
mROS (митоАФК)	Свободные радикалы	Митохондрии	NLRP3	Hauser, 2010

Интересно, что в большинстве случаев ход такого асептического воспаления практически неотличим от воспаления инфекционного генеза как по молекулярному составу, так и по последовательности событий. Поиск триггеров асептического воспаления привел исследователей из разных стран к анализу ПФМП [171]. Как уже упоминалось ранее, причины этого кроются в бактериальном происхождении митохондрий, в результате симбиогенеза эволюционировавших в направлении редукции собственного генома и белок-синтезирующего аппарата бактерий, что сопровождалось утратой целого ряда функций автономных организмов [51,59]. В рамках описания возможных механизмов фенототической гибели организма (при старении, тяжелых системных заболеваниях и др.) или полиорганной недостаточности ранее уже рассматривался вопрос о патогенной роли ПФМП [170], которые могут высвобождаться в кровеносное русло, вызывая иммунный ответ, равноценный ответу на целые бактерии и их компоненты. Этот иммунный ответ (септический в случае бактерий и сепсис-подобный в случае высвобождения фрагментов митохондрий [45] может быть причиной различных системных изменений, вплоть до гибели организма путем фенотоза) [114]. Ранее было высказано предположение, что именно ПФМП являются тем триггером, который в большом числе случаев запускает процессы программированной гибели клеток, дисфункции тканей и полиорганную недостаточность [27].

Значение интактного состояния митохондриального аппарата клеток плаценты трудно переоценить. Окислительное фосфорилирование (ОФ), происходящее в митохондриях, является фундаментальной составляющей аэробного метаболизма, а его достаточный уровень в плаценте - важным фактором эмбрионального и постнатального развития. Эффективность переноса электрона протеолипидами внутренней мембраны митохондрий и окислительного фосфорилирования в значительной степени зависит от уникального фосфолипида кардиолипина, расположенного в клетке только во внутренней мембране митохондрий. Этот фосфолипид, за счет своей структуры, определяемой комбинацией полиненасыщенных жирных кислот в его составе поддерживает функциональную активность и структурную целостность протеолипидных комплексов цепи переноса электронов.

Известно, что помимо полного восстановления кислорода до воды, в дыхательной цепи имеется возможность образования продуктов неполного восстановления кислорода, в частности супероксид-аниона, индуцирующего каскад реакций образования различных соединений, объединяемых условным названием «активные формы кислорода» или АФК, которые способны вызывать перекисное окисление липидов и белков в мембранах митохондрий, приводящее к нарушению работы электрон-транспортной цепи и других функций этих органелл (рис.2).

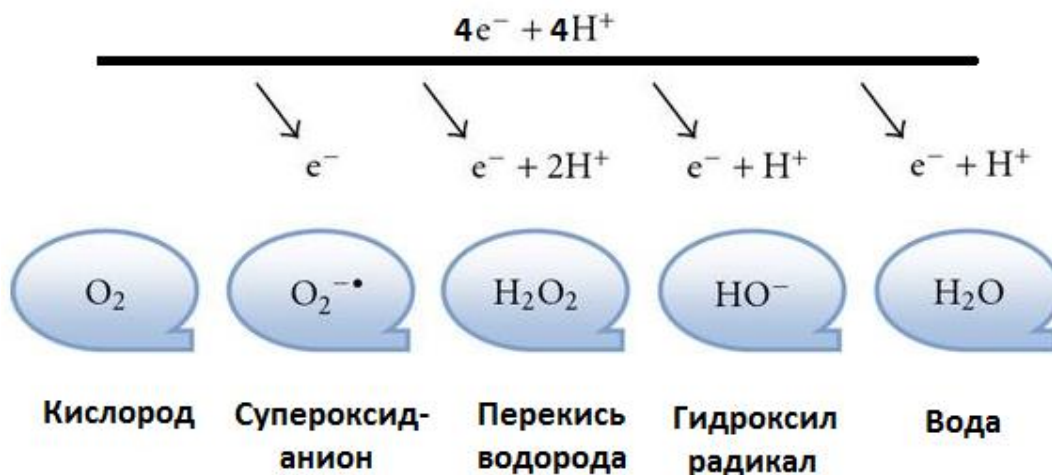


Рисунок 2. Схема возможных путей восстановления молекулы кислорода с образованием различных активных форм.

При этом, кардиолипин, обладающий двойными связями в составе своих жирных кислот, является приоритетной мишенью свободнорадикального повреждения при повышении уровня продукции АФК в результате дисбаланса про и антиоксидантных процессов по следующему механизму, представленному на рисунке 3. Образующиеся при этом продукты перекисного окисления, такие как малоновый диальдегид и различные жирные альдегиды обладают выраженной токсичностью и их накопление приводит к инактивации белков или снижению их функциональной способности, что является ранее описанным патогенетическим фактором развития ряда патологий при беременности, опосредованным митохондриальной дисфункцией в условиях окислительного стресса [100,116].

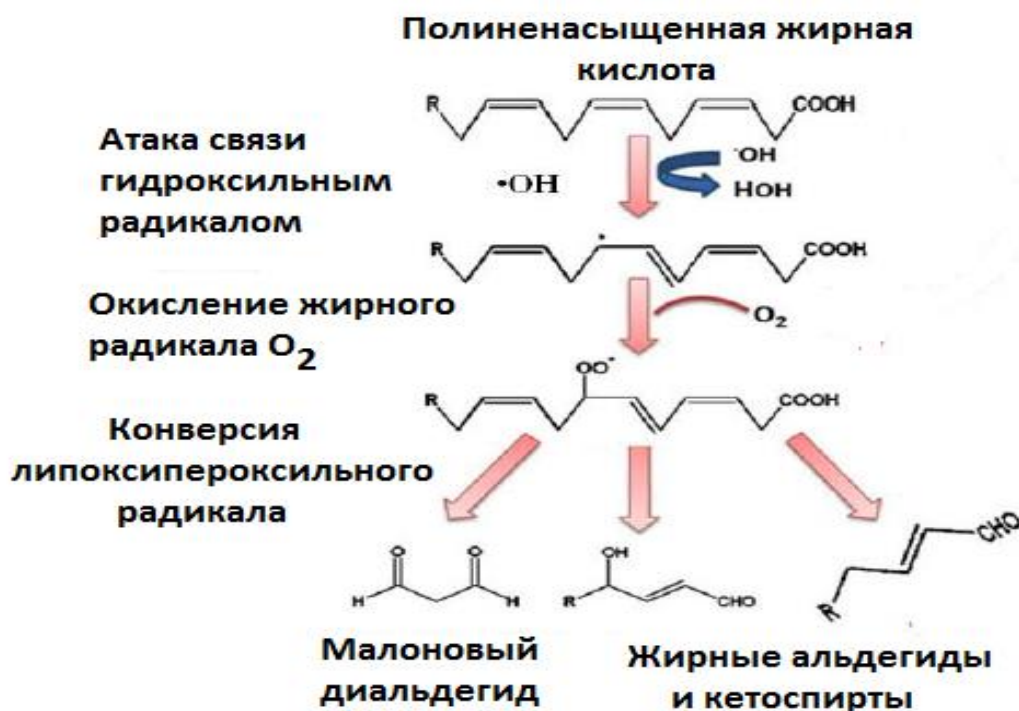


Рисунок 3. Схема образования продуктов перекисного окисления при повреждении кардиолипина молекулами АФК

Кроме того, АФК способны инициировать повреждение структуры мтДНК, приводя к изменениям в митохондриальном геноме и накоплению вторичных мутаций, что может усугублять дефекты дыхательных ферментов и увеличивать окислительный стресс в митохондриях [64]. Наконец, внутриклеточный окислительный стресс митохондриального происхождения способствует высокому уровню апоптоза во время митотических делений клеток, свойственных эмбриогенезу и росту плода. Вышеописанные процессы могут приводить к задержке роста плода и рождению маловесных к сроку гестации новорожденных [110].

Таким образом, можно предположить, что при инвазии трофобласта происходит попадание в кровеносное русло матери ПФМП, гомологичных бактериальным инфекционным агентам. При нарушении инвазии трофобласта и избыточном повреждении и гибели клеток синцитиотрофобласта, при попадании в системный кровоток фрагментов митохондрий происходит быстрое развитие реакции отторжения,

направленной на ликвидацию причины циркуляции в крови этих активных провоспалительных агентов. Недавно было показано, что ПФМП играют ведущую роль в развитии целого ряда заболеваний, тогда как снижение уровня этих факторов в крови приводит к купированию последствий патологического состояния [83,155].

Как уже отмечалось выше, ПФМП - это собирательное название для различных компонентов (фрагментов) митохондрий. При разрыве мембран высвобождаются протеолипиды, связанная с ними мтДНК и белки матрикс митохондрий, а также компоненты межмембранного пространства. При этом следует дифференцировать данную собирательную группу ПФМП от общего пула факторов асептического воспаления, ассоциированных с повреждениями тканей и клеток, таких как, например, фрагменты ДНК, ядерные белки семейства HMGB1 и др. (таблица 1). Установлено, что липиды и белки (например, про-апоптотические белки цитохром С, белок р66, апоптоз-индуцирующий фактор AIF, а также кардиолипид и его окисленные формы), присутствующие в норме только в митохондриях, при попадании за пределы клетки могут выполнять роль индукторов воспаления [103,146]. Особый интерес представляют нуклеозиды и пуриновые нуклеотиды, попавшие во внеклеточное пространство при нарушении интактности клеток, которые также могут служить в качестве сигналов «опасности», активируя пуринергетические рецепторы и рецепторы типа P2X1 и P2Y1-12 на поверхности тромбоцитов (17,44).

Интересно, что для активации пуринергических рецепторов на тромбоцитах и эритроцитах достаточно давно была показана роль аденозинтрифосфата (АТФ), в основном продуцируемого митохондриями в условиях нормоксии, определяемой адекватным формированием зоны плацентации и сосудистой сети плаценты. Так, известно, что тромбоциты служат источником АТФ в периферической крови, а аденозиндифосфат (АДФ) – продукт гидролиза АТФ, конкурирует с последним за связывание с

вышеуказанными рецепторами, приводя к обратимому ингибированию сигнального каскада, опосредованного флюктуациями концентрации пуриновых нуклеотидов в крови [107]. В этом плане интригующая возможность активации такого каскада представляется при взаимодействии ПФМП, содержащих фрагменты митохондриальных мембран с АТФазой, быстро гидролизующей АТФ до АДФ с тромбоцитами, являющимися источниками АТФ. Локализация данного процесса в зоне инвазии, скорее всего, приведет к активации каскада свертывания и местного воспаления с участием клеток иммунной системы, что резко повысит вероятность гибели инвазирующего трофобласта в результате индукции программированной клеточной гибели в условиях продукции активных форм кислорода стимулированными лейкоцитами. Ранее было показано значение такого каскада событий для развития преэклампсии. В настоящее время значительный интерес исследователей сфокусирован на изучении этого явления при ранних потерях беременности [111]. Наконец, в работе С.Salomon (2015) было установлено, что в составе плацентарных микровезикул, являющихся основными переносчиками ПФМП в крови, методами протеомного анализа обнаруживаются компоненты митохондриальной АТФазы, что подтверждает нашу гипотезу о возможности активации системы пуриnergических рецепторов и гидролиза тромбоцитарного АТФ [75] при взаимодействии с ПФМП. Нарушение функций митохондрий клеток сосудов вследствие повышения в них уровня активных форм кислорода при активации лейкоцитов и тромбоцитов, дисфункция электрон-транспортной цепи, накопление поврежденных митохондриальной ДНК, вызывает гибель клеток эндотелия, активацию матриксных металлопротеиназ, рост сосудистых гладкомышечных клеток и их миграцию в интиму, экспрессию молекул адгезии и окисление липопротеинов низкой плотности.

Среди многих других белков митохондрий, продукт ядерного гена OPA1 – многофункциональный митохондриальный белок, является критично важным для поддержания этих клеточных органелл в интактном состоянии. Активность OPA1 (отщепление фосфата от гуанозинтрифосфата) значительно возрастает при взаимодействии с фосфолипидными мембранами, особенно с кардиолипином, наиболее уязвимым компонентом митохондрий при окислительном стрессе [49]. При этом, OPA1 абсолютно незаменим в таком процессе, как формирование крист – системы внутренних митохондриальных мембран, определяющих функциональную состоятельность митохондрий как энергопреобразующих мембран. Кроме того, этот белок управляет слиянием/делением митохондрий, критичным для преодоления стрессовых условий и сохранения энергобаланса клетки (рис.4). Наконец, OPA1 контролирует процесс апоптоза – программируемой клеточной смерти: отщепление фрагмента OPA1 протеазой и отделение его от мембраны митохондрии ассоциировано с фрагментацией митохондрий, выбросом проапоптического сигнала – цитохрома C и активацией апоптических протеаз – каспаз [119].

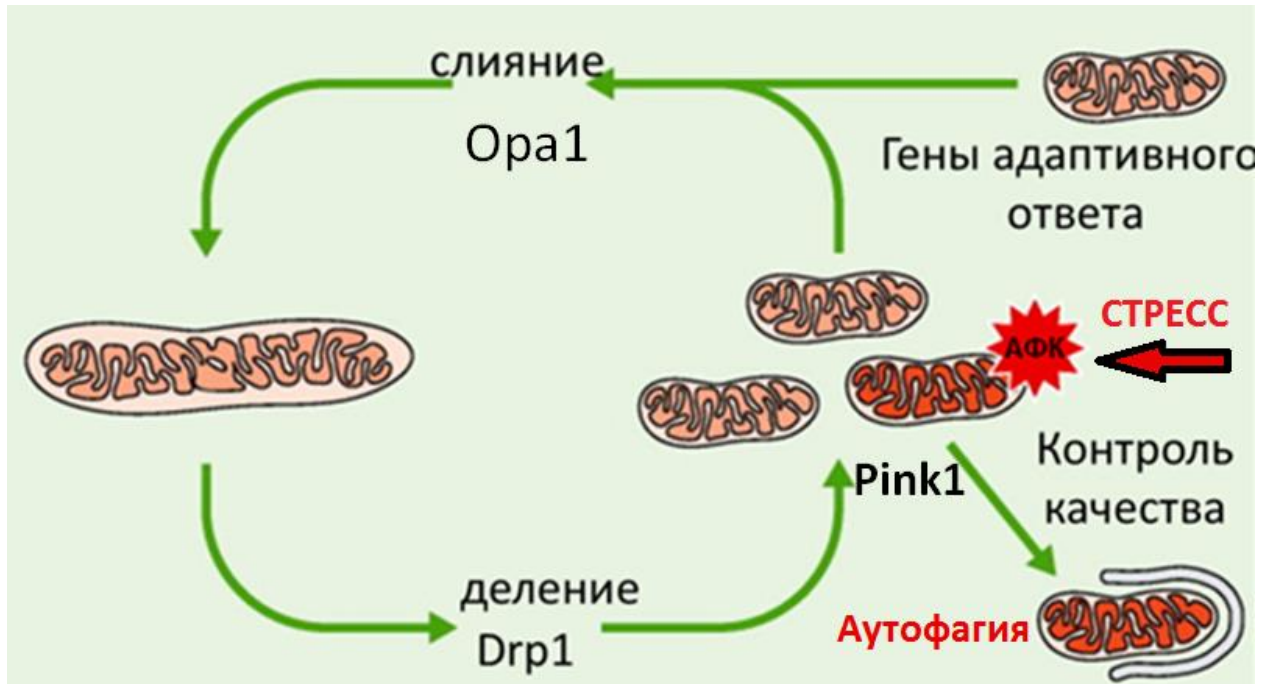


Рисунок 4. Восстановление целостности митохондриального аппарата при ответе на стрессовое воздействие контролируется белками слияния и деления OPA1 и DRP1

Наконец, С – концевой домен OPA1 участвует в репликации и распределении ДНК митохондрий - делеция одного из экзонов в этом домене приводит к нестабильности митохондриального генома, дисфункции митохондрий, апоптотической гибели клеток [120]. Ранее было показано, что митохондриальная дисфункция, ассоциированная с нарушением экспрессии OPA1 приводит к снижению адаптивного ответа у больных с преэклампсией [111].

Регуляторные системы поддержания гомеостаза митохондрий включают в себя не только слияние, но и деление, а также элиминирование отобранных некачественных митохондрий посредством аутофагии этих органелл. Селекции подвергаются митохондрии с низким мембранным потенциалом, неспособные эффективно окислять субстраты и синтезировать АТФ, а также выполнять другие функции, например, регулировать внутриклеточный кальций, что было ранее показано для преждевременных

родов [78]. Таким образом, вследствие процессам осуществляется «контроль качества» митохондрий, который обеспечивается поддержанием динамического равновесия слияния и деления органелл в ответ на клеточные сигналы, в том числе стрессового типа [50,77,157,162].

Важным регулятором митохондриального деления является белок DRP1 (dynamin related protein 1, продукт гена DRP1) (рис.4). При олигомеризации этот белок формирует стягивающееся кольцо вокруг органеллы и обеспечивает ее фрагментацию [66]. Ранее было показано, что изменение соотношения белков слияния и деления митохондрий определяет развитие митохондриальной дисфункции у пациентов с преэклампсией [56]. Однако для пациентов с прерываниями беременности в анамнезе такие данные отсутствуют. В то же время, само влияние дисфункции митохондрий на ранние этапы гестации, включая инвазию трофобласта, состояние синцитиотрофобласта и плацентацию в условиях окислительного стресса было недавно продемонстрировано в работе канадских исследователей под руководством профессора Rach [138]. Интересно, что в обратной ситуации, например, при гестационном диабете, характеризующемся избыточным ростом плода и развитием постнатальных метаболических нарушений крупновесных новорожденных, также наблюдается описанный феномен изменения соотношения слияния деления митохондрий – происходит сдвиг в сторону превалирования слияния органелл и снижение отбора дисфункциональных митохондрий, то есть снижение контроля качества [89]. Наконец, известно, что смещение этого равновесия в сторону фрагментации митохондриального ретикулума при дефиците белка OPA1 приводит к снижению такой важной функции митохондрий, как стероидогенез и уменьшению продукции прогестерона клетками трофобласта [121].

Помимо данных белков, обеспечивающих митохондриальный биогенез и адекватное сроку гестации качество данных органелл, важную роль в поддержании структурно-функциональной целостности митохондриального

аппарата клетки играет белок TFAM – фактор активации транскрипции митохондриальной ДНК. Известно, что уровень транскрипции гена этого белка и количество самого белка в клетке и в митохондриях определяется транскрипционным фактором PGC-1 α , интегрирующим сигналы, направленные на активацию митохондриального биогенеза. Интересно, что при гестационном диабете, на фоне нарушения соотношения белков слияния и деления митохондрий, количество TFAM падает, коррелируя со снижением качества митохондрий, причем в данном случае уровень мастер регулятора PGC-1 α также снижается, поскольку его транскрипция находится под контролем микро РНК miR-130b-3p [144]. Интересно, что метформин - эпигенетический регулятор уровня PGC-1 α нивелирует этот эффект у беременных с сахарным диабетом, способствуя подъему не только транскрипционного фактора, но и росту TFAM, улучшению биогенеза митохондрий. Вышеописанные явления определяют нормальное развитие плаценты, успешное течение и благоприятный исход беременности [143].

Однако, этот белок не только связывается с митохондриальной плазмидой и инициирует формирование репликационного комплекса, но и выполняет роль структурного белка, имеющего гистоно-подобную функцию, стабилизируя митохондриальную ДНК также вне репликации.

Особое значение имеет провоспалительная активность комплекса этого белка и митохондриальной ДНК при выходе из митохондрий при их разрушении в условиях окислительного стресса. Хотя роль данного комплекса в индукции воспаления была однозначно показана в работе Edward Janoff и коллег (2016), установивших зависимость уровня продукции антител против CpG островков гиперметилированной ДНК, а также интерферона гамма от количества TFAM в микровезикулах плазмы крови, для акушерских патологий подобных работ ранее не проводилось, что определяет значимость нашего исследования [108].

Для обеспечения энергозатратных процессов слияния и деления, импорта белков в митохондрии, а также репликации митохондриальной ДНК необходим адекватный поток субстратов и метаболитов между митохондриями и цитозолем. Подобный обмен обеспечивается основным каналоформером внешней мембраны митохондрии - белком VDAC1 [165]. Однако, оказалось, что функции этого многоликого белка не исчерпываются контролем транспорта метаболитов через мембраны митохондрий. Помимо контроля над источниками энергии и метаболизмом, белок также регулирует эпигеномные элементы и апоптоз, опосредуя высвобождение апоптотических белков из митохондрий. Апоптотические и патологические состояния, а также некоторые вирусы или фрагменты нуклеиновых кислот вызывают гибель клеток, вызывая избыточную экспрессию VDAC1, опосредованную внутриклеточным ответом на внедрение РНК или ДНК, ведущую к олигомеризации и образованию большого канала внутри гомоолигомера VDAC1. Это приводит к высвобождению из межмембранного пространства таких проапоптотических белков как цитохром с, апоптоз-индуцирующий фактор AIF, PUMA, SMAC/Diablo с последующей индукцией апоптоза. Интересно, что митохондриальная ДНК также может высвободиться через этот мегаканал, что приводит как к индукции воспаления через сборку инфламмасом, так и запускает каскад реакций, приводящий к инициации синтеза интерферона I типа через систему MAVS на поверхности митохондрий. Наконец, этот белок также участвует в перекрестном взаимодействии эндоплазматического ретикулума (ER) и митохондрий, а также в регуляции аутофагии, так как взаимодействие с вышеописанным белком DRP1 происходит через взаимодействие с VDAC1. В целом, расположение во внешней митохондриальной мембране делает VDAC1 идеальным местом для взаимодействия с более чем 100 белками и для управления взаимодействием митохондриальной и клеточной активности посредством ряда сигнальных путей [165]. Стоит подчеркнуть, что несмотря

на имеющиеся работы о содержании этого белка во внеклеточных везикулах при различных патологических состояниях, анализ эффекторного действия VDAC1 не проводился. В то же время, для гомологичных бактериальных белков были показаны эффекты их таргетного воздействия в составе микровезикул на тромбоциты, а также эндотелий сосудов легких и мозга при бактериальном сепсисе [99]. Однако, хотя ранее было показано, что для преэклампсии характерно нарастание уровня этого белка в миометрии [43] для плацентарной ткани и везикулярной фракции плазмы крови такие данные отсутствуют.

Таким образом, исследования по определению целого ряда ПФМП, а также белков, ранее не относимых к этой группе, но являющихся критичными для функционирования митохондрий, у женщин с привычным и угрожающим выкидышем не проводились, в связи с чем заслуживает внимания возможность создания системы оценки индивидуального риска потерь беременности и эффективности проводимого лечения на основании отбора наиболее информативных воспалительных маркеров митохондриального происхождения.

Глава 2

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Критерии включения и исключения пациенток в группы исследования

Все пациентки перед включением в исследование прошли обследование по определенной схеме, состоящей из следующих клинических и лабораторных методов:

- Сбор данных анамнеза (сведения о наследственности, перенесенных ранее заболеваниях, наличии вредных привычек, характер менструаций, число беременностей, особенности их течения, число выкидышей, родов и аборт, наличие осложнений).
- Объективный осмотр (состояния кожных покровов и слизистых оболочек, молочных желез, тип телосложения, степень развития подкожной жировой клетчатки, характер оволосения, определение наличия видимых отеков).
- Гинекологический осмотр (выявление эктопии шейки матки, воспалительные заболевания влагалища и шейки матки, наличие опухолей, осмотр наружных половых органов, влагалищное исследование, осмотр в зеркалах: определение состояние слизистой влагалища и шейки матки).
- Ультразвуковое исследование матки (выяснение жизнеспособности эмбриона (определения сердцебиения на ранних сроках беременности), соответствия развития гестационному сроку, определение характера имплантации/плацентации, диагностика наличия ретрохориальной и / или заоболочечной гематомы).

- Общепринятое лабораторное обследование: анализ крови на ВИЧ, сифилис, гепатиты, группу крови, резус-фактор, клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи.
- Маркеры воспаления (уровень лейкоцитов, С-реактивного белка в динамике беременности)
- Бактериологический посев из цервикального канала и мазок из влагалища на степень чистоты.
- Исследование отделяемого влагалища на наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов методом ПЦР («фемофлор16», «фемофлор-комплекс»).
- Гемостазиологическое исследование крови.
- Анализ крови на наличие аутоиммунных антител (антитела к β_2 -гликопротеину, аннексину, протромбину, кардиолипину, фосфатидилсерину).
- Проба на волчаночный антикоагулянт (проба на ВА).
- Оценка врожденных факторов, предрасполагающих к развитию тромбофилии.

Критерии включения пациентов в группы исследования:

- Возраст женщин от 18 до 40 лет.
- Развивающаяся маточная беременность, документированная протоколом УЗИ в сроке 5-6 недель.
- Явления угрожающего выкидыша на момент включения в исследование (кровяные выделения из половых путей) у женщин с и без привычного выкидыша.
- Два и более самопроизвольных прерываний беременности от одного и того же партнера (для группы привычного выкидыша).
- Самопроизвольное наступление беременностей (отсутствие бесплодия)

- Отсутствие грубых гормональных нарушений, сопровождающихся нарушениями менструального цикла.
- Подписанная пациенткой форма информированного согласия на проведение исследования.

Критерии включения пациенток в контрольную группу:

- Возраст женщин от 20 до 40 лет.
- Развивающаяся маточная беременность, документированная протоколом УЗИ в сроке 5-6 недель.
- Неотягощенный акушерский и гинекологический анамнез.
- Отсутствие грубых гормональных нарушений, сопровождающихся нарушениями менструального цикла.
- Подписанная пациенткой форма информированного согласия на проведение исследования.

Критерии не включения в исследование:

- Многоплодная беременность.
- Наличие хронических инфекционных, онкологических, системных аутоиммунных заболеваний.
- Резус-сенсбилизация.

Критерии исключения пациентов из исследования:

- Отсутствие возможности продолжить проведение всех мероприятий, запланированных в данном исследовании со стороны пациента.
 - Желание пациента добровольно прекратить участие в исследовании.
- Нарушение пациентом требований, сформулированных согласно протоколу исследования.

Пациентки основной группы составляли группу риска по реализации ранних и поздних гестационных осложнений.

После проведения обследования и учета критериев включения/не включения были сформированы 3 группы исследования:

1. Группа беременных с привычным выкидышем (ПВ) n=55
2. Группа беременных с угрожающим выкидышем (УВ) n=49
3. Контрольная группа женщин с неотягощенным акушерским анамнезом и неосложненным течением беременности (ФБ) n=28

Дизайн проведенного исследования представлен на рисунке 5.

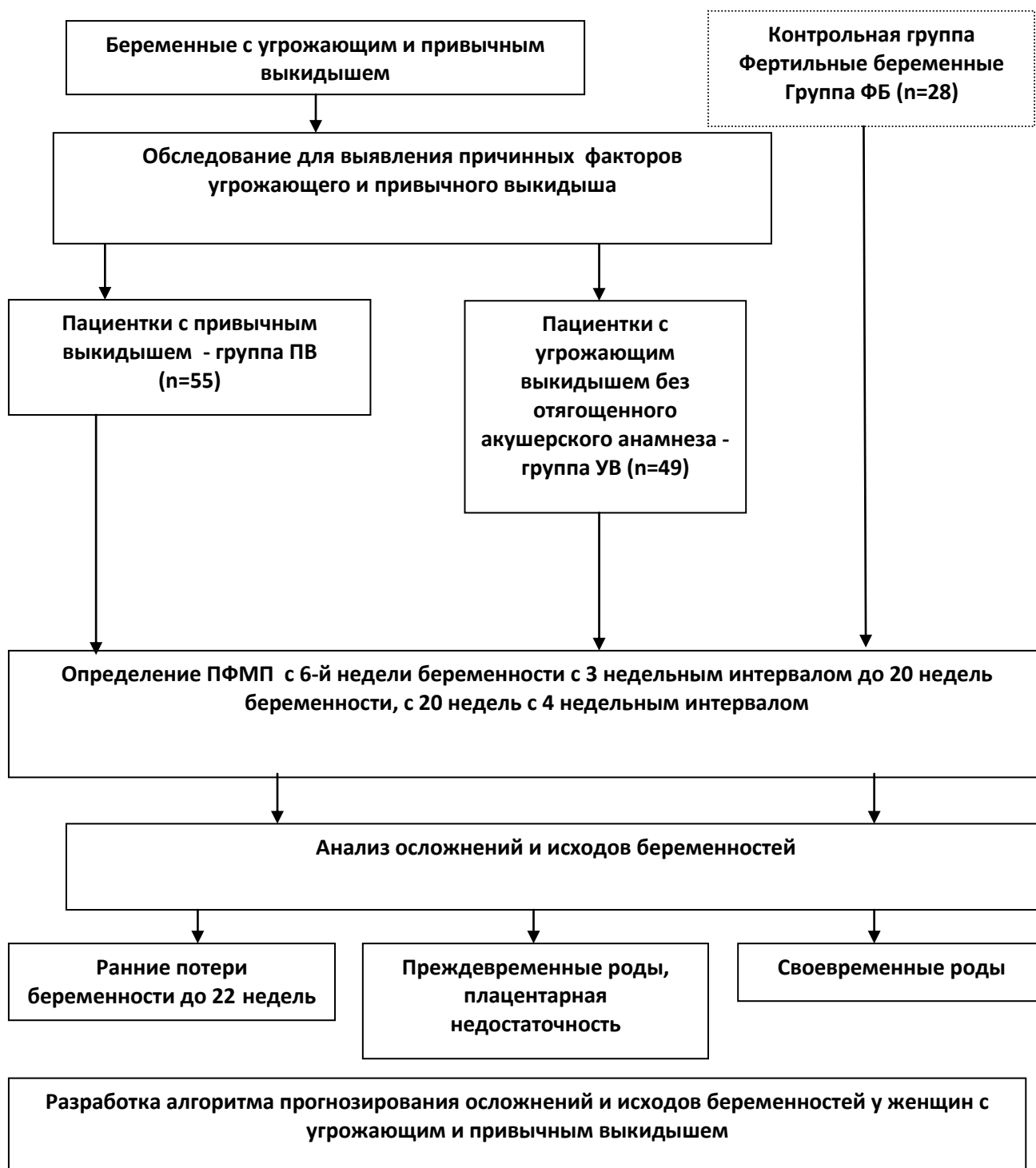


Рисунок 5. Дизайн проведенного исследования

2.2. Специальные методы исследования

Для определения уровня ПФМП у пациенток исследуемых групп проводили фракционирование венозной крови, выделение микровезикул из полученной плазмы и методом Вестерн-блот анализировали содержание митохондриальных белков.

Забор крови проводился натошак из локтевой вены в пробирку с ЭДТА у беременных по стандартной методике. Плазму крови получали методом осаждения форменных элементов крови в течение 10 минут при 3000g, 4°C при помощи центрифугирования на аппарате «Eppendorf 5410R» (США). Определение содержания белка в плазме крови проводили биуретовым методом. Микровезикулы плазмы крови получали при помощи двукратного центрифугирования - 30 минут при 10000g, 4°C на центрифуге Centrifuge 5430R (США). Осадок ресуспендировали в буфере нанесения для электрофореза.

Определение содержания белков VDAC1, TFAM, OPA1 и DRP1 (норма/контроль) в осадке микровезикул плазмы крови проводили методом иммунодетекции после разделения белков электрофорезом в денатурирующих условиях по методу Лэммли в системе Biorad MiniProtean (США) и последующего переноса белков на нитроцеллюлозную мембрану методом Вестерн-блот. На рисунке 6 представлена типичная картина распределения интенсивности свечения полосы белка VDAC1 на мембране после переноса образцов выделенных микровезикул плазмы крови женщин с пролонгированной и прервавшейся беременностью.

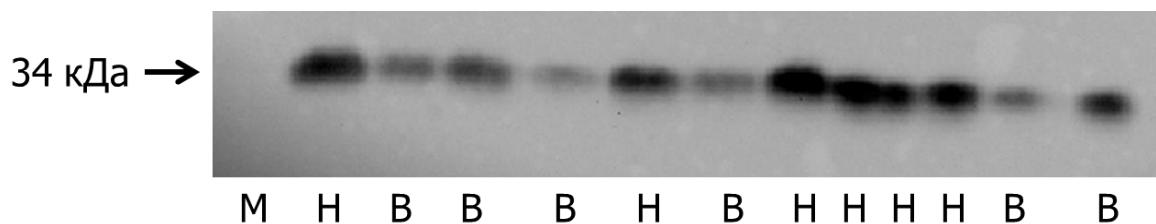


Рисунок 6. Типичная электрофореграмма и Вестерн-блот микровезикул плазмы периферической крови женщин исследуемых групп. Окраска при помощи моноклональных антител к белку порину (VDAC1). М – маркер молекулярного веса, стрелкой указано положение маркера 34кДа, Н – норма, В – выкидыш.

Первичные антитела, выработанные против определяемых белков (Abscam, США) использовали по рекомендациями производителя. Для проявления первичных антител использовали вторичные антитела к IgG, конъюгированные с пероксидазой хрена и билюминесцентную систему визуализации ChemiDOC (Biorad, США). Определение идентифицированных компонентов ПФМП в полосе соответствующего молекулярного веса полипептидов на нитроцеллюлозной мембране проводили при помощи системы Geldoc (США) с нормировкой на VDAC (рисунок 7).

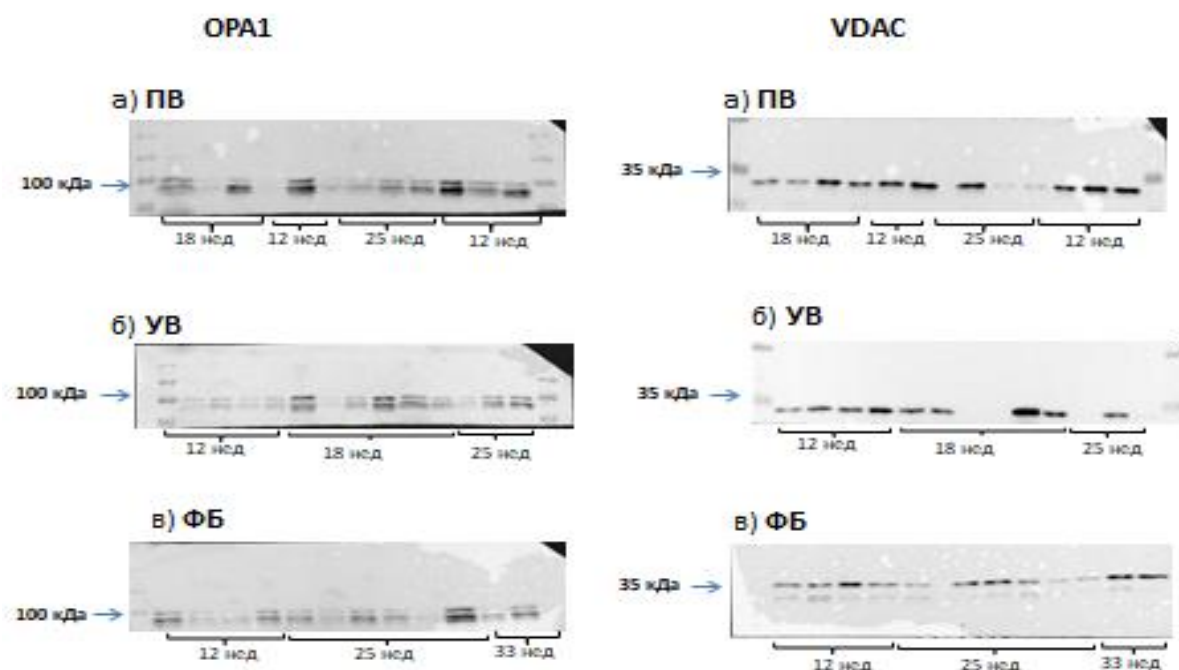


Рисунок 7. Распределение интенсивности окраски белка OPA1 в плазме крови при физиологической беременности (ФБ), привычном (ПВ) и угрожающем выкидыше (УВ)

2.3. Статистическая обработка материала

Анализ полученных результатов проводили с помощью программы GraphPad Prism 8.0.

Для всех количественных показателей были определены: среднее значение (M), стандартное отклонение (δ), ошибка среднего (m), 95% доверительный интервал, медиана (Me), интерквартильный размах, а для номинальных значений рассчитаны частоты (%). Полученные данные были проверены на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. При сравнении средних значений двух выборок применяли параметрический t -критерий Стьюдента (для нормального распределения) или непараметрический U -критерий Манна-Уитни. Анализ показателей, изменяющихся в течение беременности, производили с

помощью непараметрического критерия для связанных выборок – критерия Вилкоксона.

Сравнение распределения показателей (частот) между группами осуществляли с помощью критерия Хи-квадрат с построением соответствующих таблиц (2x2 или 2x3) или с помощью t-критерия Стьюдента для долей с поправкой Бонферрони.

Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Для оценки клинико-анамнестических данных, для каждой выборки проводили оценку нормальности распределения с помощью критерия Шапиро-Уилка. Нормальный характер распределений позволил анализировать полученные результаты с помощью методов дисперсионного анализа (ANOVA). Для проведения парных сравнений между группами проводили последующий post hoc анализ с использованием критерия Тьюки. Данные в таблице представлены в виде среднего и стандартного отклонения (ср.(ст. откл)).

Сравнение долей при оценке исходов беременности проводили с помощью теста χ^2 на независимость.

Межгрупповые различия динамических показателей (относительное содержание исследуемых белков) оценивали с помощью непараметрического рангового критерия Краскела-Уоллиса. Данные на рисунках представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Отличия считали достоверными при $p < 0,05$. С целью оценки прогностической значимости митохондриальных белков микровезикул проведен ROC-анализ.

ГЛАВА 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Клиническая характеристика женщин, включенных в исследование

В рамках проведенного исследования были проанализированы клинические и анамнестические данные 132 женщин, включенных на основании критериев, изложенных в главе 2. Проведен тщательный сбор анамнеза пациенток исследуемых групп - данные о возрасте, наследственности, социально-экономическом положении, профессиональных вредностях. Проанализированы экстрагенитальная и гинекологическая заболеваемость, характер менструальной функции, репродуктивный анамнез. Возраст беременных варьировался в диапазоне от 18 до 40 лет и составил в среднем $35,3 \pm 3,9$ лет. Возраст женщин в группе ПВ составил $33,1 \pm 3,9$ лет, в группе УВ $30,9 \pm 4,5$ лет, контрольной группы ФБ $30,6 \pm 5,4$ лет. Женщины с ПВ были статистически значимо старше, чем женщины с УВ и ФБ, данные представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Распределение обследованных женщин по возрастным группам

Возраст	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
18-24	-	-	2	4,1	4	14,3
25-29	13**	23,6	17#	34,7	6	21,4
30-34	23*	41,8	20	40,8	11	39,3
35-40	19	34,6	10	20,4	7	25
Средний возраст	$33,1 \pm 3,9^*$		$30,9 \pm 4,5$		$30,6 \pm 5,4$	

($p < 0,05$ статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ, # между УВ и ФБ).

Все женщины проживали в одинаковых климатогеографических условиях, преимущественно в городе Москва и Московской области, имели среднее и высшее образование. Профессиональных вредностей при сборе анамнеза не выявлено. В таблице 3 представлены сведения о перенесенных экстрагенитальных заболеваниях.

Из проанализированных соматических заболеваний достоверные различия отмечены в частоте встречаемости субклинического гипотиреоза и хронического цистита. У пациенток с ПВ и УВ частота вышеуказанных заболеваний достоверно превышала показатели в группе ФБ.

Так, частота субклинического гипотиреоза в группе пациенток с ПВ составила 25,5%, в группе УВ - 24,5%, в группе ФБ 7,1% ($p < 0,05$). Хронический цистит также достоверно чаще встречался в группе с ПВ 36,4% и в группе УВ в 28,6% случаев, по сравнению с контрольной группой ФБ - 17,9% ($p < 0,05$), тогда как достоверные различия между группами ПВ и УВ не получены.

При анализе структуры гинекологической заболеваемости (таблица 4) отмечено, что патология шейки матки встречалась статистически значимо чаще в группе ПВ (у 27,3%), чем в группе УВ – (12,2%) и в группе ФБ у 14,3% ($p < 0,05$). Воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, в частности, хронический эндометрит значимо чаще отмечен в группах ПВ и УВ - 61,8% и 42,8% соответственно, чем в группе ФБ. Субсерозная миома матки также регистрировалась статистически значимо чаще у женщин группы ПВ в 26,6% случаев, чем в группах УВ и ФБ – 10,2% и 7,1% соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 3.

Структура соматической заболеваемости у женщин исследуемых групп

Заболевания	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Заболевания сердечно - сосудистой системы пролапс митрального клапана	3	5,5	1	2	1	3,6
Варикозная болезнь	7	12,7	6	12,2	4	14,3
Заболевания щитовидной железы (субклинический гипотиреоз)	14**	25,5	12#	24,5	2	7,1
Заболевания желудочно - кишечного тракта	7	12,7	4	8,2	5	17,9
Холецистит	1	1,8	-	-	-	-
Хронический гастрит	10	18,2	4	8,2	7	25
Язвенная болезнь 12-перстной кишки	-	-	1	2	-	-
Хронический цистит	20**	36,4	14#	28,6	5	17,9
Заболевания опорно - двигательного аппарата (сколиоз, остеохондроз)	2	3,6	-	-	-	-

($p < 0,05$ статистически значимые различия между группами ** между ПВ и ФБ, # между УВ и ФБ).

Таблица 4.

Структура гинекологических заболеваний у женщин исследуемых групп

Заболевания	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Хронический эндометрит	34	61,8	21	42,8	-	-
Хронический сальпингоофорит	12	21,8	8	16,3	-	-
Субсерозная миома матки малых размеров	13*/**	26,6	5	10,2	2	7,1
Кисты яичников	3	5,5	-	-	1	3,6
Внутриматочные синехии (удаление в анамнезе)	3	5,5	-	-	-	-
Патология шейки матки (после лечения)	15*	27,3	6	12,2	4	14,3
Полип эндометрия (полипэктомия в анамнезе)	9*	16,4	1	2	-	-
Эндометриоз	4	7,7	1	2	-	-

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ)

В частоте встречаемости таких нозологических форм, как кисты яичников, внутриматочные синехии, наружный генитальный эндометриоз при сравнительном анализе не было получено достоверных различий.

При анализе менструальной функции установлено, что у женщин группы ФБ менархе отмечено в более раннем возрасте. Менархе в возрасте 12-14 лет отмечено у 61,8,% женщин группы ПВ, в группе УВ 77,6% женщин и в контрольной группе 57,1% (таблица 5).

Таблица 5.

Возраст менархе у обследованных женщин

Возраст менархе, лет	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
10-11	21*	38,2	10#	20,4	12	42,9
12-14	34*	61,8	38#	77,6	16	57,1
15 и старше	-	-	1	2	-	-

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, # между УВ и ФБ)

При анализе продолжительности менструального цикла отсутствовали достоверные отличия у пациенток основной группы (ПВ и УВ) по сравнению с пациентками контрольной группы ФБ (таблица 6).

Таблица 6.

Продолжительность менструального цикла

Длительность менструального цикла (дни)	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
21-24	9	16,4	5	10,2	2	7,1
25-35	44	80	43	87,8	26	92,9
более 35	2	3,6	1	2	-	-

Проанализирована репродуктивная функция женщин исследуемых групп. Анализ репродуктивного анамнеза выявил следующие особенности (таблица 7).

Первобеременные первородящие значительно чаще встречались в группе УВ (61,2%), чем группе контроля ФБ (50%) - $p < 0,05$. Повторнобеременные

первородящие и повторнородящие, наоборот, статистически значимо встречались чаще в группе ПВ, частота составила 49,1% и 50,9% соответственно ($p < 0,05$).

Таблица 7.

Репродуктивный анамнез обследованных женщин

Исходы беременностей	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Первобеременные первородящие	-	-	30#	61,2	14	50
Повторнобеременные первородящие	27*/**	49,1	1	8,2	1	3,6
Повторнобеременные повторнородящие	28*/**	50,9	18	30,6	13	46,4

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ, # между УВ и ФБ)

У рожавших женщин группы ФБ в течение предыдущих беременностей не наблюдалось осложнений в виде угрожающего выкидыша, угрозы преждевременных родов, в исходе беременностей отмечено рождение здоровых доношенных детей.

В таблице 8 представлены данные о числе беременностей у женщин исследуемых групп.

В среднем, на одну пациентку в группе ПВ приходилось $3,7 \pm 0,3$ беременностей, 61,2% женщин в группе УВ и 50% женщин группы ФБ были первобеременными.

Установлено, что в анамнезе у 55 женщин в группе ПВ было 208 беременностей (таблица 9), у женщин группы УВ – 31 беременность и 25 беременностей в группе ФБ.

Таблица 8.

Число беременностей у обследованных женщин

Число беременностей	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
0	-	-	31	63,3	14	50
1	-	-	8	16,3	6	21,4
2	14	25,5	7	14,3	5	17,9
3	15*/**	27,3	3	6,1	3	10,7
4	15	27,3	-	-	-	-
5	5	9,1	-	-	-	-
6	2	3,6	-	-	-	-
7	2	3,6	-	-	-	-
12	2	3,6	-	-	-	-

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ)

Чаще всего у женщин с ПВ отмечались потери беременности до 12 недель – неразвивающиеся беременности (53,8%) и самопроизвольные выкидыши (14,2%). Поздние выкидыши с 13 до 22 недели беременности отмечены только в группе ПВ (3,4%), причиной которых был хориоамнионит и излитие околоплодных вод. Антенатальная гибель плода имела место в 6 (2,9%) случаях, ранние преждевременные роды отмечены у 13 (6,3%) женщин в группе ПВ.

Частота искусственных аборт в анамнезе составила 7,7% в группе ПВ, в 2 случаях (4,1%) в группе УВ отмечены искусственные аборты, не нарушившие состояние репродуктивной функции, после чего отмечено рождение здорового ребенка, в группе ФБ абортов в анамнезе не было. В 1 (3,2%) случае проведена туботомия лапароскопическим доступом по поводу

внематочной беременности. Самопроизвольных потерь беременности и преждевременных родов в анамнезе в группе УВ и ФБ не было (критерий исключения). В группе УВ в исходе предыдущих беременностей преобладали своевременные роды.

Таблица 9.

Исходы предыдущих беременностей у женщин исследуемых групп

Исходы беременностей	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Неразвивающиеся беременности	112	53,8	-	-	-	-
Ранние самопроизвольные выкидыши	30	14,2	-	-	-	-
Поздние самопроизвольные выкидыши	7	3,4	-	-	-	-
Искусственный аборт	15 *	7,7	2	4,1	-	-
Прерывание беременности по медицинским показанием	1	1,8	-	-	-	-
Трубная беременность	-	-	1	3,2	1	4
Преждевременные роды	13	6,3	-	-	-	-
Аntenатальная гибель плода	6	2,9	-	-	-	-
Доношенная беременность	24**	11,5	28#	77,5	24	96
Всего беременностей	208**	78,8	31#	11,7	25	9,5

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ, # между УВ и ФБ)

Сроки самопроизвольного прерывания беременностей представлены в таблице 10. Большинство самопроизвольных потерь беременности в анамнезе у женщин группы ПВ приходилось на первый триместр. В частности, очень ранние выкидыши в 5-7 недель составили 51,8%, выкидыши в 8-12 недель - 32,7% от числа всех прервавшихся беременностей.

Таблица 10.

**Сроки самопроизвольного прерывания беременностей и ПР в анамнезе
(% к общему числу беременностей, завершившихся преждевременно)**

Сроки прерывания беременностей и ПР (недели)	Число выкидышей и ПР у женщин группы ПВ (n=168)	
	абс.	%
5-7	87	51,8
8-12	55	32,7
13-22	7	4,1
23-27	4	2,4
28-33	9	5,4
34-37	6	3,6

Итого, потери первого триместра составили 84,5% от числа всех самопроизвольных потерь, поздние выкидыши регистрировались относительно редко – 4,1% в сроках с 13 до 22 недель беременности. Наиболее частой причиной прерывания беременности во втором триместре было излитие околоплодных вод. Следовательно, беременные группы ПВ составляют группу риска по реализации как ранних, так и поздних гестационных осложнений, исходя из анамнестических данных.

3.2. Результаты клинико-лабораторного обследования женщин на ранних сроках беременности

В соответствии с поставленными задачами, у беременных исследуемых групп было проведено обследование и амбулаторное наблюдение в Научно-поликлиническом отделении ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России по схеме, разработанной в отделении профилактики и терапии невынашивания беременности (2-м

отделении акушерском патологии беременности). При необходимости в госпитализации стационарное лечение проводилось во 2-м отделении акушерском патологии беременности.

Данные объективного обследования

У всех обследованных женщин выявлен женский тип телосложения, вторичные половые признаки развиты правильно, средний рост составил $166,5 \pm 2,4$ см, средний вес $66,5 \pm 2,8$ кг (таблица 11). Индекс массы тела (ИМТ) у 85,2% женщин соответствовал норме, у 11,9% был выше нормативных значений, у 2,9% женщин отмечен дефицит массы тела. Достоверных отличий в среднем значении ИМТ между женщинами исследуемых групп не выявлено.

Таблица 11.

Массо-ростовые показатели у женщин исследуемых групп

	Группа ПВ (n=55)	Группа УВ (n=49)	Группа ФБ (n=28)
Рост (см)	$166,2 \pm 2,4$	$165,7 \pm 1,9$	$166,8 \pm 2,6$
Вес (кг)	$66,4 \pm 3,2$	$68,6 \pm 4,2$	$66,7 \pm 3,8$
ИМТ	$24,1 \pm 0,2$	$24,3 \pm 0,2$	$24,0 \pm 0,5$

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами)

При наружном осмотре установлено, что у всех женщин наружные половые органы развиты правильно, преддверие влагалища без анатомических изменений.

Практически у всех женщин группы ПВ проведено обследование до наступления данной беременности в Научно-поликлиническом отделении Центра. Были установлены различные причины привычных потерь

беременности, из них встречались такие как эндокринные, аллоиммунные, последствия перенесенных воспалительных заболеваний (таблица 12).

Таблица 12.
Результаты клинико-лабораторного обследования у женщин с ПВ

Выявленные причины ПВ вне беременности	Пациентки группы ПВ n=55	
	абс.	%
Поликистозные яичники	3	5,5
Субклинический гипотиреоз	14	25,5
Совместимость супругов по HLA II класса (более 3 аллелей)	6	10,9
Последствия перенесенного хронического эндометрита	34	61,8
Невынашивание неясного генеза	7	12,7
Врожденные тромбофилии высокого риска	4	7,3

У женщин с ПВ отмечался более высокий процент воспалительных заболеваний, чем у женщин группы ФБ. Был проведен ряд исследований, которые включали в себя микроскопическое, бактериологическое и ПЦР исследование.

Во всех вышеуказанных случаях в программе предгестационной подготовки проводилась антибактериальная и противовоспалительная терапия в соответствии с определением индивидуальной чувствительности к антибиотикам.

В программе прегравидарной подготовки и во время беременности проводилось обследование на инфекции, передающиеся половым путем. Абсолютных патогенов выявлено не было ни в одном случае. Титр условно-патогенных микроорганизмов по результатам количественного ПЦР метода (фемофлор-16) в первом триместре не превышал установленных нормативных значений (10^3 и менее).

В группах ПВ, УВ и ФБ беременных женщин, помимо обследований по стандартной схеме, разработанной в отделении профилактики и лечения невынашивания беременности, было проведено динамическое наблюдение, анализ осложнений и исходов беременностей.

3.3. Течение и исходы беременностей у пациенток на сроках до 22 недель

Все пациентки групп ПВ, УВ и ФБ наблюдались и были родоразрешены в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России.

В соответствии с задачами исследования, нами был проведен сравнительный анализ течения беременностей и осложнений у женщин трех исследуемых групп.

При анализе течения беременности в первом триместре установлено, что частота рвоты беременных была выше в группе ФБ по сравнению с группами ПВ и УВ (54,9%, 14,5% и 18,4%, соответственно, $p < 0,05$) (таблица 13).

Обращает на себя внимание высокая частота угрожающего/начавшегося выкидыша в группе беременных с ПВ - 70,9%, что было подтверждено клиническими признаками и данными УЗ исследования. Для группы УВ угрожающий/начавшийся выкидыш был критерием включения в исследование, в связи с чем это осложнение отмечено у 100% пациенток.

При кровяных выделениях из половых путей, проводилось эхографическое исследование, в результате чего выявлена ретрохориальная или ретроамниотическая гематома в 32,8% (18) случаев в группе ПВ и в 44,9% (22) случаях в группе УВ. В остальных случаях угроза прерывания

беременности сопровождалась отслойкой хориона без формирования гематом в 38,2% случаев из группы ПВ и в 55,1% - из группы УВ.

У пациенток исследуемых групп в I триместре беременности регистрировались следующие осложнения: ОРВИ с субфебрильной температурой тела – 7,3% в группе ПВ, 8,2% в группе УВ и в группе ФБ – 10,7%; анемия беременных встречалась в 1,8% в группе ПВ, в 6,1% в группе УВ и в 3,6% в группе ФБ.

Таблица 13.

Осложнения течения I триместра беременности у женщин исследуемых групп

Осложнения	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Умеренная рвота беременных	8**	14,5	9	18,4#	12	54,9
ОРВИ	4	7,3	4	8,2	3	10,7
Анемия беременных	1	1,8	3	6,1	1	3,6
Отслойка хориона без формирования гематом	21	38,2	27	55,1	-	-
Ретроамниотические гематомы	4	7,3	9	18,4	-	-
Ретрохориальные гематомы	14*	25,5	13	26,5	-	-
Общее количество случаев угрожающего / начавшегося выкидыша	39*	70,9	49	100	-	-

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ, # между УВ и ФБ)

Во всех случаях угрожающего/начавшегося выкидыша была произведена госпитализация пациенток во 2-е отделение акушерское патологии беременности, где проводилась терапия, направленная на

продолжение беременности, включающая в себя гормональные, гемостатические, спазмолитические препараты. Из препаратов гестагенного ряда использовался дидрогестерон в дозе 40 мг в сутки с последующим переходом на дозу 20 мг до срока 20 недель беременности. При кровотечении из половых путей внутривенно вводилась транексамовая кислота в дозе от 1000 до 2000 мг в сутки с последующим переходом на пероральный прием препарата, общая продолжительность гемостатической терапии составляла не более 7 дней. Спазмолитическая терапия проводилась по показаниям при выраженном болевом синдроме.

Несмотря на проводимую терапию, самопроизвольные прерывания беременностей до 22 недель отмечены у 16 женщин, из них 11 (20%) пациенток из группы ПВ, 5 (10%) из группы УВ.

Сроки прерывания беременностей представлены в таблице 14.

Таблица 14.

Сроки самопроизвольного прерывания беременностей у женщин исследуемых групп

Сроки прерывания беременностей	Группа ПВ (n=11)		Группа УВ (n=5)	
	абс.	%	абс.	%
5-7 недель	6	10,9	4	7,3
8-10 недель	3	5,5	-	-
11-12 недель	2	3,6	1	1,8

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами)

Проанализированы ранние потери беременностей у женщин исследуемых групп (Рисунок 8).

Сроки самопроизвольных прерываний беременностей женщин с угрожающим (n=5) и привычным (n=11) выкидышем

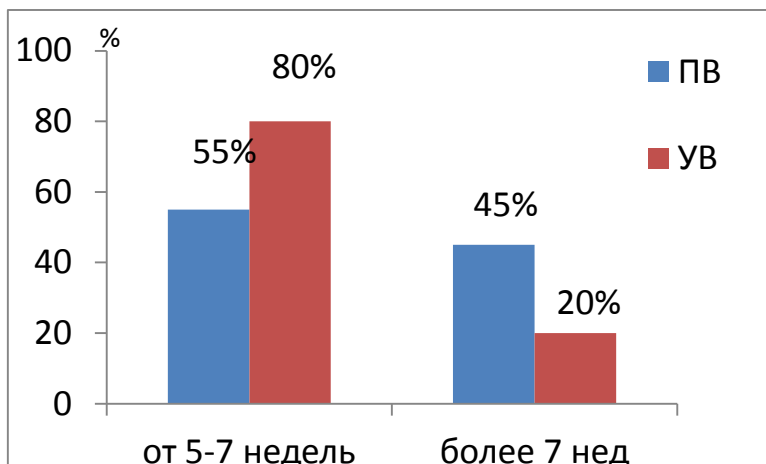


Рисунок 8. Сроки самопроизвольного прерывания беременностей в группах ПВ и УВ.

В группе УВ преобладали очень ранние потери беременности до 7 недель, которые составили 80%, тогда как при ПВ потери до 7 и после 7 недель встречались примерно с равной частотой. С 12-й по 22-ю неделю самопроизвольных прерываний беременности не было.

Нами были проанализированы цитогенетические исследования абортусов при ранних потерях беременностей (рисунок 9). Установлено, что в группе ПВ преобладали потери с нормальным кариотипом, составившие 54,6%, тогда как анеуплоидии отмечены в 45,4% случаев. При УВ преобладали абортусы с патологическим кариотипом (60%) – трисомии, полиплоидии. В 40% случаев в группе УВ кариотип плода был нормальным. В связи с малым числом наблюдений достоверных различий по группам не установлено (таблица 15).

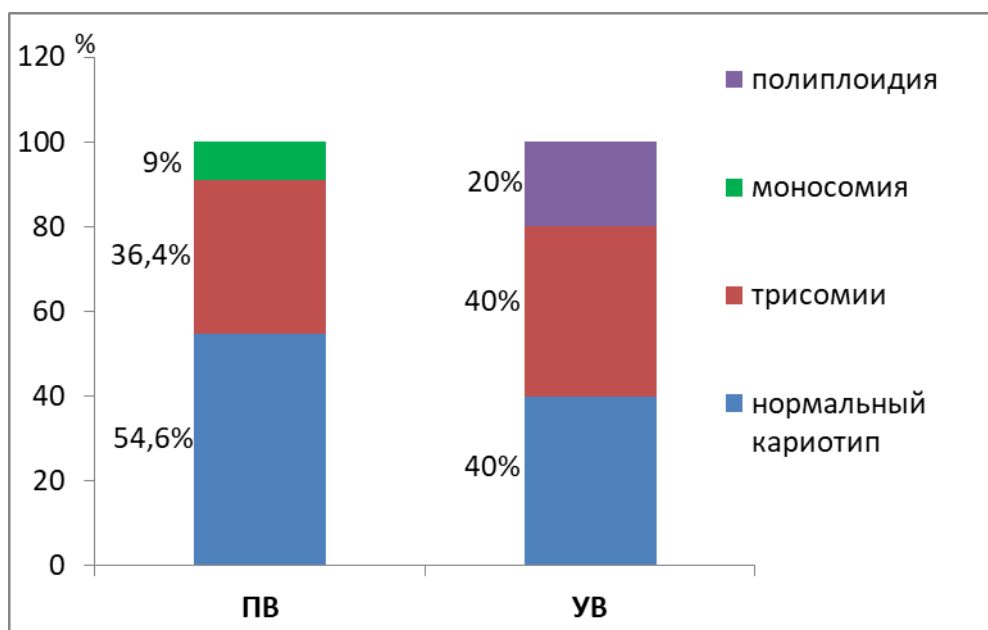


Рисунок 9. Доля абортусов с нормальным и патологическим кариотипом у женщин исследуемых групп (ПВ n=11, УВ n=5)

В группе физиологической беременности потерь беременности до 22 недель не было.

Таблица 15.

Частота патологического кариотипа абортусов у женщин исследуемых групп

Сроки прерывания беременностей	Группа ПВ n=11		Группа УВ n=5	
	абс.	%	абс.	%
Нормальный кариотип абортуса	6	54,6	2	40
Патологический кариотип абортуса	5	45,4	3	60
Трисомии	4	36,4	2	40
Моносомия	1	9,1	-	-
Полиплоидия	-	-	1	20

Таким образом, как видно из представленных данных, в группе ПВ преобладают потери беременности с нормальным кариотипом абортуса, что

требует дальнейших исследований патогенеза прерывания беременности на ранних сроках.

3.4. Митохондриальные белки микровезикул плазмы периферической крови женщин на ранних сроках беременности

В плазме периферической крови было проведено определение уровня белков митохондриального происхождения. Были проанализированы образцы микровезикул, полученных из плазмы крови женщин групп ПВ и УВ с прервавшейся беременностью (n=16). Полученные результаты были сопоставлены с данными измерения содержания митохондриальных белков во фракции микровезикул плазмы периферической крови женщин с физиологической беременностью (ФБ, n=28).

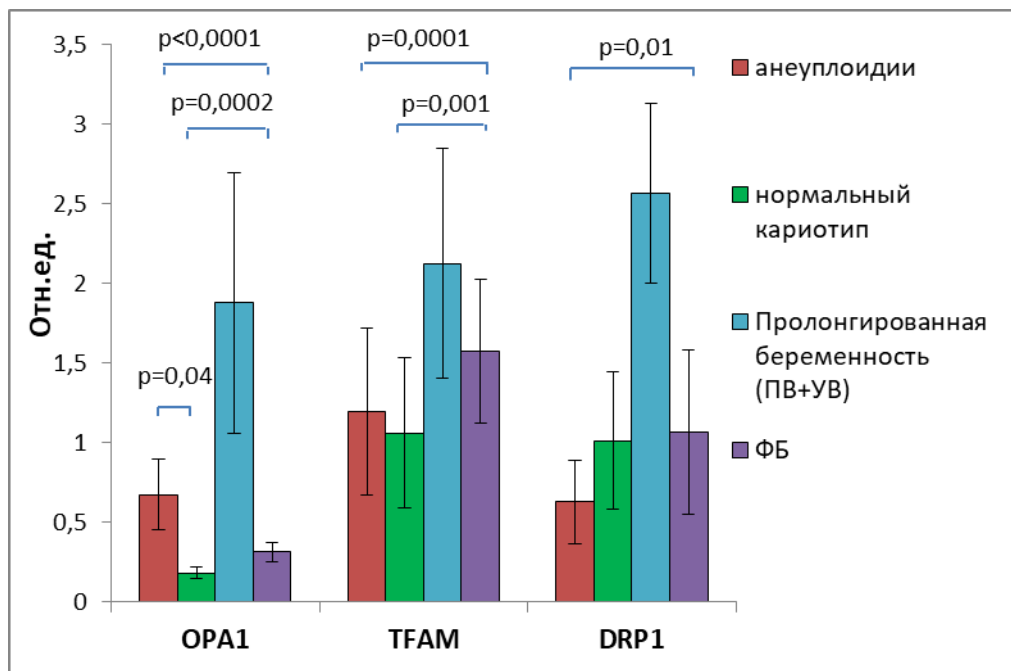


Рисунок 10. Митохондриальные белки в плазме крови женщин с ранними потерями на сроке 6 недель беременности (группы анеуплоидии, нормальный кариотип), пролонгированной беременностью (ПВ+УВ) и физиологической беременностью (нормировано на VDAC).

Нами был проведен анализ уровня митохондриальных белков в плазме крови женщин с ранними потерями беременностей в зависимости от кариотипа абортусов (рисунок 10).

Установлено, что для неразвивающихся беременностей, в целом, характерны достоверно более низкие значения белков митохондриального биогенеза - OPA1, TFAM, DRP1 по сравнению с пролонгированной беременностью. При этом, отличия были более выражены для потерь беременностей, обусловленных анеуплоидиями. Доказана прогностическая значимость ПФМП у пациенток с УВ за 2 недели до потери беременности. Таким образом, при пролонгированной беременности из групп УВ и ПВ, ПФМП достоверно превышали аналогичные показатели при физиологической беременности.

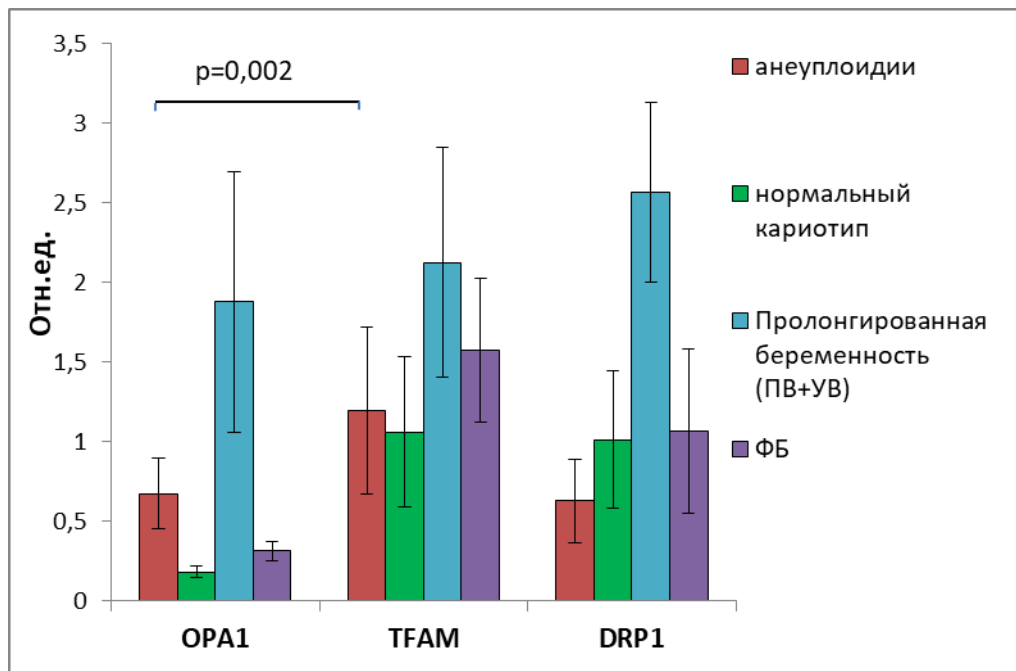


Рисунок 11. Корреляции уровня митохондриальных белков (по Спирману) в сроке 6 недель беременности в плазме крови женщин с ранними потерями и пролонгированной беременностью (нормировано на VDAC)

Методом корреляционного анализа по Спирману было выявлено, что для анеуплоидий характерны однонаправленные изменения белков OPA1 и

TFAM, но не DRP1, в сроке 6 недель, предшествующие гибели плодного яйца (рисунок 11).

Сравнительный анализ относительного содержания митохондриальных белков в микровезикулах плазмы крови показал, что для женщин группы ПВ+УВ содержание данных белков достоверно выше, чем у женщин контрольной группы ($p < 0,01$).

Согласно полученным результатам можно утверждать, что нормальное течение беременности сопровождается достаточно высоким содержанием митохондриальных белков в микровезикулах плазмы периферической крови, в то время как при потерях беременности мы регистрировали существенно меньшее и, видимо, недостаточное для активации инфламмасом трофобласта количество митохондриальных белков вследствие неполноценной инвазии трофобласта и низкого уровня клеточной гибели. Вероятно, жизнеспособное плодное яйцо способно индуцировать в эндометрии сбалансированный провоспалительный ответ, тогда как при угрожающем и привычном выкидыше имеет место нарушение данного взаимодействия, результирующее в гибель плодного яйца. Полученные нами результаты согласуются с доминирующей в последнее время концепцией о необходимости провоспалительного состояния иммунной системы для успешности процессов имплантации и плацентации в начале беременности и формирования противовоспалительного фона на более поздних ее сроках.

Отдельно был проанализирован уровень митохондриальных белков в плазме крови женщин с неразвивающейся беременностью с учетом кариотипов абортусов, вне зависимости от групп исследования.

Как следует из данных, представленных на рисунке 12, белки TFAM, VDAC, DRP1, OPA1 демонстрируют достоверно более высокие значения при неразвивающихся беременностях с нормальным кариотипом, чем при

анеуплоидиях. Можно предположить, что инвазия трофобласта при развитии плодного яйца с анеуплоидным набором в меньшей степени индуцирует сбалансированный материнский провоспалительный ответ, чем плодное яйцо с нормальным хромосомным набором.

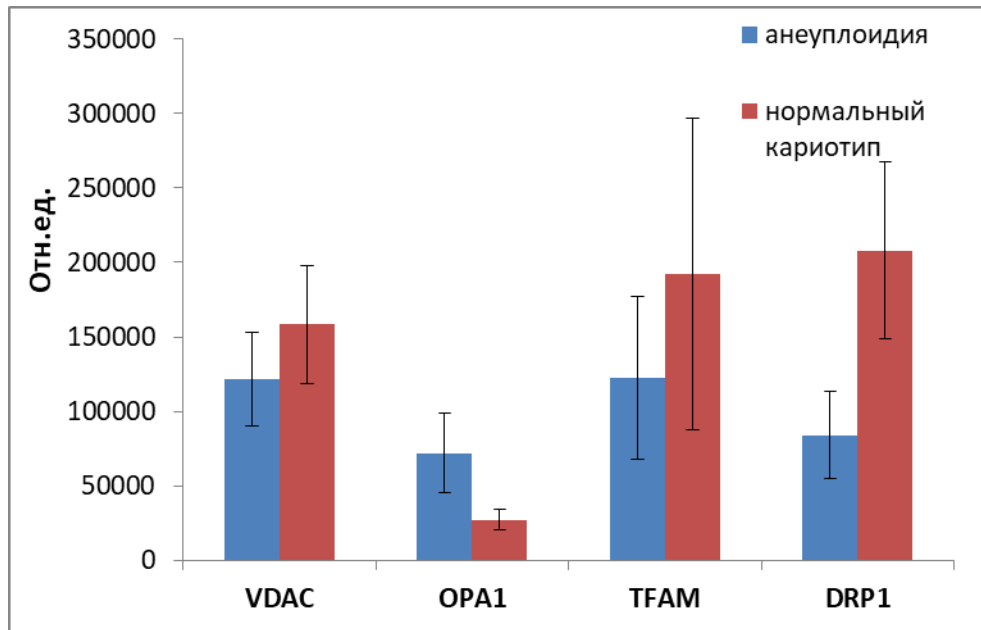


Рисунок 12. Относительное содержание митохондриальных белков в микровезикулах плазмы периферической крови женщин с неразвивающимися беременностями с нормальным и анеуплоидным кариотипом абортуса (определение проведено в сроке 6 недель)

Возможно, речь идет об одном из механизмов прерывания беременности материнским организмом при анеуплоидии плода на ранних сроках беременности, опосредованным нарушением сборки инфламмасом на поверхности митохондрий, снижением аутофагии и индукцией программированной клеточной гибели [91,112].

3.5. Осложнения второго и третьего триместров у беременных исследуемых групп

Известно, что пациентки с угрожающим и привычным выкидышем составляют группу риска по реализации поздних гестационных осложнений. В этой связи, были тщательно проанализированы осложнения второго и третьего триместров у беременных исследуемых групп (таблица 16).

Таблица 16.

Осложнения течения беременностей после 22 недель у женщин исследуемых групп

Осложнения беременности	Группа ПВ		Группа УВ		Группа ФБ	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Угрожающие очень ранние преждевременные роды	16	29,1	13	26,5	-	-
Угрожающие ранние преждевременные роды	16	29,1	14	28,6	-	-
Плацентарная недостаточность, СЗРП	1	1,8	2	4,1	-	-
ИЦН, хирургическая коррекция	20*/**	36,4	7	14,3	3	10,7
Отслойка предлежащей и низко расположенной плаценты (беременность пролонгирована)	6	10,9	8	16,3	-	-
Анемия беременных	18	32,7	17	34,7	12	42,9
Умеренная преэклампсия	1	1,8	2	4,1	-	-

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами * между ПВ и УВ, ** между ПВ и ФБ)

Одним из частых осложнений второй половины беременности у женщин исследуемых групп была угроза преждевременных родов, которая встречалась в 29,1 % случаев в группе ПВ и 26,5 % в группе УВ

При этом была назначена терапия, направленная на пролонгирование беременности (токолитическая терапия гексопреналином, профилактика РДС плода), после чего клинические признаки угрожающих преждевременных родов регрессировали.

Частым осложнением II триместра являлась истмико-цервикальная недостаточность (ИЦН), которая потребовала хирургической коррекции статистически значимо чаще у женщин с ПВ - в 36,4% случаев, по сравнению с 14,3% пациенток группы УВ и 10,7% группы ФБ ($p < 0,05$).

У пациенток групп ПВ (10,9%) и УВ (16,3%) потребовалась госпитализация в связи с кровяными выделениями из половых путей при низко расположенной или предлежащей плаценте. Проведен курс лечения, включающий в себя гемостатические препараты (антифибринолитики – транексамовая кислота внутривенно и перорально) и в части случаев лечение нифедипином в суточной дозе 40-60 мг, беременности были пролонгированы.

Угрожающие очень ранние и ранние преждевременные роды встречались с равной частотой в группах ПВ и УВ. Умеренная преэклампсия после 32 недель беременности отмечена в единичных наблюдениях в исследуемых основных группах.

3.6. Исходы беременностей у женщин исследуемых групп

В ходе работы проведен анализ исходов беременностей у женщин исследуемых групп, выявлено 16 самопроизвольных потерь беременностей (11 потерь в группе ПВ и 5 в группе УВ).

Прерываний беременностей по медицинским показаниям в связи с аномалиями развития плода у женщин исследуемых групп не было.

Проанализированы результаты кариотипирования абортусов при ранних потерях беременностей. Согласно полученным результатам, в группе ПВ преобладали потери с нормальным кариотипом, составившие 55%, тогда как анеуплоидии отмечены в 45% случаев.

При УВ преобладали абортусы с патологическим кариотипом (60%) – трисомии, полиплоидии. В 40 % кариотип плода был нормальным.

Самопроизвольных потерь беременности с 12 до 22 недели у женщин исследуемых групп не было.

Были проанализированы родоразрешения у наблюдаемых пациенток (таблица 17).

Таблица 17.

Частота досрочного родоразрешения у женщин исследуемых групп

Осложнения	Группа ПВ (n=55)		Группа УВ (n=49)	
	абс.	%	абс.	%
Преждевременные роды (начало родовой деятельности)	3	5,5	2	4,1
Преждевременные роды (ПИОВ)	1	1,8	2	3,6
Элективное досрочное родоразрешение				
Плацентарная недостаточность, СЗРП	1	1,8	2	4,1
Умеренная преэклампсия	-	-	2	4,1
Предлежание плаценты, кровотечение	1	1,8	-	-
Преждевременные роды (всего)	6	10,9	8	16,3

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами)

Отмечено, что в целом, частота преждевременных родов была несколько выше в группе УВ и составила 16,3%, что, однако, достоверно не отличалось от частоты в группе ПВ – 10,9% случаев ($p < 0,05$).

Частота преждевременных родов по фенотипам достоверно не отличалась в обеих группах. Плацентарная недостаточность и задержка роста плода встречались несколько чаще в группе УВ в 4,1% случаев, в группе ПВ в 1,8%, однако отличия не были достоверными. Среди других осложнений отмечены кровотечение при предлежании плаценты, умеренная преэклампсия, несостоятельность рубца на матке в сроке 33 недели беременности с началом родовой деятельности.

Данные, касающиеся исходов беременностей, у женщин исследуемых групп приведены в таблице 18.

Таблица 18.
Исходы беременностей у женщин исследуемых групп

Исходы беременностей	Группа ПВ		Группа УВ		Группа ФБ	
	n=55	%	n=49	%	n=28	%
Потери беременности до 22-х недель						
ВСЕГО	11	20	5	10,2	-	-
- до 12 недель	11	20	5	10,2	-	-
- с 12 до 22 недель	-	-	-	-	-	-
Преждевременные роды						
ВСЕГО	6	10,9	8	16,3	-	-
Самопроизвольные	-	-	1	2	-	-
Кесарево сечение	6	10,9	7	14,3	-	-
Своевременные роды						
ВСЕГО	38	69,1	36	73,4	28	100
Самопроизвольные	25	45,5	23	46,9	15	53,6
Кесарево сечение	13	23,3	13	26,5	13	46,4

($p < 0,05$ (критерий Хи-квадрат) статистически значимые различия между группами)

Частота оперативного родоразрешения при доношенном сроке беременности, была выше у женщин групп ПВ и УВ по сравнению с женщинами контрольной группы ФБ.

3.7. Анализ течения родов, послеродового периода и состояния новорожденных

Анализ родоразрешений у женщин с ПВ

Всего у женщин группы ПВ было 38 своевременных родов, из них 13 оперативным путем и 25 через естественные родовые пути и 6 преждевременных родов, все путем операции кесарева сечения в сроках от 28 до 35 недель беременности. В большинстве случаев преждевременные роды у женщин группы ПВ были обусловлены развитием регулярной родовой деятельности в сроках 28, 32, 35 недель (5,5%). Родоразрешение проведено путем операции кесарева сечения, в одном случае в 28 недель с целью улучшения перинатального исхода, родился недоношенный мальчик 1380 гр, длиной 38 см, оценка состояния по шкале Апгар 5-7 баллов, в двух случаях основанием для оперативного родоразрешения послужила сумма относительных показаний и наличие рубца на матке после предыдущего оперативного родоразрешения. В одном случае отмечалось преждевременное излитие околоплодных вод при сроке беременности 34 недели при неготовности родовых путей к родам. В одном случае показанием для досрочного оперативного родоразрешения было прогрессирующее плацентарной недостаточности, ухудшение состояния плода в сроке 32 недели беременности. Родилась живая недоношенная девочка массой 1450 гр, длиной 37 см, оценка состояния по шкале Апгар 6-7 баллов.

В одном случае беременность завершилась антенатальной гибелью плода в сроке 31 недели, родоразрешение проводилось через естественные родовые пути после подготовки шейки матки и индукции родов. Своевременные роды произошли у 38 женщин, из них через естественные родовые пути в 25

случаях (45,5%), кесарево сечение выполнено у 13 женщин (23,3%) (таблица 19).

Таблица 19.

Показания к оперативному родоразрешению у женщин исследуемых групп при доношенном сроке беременности

Показания	Группа ПВ		Группа УВ		Группа ФБ	
	n=13	%	n=13	%	n=13	%
Плановое кесарево сечение						
Тазовое предлежание в сочетании с отягощенным анамнезом и осложненным течением беременности	1	7,7	-	-	3	23,1
Рубец на матке после операции кесарева сечения	3	23,1	4	30,8	1	7,7
Рубец на матке после миомэктомии	1	7,7	-	-	-	-
Заключения смежных специалистов	2	15,4	3	23,1	-	-
Предлежание плаценты	1	7,7	1	7,7	-	-
Крупный плод	-	-	-	-	1	7,7
Симфизиопатия	1	7,7	-	-	2	15,4
Кесарево сечение в экстренном порядке (в родах)						
Клинически узкий таз	-	-	2	15,4	1	7,7
Упорная слабость родовой деятельности	1	7,7	-	-	-	-
Начало родовой деятельности с рубцом на матке после операции кесарева сечения	3	23,1	2	15,4	1	7,7
Острая гипоксия плода в родах	-	-	1	7,7	4	30,8

Показаниями к оперативному родоразрешению в плановом порядке в 9 случаях послужили сумма относительных показаний - в 3 случаях в сочетании с рубцом на матке после операции кесарева сечения в предыдущих родах, в 2 случаях согласно заключениям смежных специалистов. В 4 наблюдениях кесарево сечение по следующим показаниям: рубец на матке после миомэктомии, предлежание плаценты, тазовое предлежание крупного плода, симфизиопатия.

У 3 женщин кесарево сечение произведено в родах, в связи с началом регулярной родовой деятельности у повторнородящих с рубцом на матке после операции кесарева сечения, и в 1 наблюдении в связи с упорной слабостью родовой деятельности, не поддающейся медикаментозной терапии. Масса доношенных новорожденных у женщин основной группы варьировала от 2640 до 4040 грамм, средний показатель составил $3340,4 \pm 404,5$ г, длина тела - $51,3 \pm 2,3$ см.

Таблица 20.

Массо - ростовые показатели новорожденных исследуемых групп

Показатели	Группа ПВ (n=43)		Группа УВ (n=44)		Группа ФБ (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Масса тела средняя (г)	3214,4±570,5		3162,1±507,5		3371,8±422,4	
Менее 2000	2	4,7	1	2,3	-	-
2000-2499	-	-	3	6,8	-	-
2500-2999	10	23,3	10	22,7	7	25
3000-3499	18	41,9	17	38,6	12	42,9
3500 – 3999	12	27,8	11	25	7	25
Более 4000 г	1	2,3	2	4,6	2	7,1
Длина тела новорожденных средняя (см)	50,4±3,7		50,4±3,1		51,4±2,4	
45-49 см	13	30,2	16	36,4	5	17,2
50 и выше	30	69,8	28	63,6	23	82,1

Таблица 21.

Оценка доношенных новорожденных по шкале Апгар

Баллы	На 1 минуте рождения				На 5 минуте рождения			
	Группа ПВ		Группа УВ		Группа ПВ		Группа УВ	
	n=43	%	n=44	%	n=43	%	n=44	%
5	1	2,3	-	-	-	-	-	-
6	1	2,3	1	2,3	-	-	-	-
7	2	4,7	6	13,6	1	2,3	1	2,3
8	39	90,7	37	84,1	4	9,3	8	18,2
9	-	-	-	-	38	88,4	35	79,5

В таблицах 20 и 21 представлены массо-ростовые показатели и оценка состояния по шкале Апгар у новорожденных исследуемых групп. Достоверных различий между массо-ростовыми показателями новорожденных групп ПВ и УВ выявлено не было. Средние значения массо-ростовых показателей доношенных новорожденных группы ФБ были несколько выше, чем в группах ПВ и УВ, но отличия не были достоверными.

Анализ родоразрешений у женщин с УВ

В 46,9% (23) наблюдений у женщин группы УВ беременность закончилась своевременными родами через естественные родовые пути.

У 26,5% (13) женщин УВ произведено кесарево сечение при доношенном сроке беременности. Превалировали экстренные родоразрешения в родах: в 2 случаях основанием для экстренного родоразрешения послужил клинически узкий таз (II степень несоответствия), в 1 случае – острая гипоксия плода, в 2 случаях - начало регулярной родовой деятельности с рубцом на матке после предшествующей операции кесарева сечения.

Показаниями к плановому оперативному родоразрешению явились в 4 случаях рубец на матке после операции кесарева сечения, заключения

смежных специалистов в 3 случаях и предлежание плаценты в одном наблюдении.

Масса доношенных новорожденных у женщин группы УВ колебалась от 2475 г до 4355 грамм, средний показатель составил $3320,3 \pm 400,5$ грамм, длина тела - $51,4 \pm 2,15$ см. Массо-ростовые показатели новорожденных достоверно не различались во всех исследуемых группах ($p > 0,05$) (таблица 20).

Оценка состояния новорожденных по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни приведены в таблице 21.

Преждевременные роды у женщин группы УВ произошли в 16,3% (8) случаях в сроках от 32 до 35 недель. В 2 наблюдениях у беременных развилась умеренная преэклампсия, в результате чего 1 самопроизвольные роды произошли в 35 недель (при повышении АД до 150/90 мм рт. ст., протеинурией 2000 мг/сутки), родилась живая недоношенная девочка 2730 гр, 47 см, оценкой по шкале Апгар 7-8 баллов.

В 2 случаях произведено экстренное кесарево сечение в связи с тяжелой плацентарной недостаточностью в сроках 34 и 36 недель беременности. Начало регулярной родовой деятельности с рубцом на матке в 2 случаях и преждевременное излитие околоплодных вод при неготовности родовых путей к родам в 2 случаях послужили основанием для досрочного оперативного родоразрешения в сроках от 32 до 34.

Вес недоношенных новорожденных при рождении колебался от 1787 до 3010 г, в среднем составляя $2546,5 \pm 408,42$ грамм. Длина тела от 40 см до 48 см, среднее значение $46,2 \pm 2,7$ см. Оценка состояния по шкале Апгар от 6-7 баллов на 1 минуте до 7-8 баллов на 5 минуте жизни.

Все дети, рожденные преждевременно на 32-36 неделях гестации, поступили в отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных, где им проводился комплекс реанимационных мероприятий и интенсивная терапия.

Анализ родоразрешений у женщин с ФБ

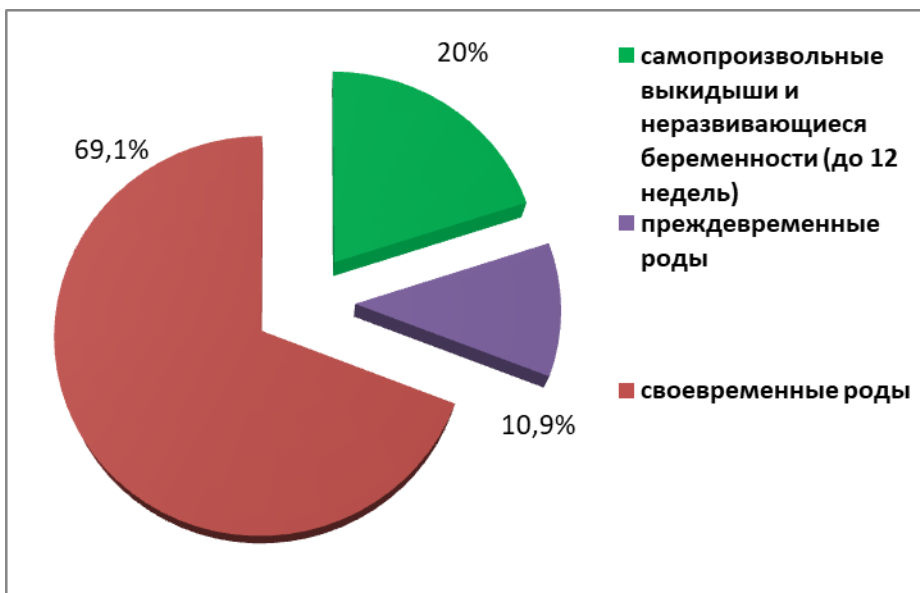
У всех женщин из группы ФБ беременность закончилась своевременными родами, из них через естественные родовые пути в 53,6% наблюдений. В 46,4% случаев было произведено кесарево сечение, в плановом порядке в 25%, в экстренном порядке – в 21,4% случаев.

У 6 женщин кесарево сечение произведено в родах, причиной явился клинически узкий таз в 1 случае, в 1 наблюдении начало родовой деятельности при наличии рубца на матке после операции кесарева сечения, в 4 случаях показанием для экстренного родоразрешения являлась острая гипоксия плода в первом периоде родов.

В послеродовом периоде чаще всего встречались осложнения в виде анемии у 14,0% пациенток основной группы и 9,0% пациенток контрольной группы. Осложнений послеродового периода в виде лохиометры, эндометрита, тромбофлебита в ходе проведенного исследования не наблюдалось.

На рисунке 13 изображены исходы беременностей у женщин исследуемых групп.

Группа ПВ



Группа УВ

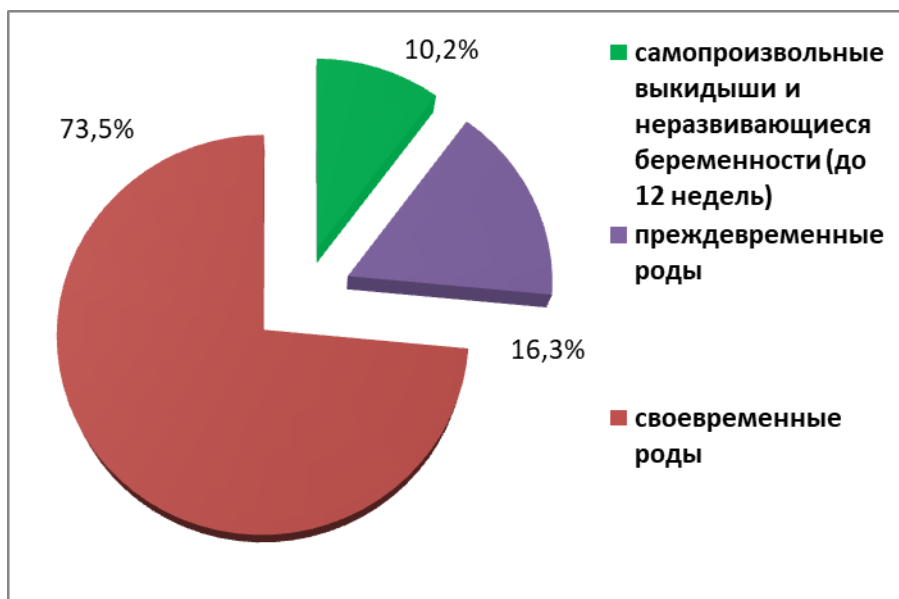


Рисунок 13. Исходы беременностей у женщин групп ПВ и УВ.

Как следует из представленных данных, в группе ПВ своевременные роды произошли в 67,3% случаев, преждевременные роды у 12,7% наблюдаемых женщин, в 20% наблюдений имели место ранние потери беременности до 12 недель. У женщин группы УВ в 73,6% случаев произошли своевременные роды и в 16,3% преждевременные роды, ранние потери беременности до 12 недель отмечены в 10,2% случаях. В группе ФБ все беременности завершились своевременными родами.

3.8. Прогностическая значимость провоспалительных факторов митохондриального происхождения в зависимости от гестационного срока

Нами были проанализированы динамические изменения уровня ПФМП в динамике беременности для определения их прогностической значимости.

Было выявлено, что мембранный белок VDAC1, являющимся маркером количественного содержания митохондрий, претерпевает в динамике изменения в зависимости от срока беременности. Стоит отметить, что для

физиологической беременности в сроке 6 недель установлено достоверно более высокое содержание фрагментов митохондрий в плазме крови по сравнению с группой УВ и ПВ, в дальнейшем наблюдается снижение и последующий плавный подъем к 25 неделям. К концу гестации во всех трех группах значения снижаются и достоверно не различаются (рисунок 14).

Полученные значения белка VDAC1 использовались нами для нормирования содержания исследуемых белков с целью нивелировать эффект разного содержания митохондрий.

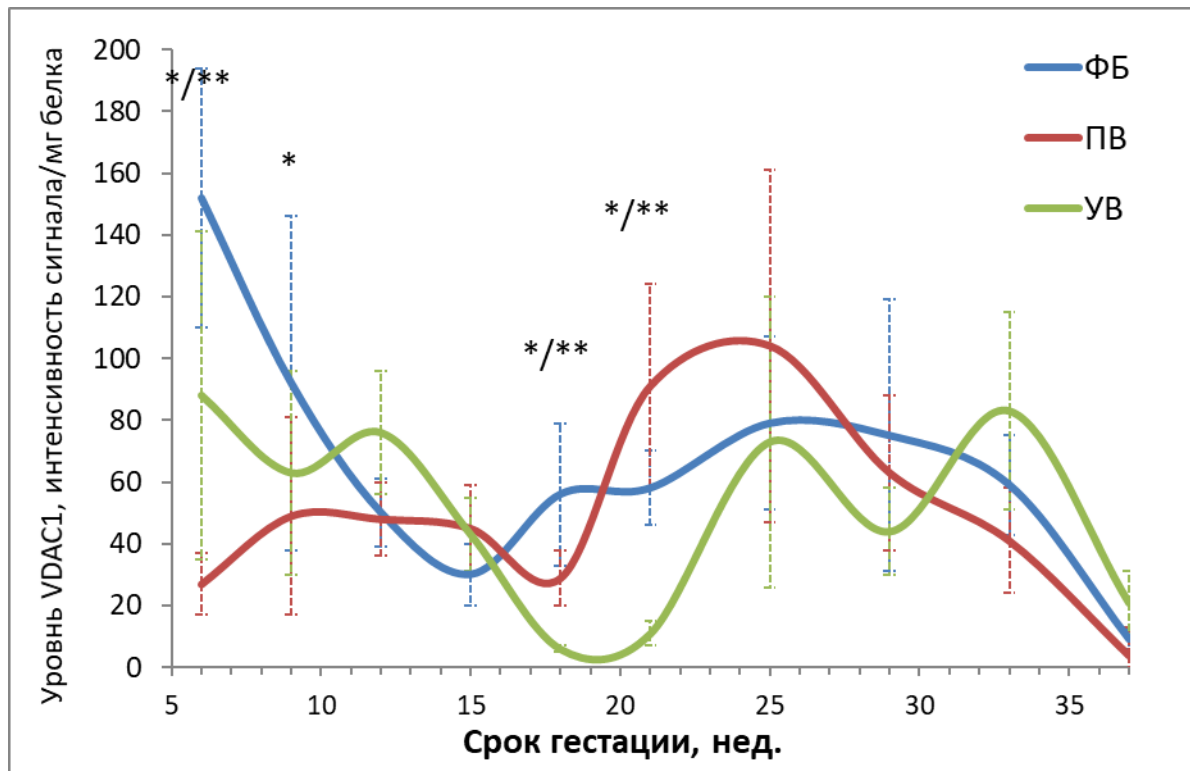


Рисунок 14. Уровень VDAC1 в микровезикулах плазмы крови беременных исследуемых групп. * - достоверность различий между группами ($p < 0,05$). ** - достоверность различий между группами ($p < 0,0001$).

Было выявлено, что другой перспективный маркер плацентарных нарушений, опосредованных нарушением митохондриального биогенеза - белок OPA1 на разных сроках гестации отражает различное состояние плаценты в норме и при плацентарной недостаточности. При

физиологической беременности мы наблюдали низкий уровень этого белка в микровезикулах плазмы крови на сроке 12 недель, а при привычном выкидыше мы видим резкое его повышение в этот период, приводящее к снижению эффективности системы элиминации поврежденных митохондрий и увеличению продукции АФК. К 25 неделям складывается новое равновесие между процессами биогенеза и контроля качества митохондрий, обусловленное растущими энергозатратами развивающегося плода. В связи с этим в 25 недель мы наблюдаем подъем уровня ОРА1 практически на порядок при физиологической беременности, а достоверно более низкое значение для привычного выкидыша позволяет прогнозировать осложнения на базе измерения этого параметра (рисунок 15). Наконец, при угрожающем выкидыше на сроке 18 недель мы также наблюдаем достоверные различия с физиологической беременностью, что позволяет оценить эффективность проводимой терапии.

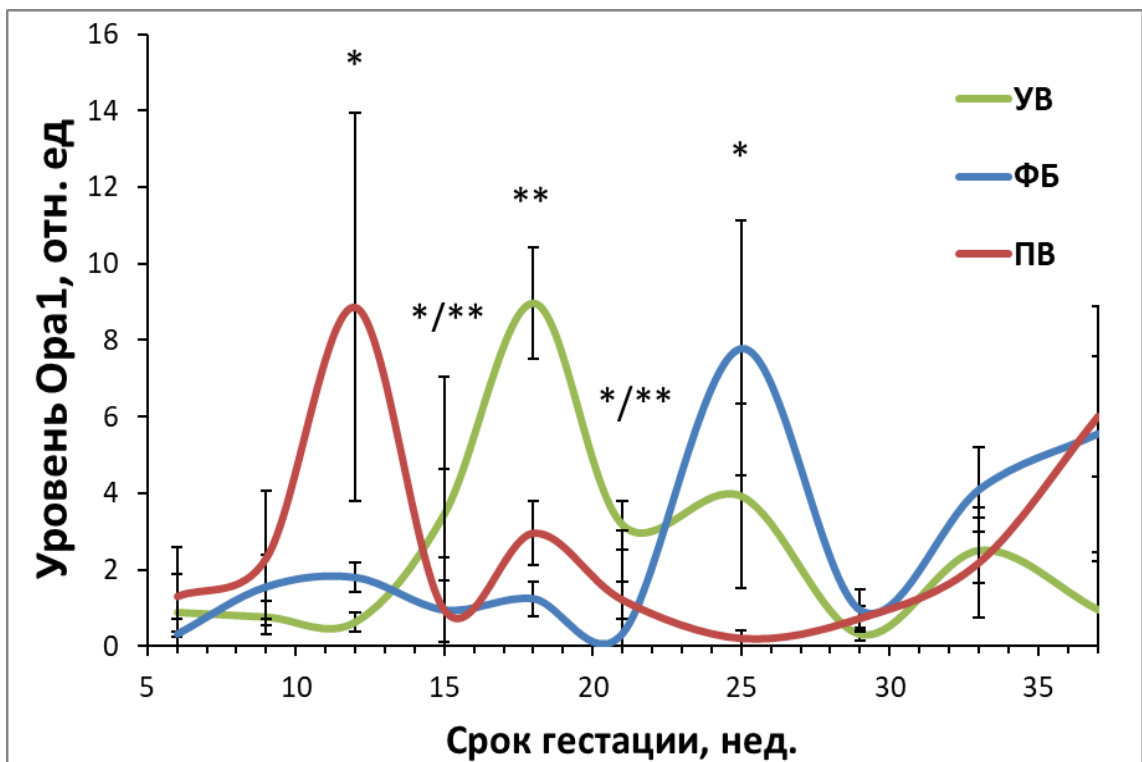


Рисунок 15. Уровень белка ОРА1 в микровезикулах плазмы крови беременных. * - достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

** - достоверность различий между группа ($p < 0,0001$).

Регрессионный анализ уровня провоспалительного фактора митохондриального происхождения, белка TFAM (рисунок 16), показал, что максимумы экспрессии этого белка значительно (на 3-4 недели) разнесены по времени для физиологической и осложненной беременности

Дальнейшие исследования в данном направлении помогут в создании диагностического теста, который уже в начале второго триместра позволит прогнозировать развитие гестационных осложнений, ассоциированных с воспалением неинфекционного генеза.

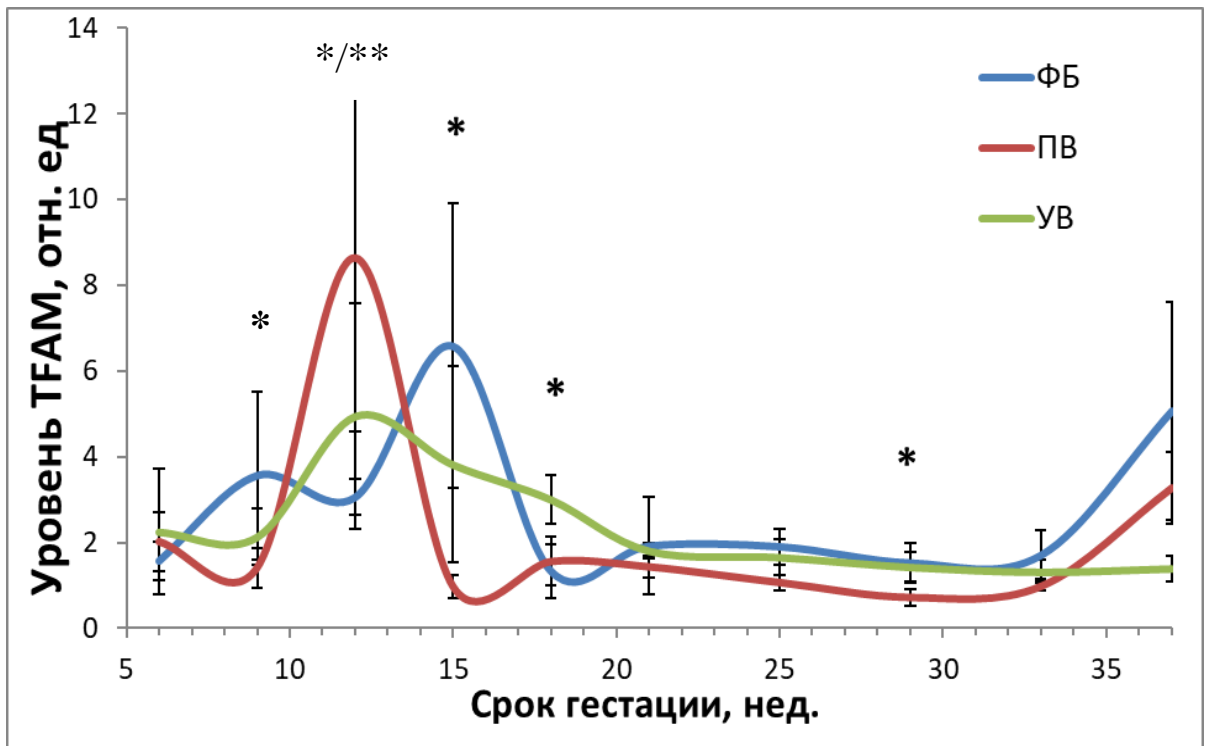


Рисунок 16. Уровень белка TFAM в микровезикулах плазмы крови беременных. * - достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

** - достоверность различий между группа ($p < 0,0001$).

Было обнаружено, что на сроках гестации 15 недель и 21 неделя наблюдаются выраженные различия уровня белка DRP1, позволяющие использовать его, как маркер нарушений плацентарной функции вместе с ранее проанализированными белками. Успешность терапевтического

воздействия при ПВ и УВ находит отражение на сроке гестации 25 недель, с данного момента при успешности лечения и вплоть до окончания беременности различия в уровне маркера недостоверны во всех исследуемых группах (рисунок 17).

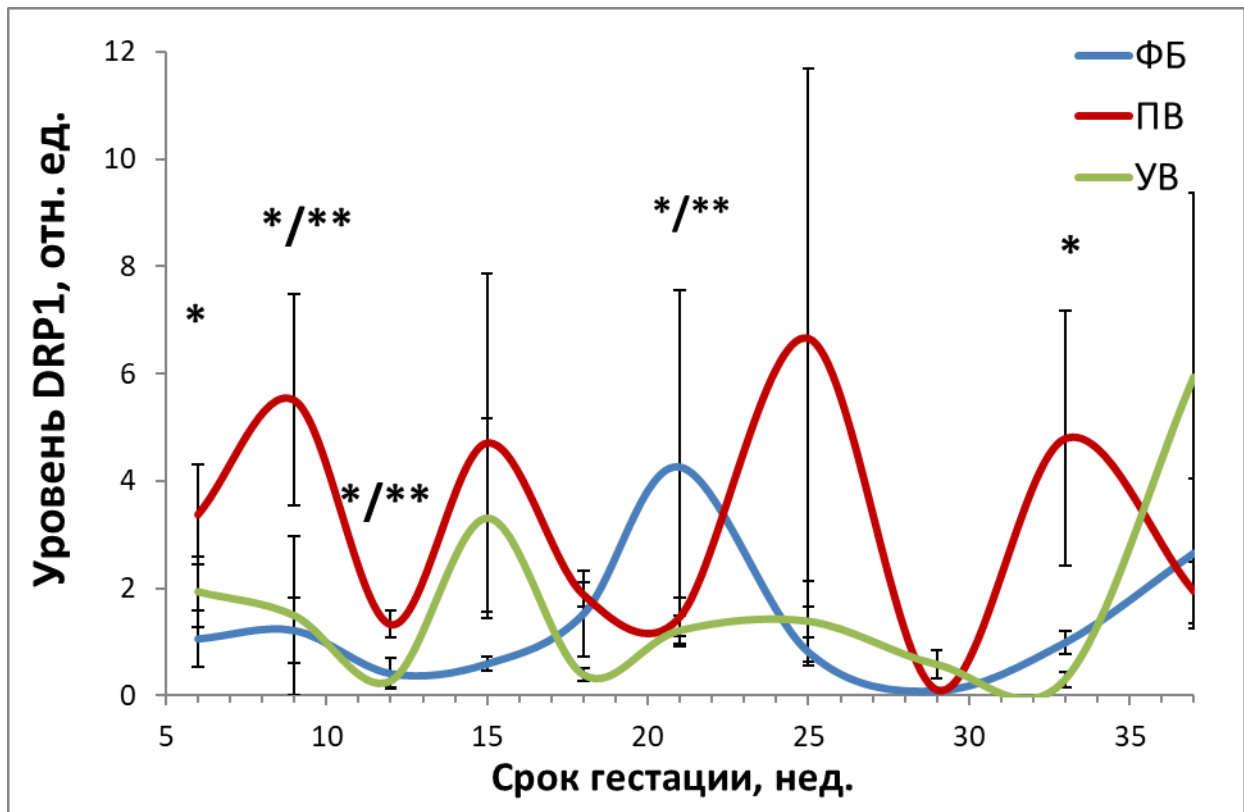


Рисунок 17. Уровень белка DRP1 в микровезикулах плазмы крови беременных. * - достоверность различий между группами ($p < 0,05$).

** - достоверность различий между группами ($p < 0,0001$).

В ходе данной работы нами был охарактеризован общий паттерн ПФМП при физиологической беременности (рисунок 18). Установлено, что при ФБ во время второй волны инвазии трофобласта происходит резкое увеличение активности TFAM, выражающейся в подъеме репликации митохондриальной ДНК.

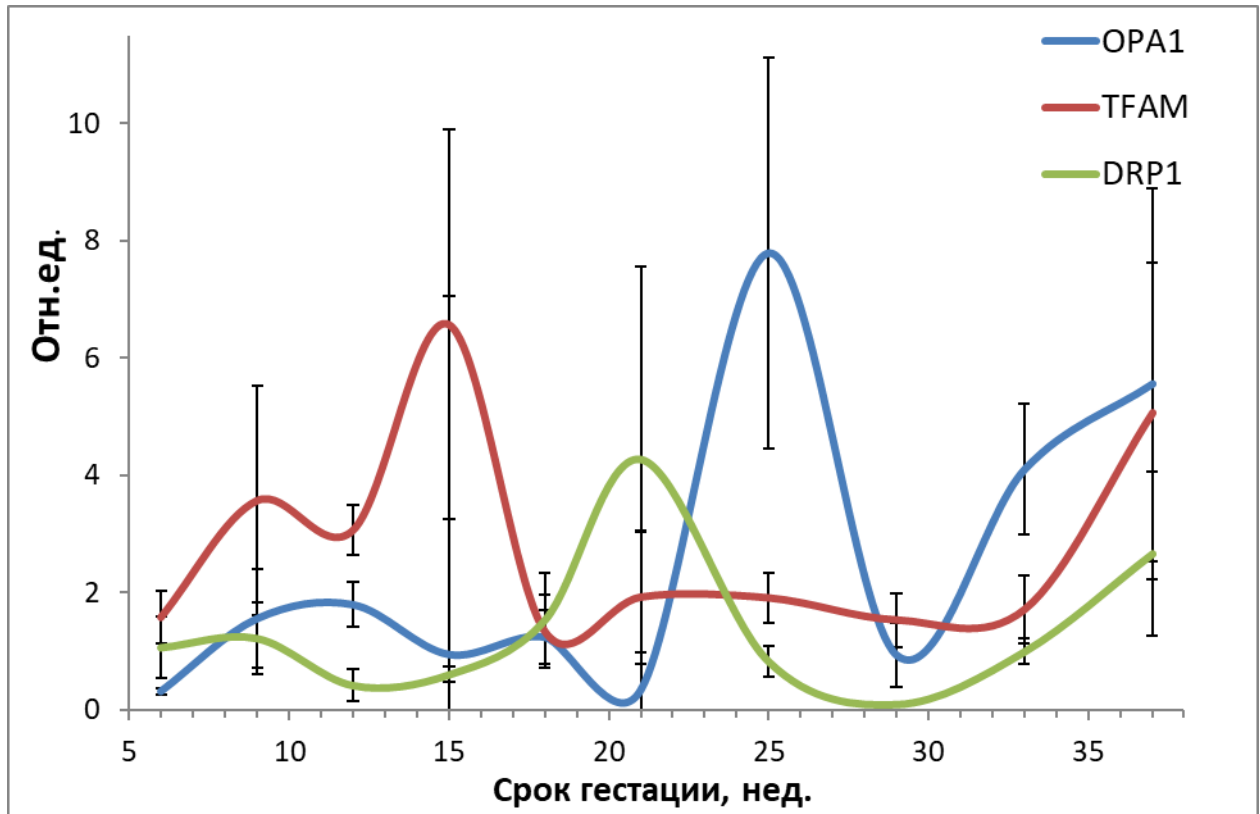


Рисунок 18. Динамика ПФМП в плазме крови при физиологической беременности (ФБ)

Разнонаправленная в отношении фрагментации/сшивания митохондриального ретикулума активность белков OPA1 и DRP1 в этом периоде уравновешена. К 18-й неделе активируется и начинает превалировать процесс деления митохондрий (пик белка DRP1), а к 25-ти неделям тенденция сменяется на противоположную – происходит слияние и удлинение отобранных на предыдущем этапе митохондрий (пик белка OPA1). К концу физиологической беременности наблюдается синхронный рост всех ПФМП.

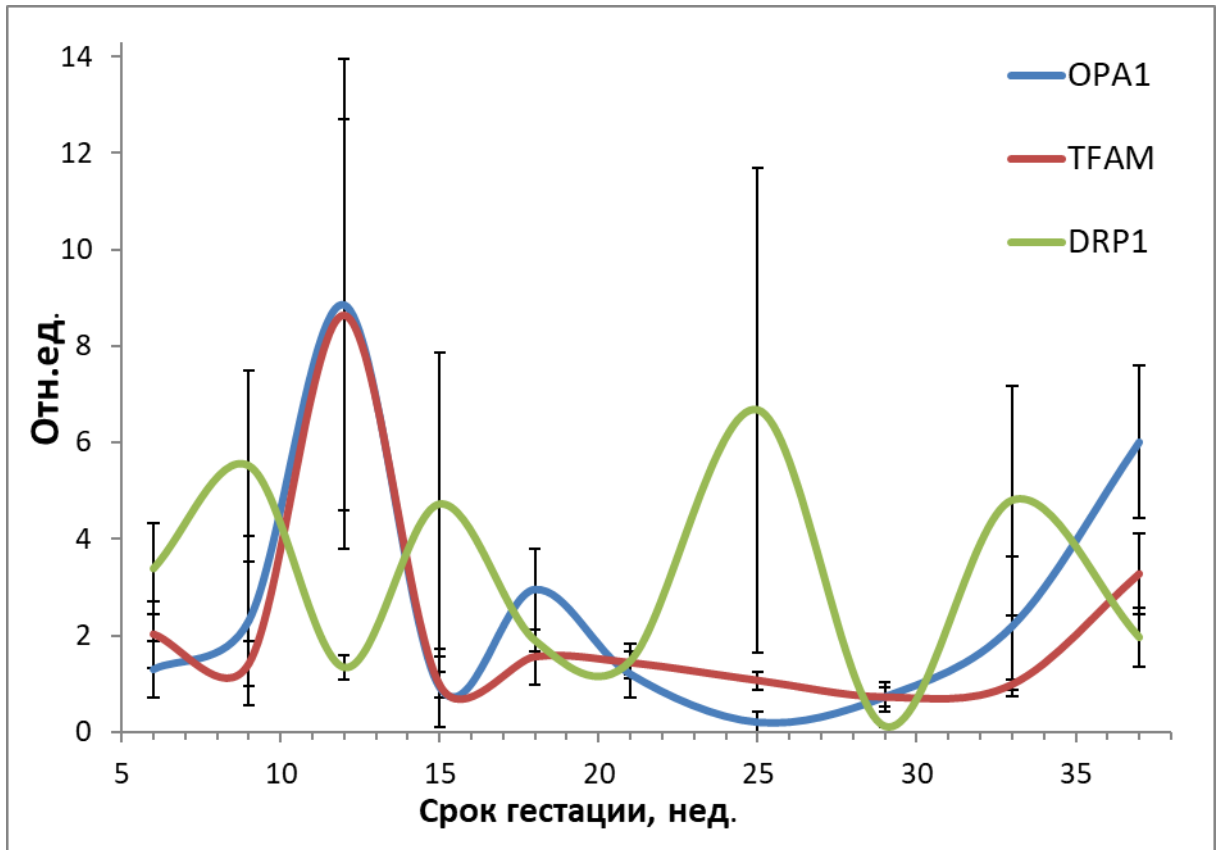


Рисунок 19. Динамика ПФМП в плазме крови женщин с привычным выкидышем (ПВ)

В отличие от физиологической беременности, для привычного выкидыша характерен существенно более ранний подъем уровня TFAM, а именно в сроке 12 недель, что говорит об увеличении скорости репликации митохондриальной ДНК (рисунок 19). Однако, в данном случае повышение транскрипционной активности и массы митохондрий под действием проводимого лечения сопровождается снижением контроля качества митохондрий – то есть происходит снижение белка DRP1.

В результате дисбаланса слияния и деления митохондрий накапливаются длинные митохондрии низкого качества, отличающиеся высоким уровнем продукции АФК, что приводит к преждевременной индукции запрограммированной гибели клеток трофобласта и предрасполагает фетоплацентарный комплекс к развитию плацентарной недостаточности.

Интересно, что если беременность при этом была пролонгирована в результате использования гестагенов, то баланс восстанавливается, что отражается в увеличении к 25 неделям уровня белка DRP1, отвечающего за деление митохондрий. Восстановления контроля качества митохондрий в плаценте снижает уровни продукции АФК и носит компенсаторный характер на фоне проводимой терапии.

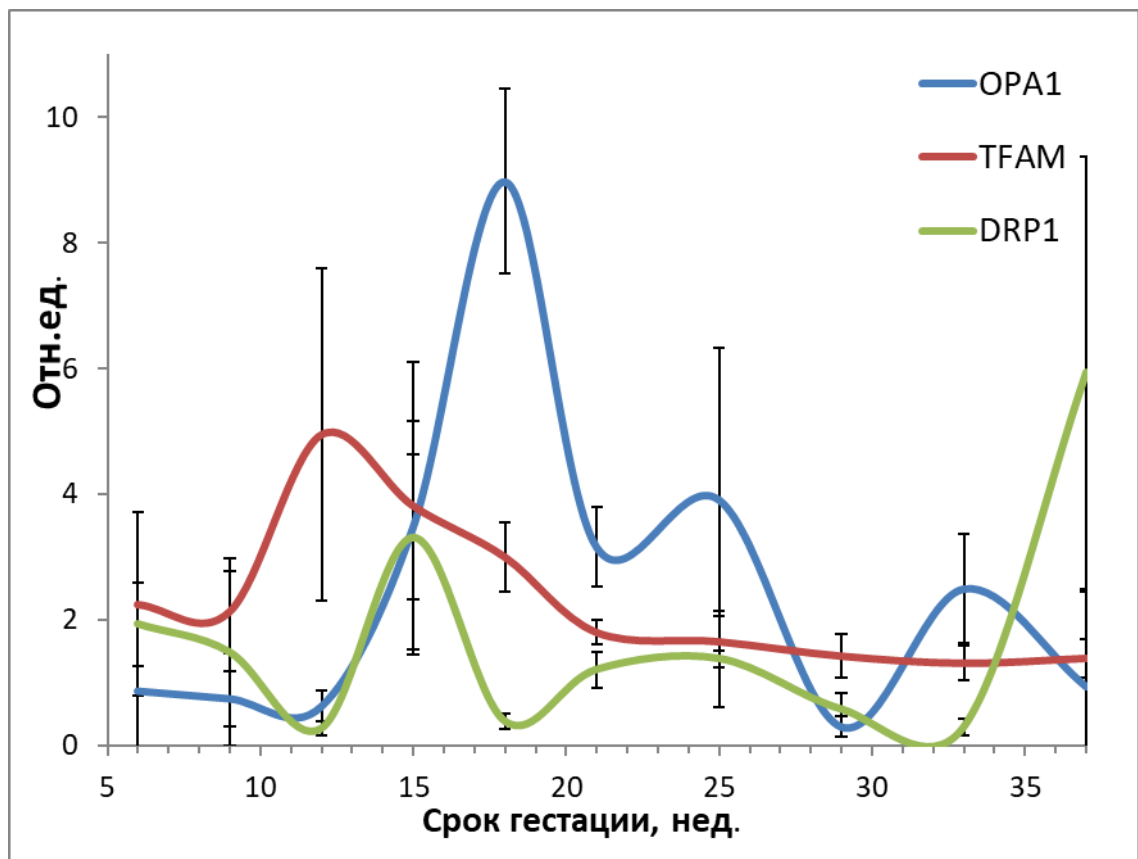
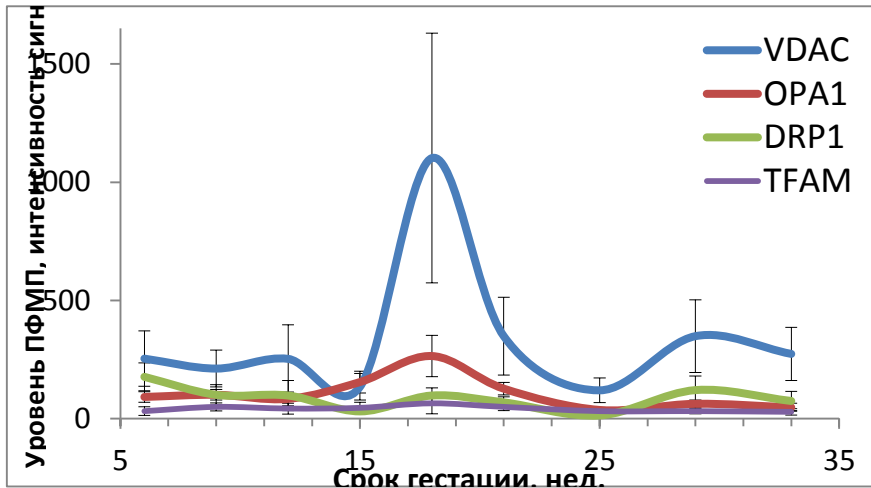


Рисунок 20. Динамика ПФМП в плазме крови женщин с угрожающим выкидышем (УВ)

Переходя к группе УВ (данные представлены на рисунке 20), стоит отметить, что 12-недельный подъем транскрипционной активности TFAM не совпадает с пиком активности OPA1, смещающимся на более поздний срок – 18 недель, и только в 21 неделю при успешной терапии происходит синхронизация процессов биогенеза и контроля качества митохондрий.

3.9 Анализ содержания ПФМП в плазме крови при преждевременных родах.

На основании проведенных измерений содержания ПФМП было установлено, что для всех четырех исследованных митохондриальных белков микровезикул плазмы крови беременных, при преждевременных родах достоверно увеличено их содержание (рисунок 21).



VDAC1	9	18	21	25	29	33			
6	p<0,0001	p<0,0001							
9			p=0,05		p=0,04				
12		p<0,0001							
15		p<0,0001	p<0,0001		p<0,0001	p=0,04			
18			p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001			
21				p<0,0001					
25					p<0,0001	p=0,02			
OPA1	18	21	25	29	33				
6	p<0,0001								
9	p<0,0001		p=0,05						
12	p=0,02								
15	p<0,0001		p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001				
18		p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001				
21			p=0,0004	p=0,04	p=0,005				
DRP1	9	12	15	18	21	25	29	33	
6	p=0,0004	p<0,0001	p<0,0001	p=0,0004	p<0,0001	p<0,0001	p=0,02	p<0,0001	
9			p=0,001			p<0,0001			
12			p=0,001			p<0,0001			
15				p=0,005			p<0,0001		
18						P=0,0001			
21						p=0,03	p=0,04		
25							p<0,0001	p=0,008	

Рисунок 21. Динамика ПФМП в плазме крови женщин с преждевременными родами (верхняя панель), достоверность различий для разных сроков гестации (нижняя панель)

Сравнение данных с результатами измерения ПФМП в плазме крови женщин с ФБ и ПР показало, что для VDAC1 на сроке 18 недель повышение уровня составляет более одного порядка, что говорит о физиологической значимости этого феномена (рисунок 22). Для белка OPA1 в этот же момент различия хоть и не так велики (меньше 5х), однако тоже имеют достоверный характер. Кроме того, для данного белка наблюдается транзитный подъем почти до максимального уровня в сроке 33 недель гестации (рисунок 23).

Интересно, что до 18 недель происходит синхронное параллельное увеличение уровня DRP1 как для физиологической, так и для осложненной преждевременными родами беременности (рисунок 24). Однако, далее с увеличением срока гестации, уровень этого белка в микровезикулярной фракции крови беременных при ФБ прогрессивно нарастает и достигает максимума к 25 неделям, в то время как при ПР на 25 неделях наблюдается минимум содержания с последующим стремительным ростом к 33 неделям, когда для ФБ наблюдается минимум. Такое противофазное изменение содержания этого белка в норме и при патологии говорит о пока невыясненном молекулярном механизме, контролирующем его экспрессию в условиях стрессового воздействия при осложненной беременности.

Необходимо отметить, что для такого высокоактивного ПФМП как белок TFAM наблюдается совершенно иная картина динамики содержания в плазме крови беременных при ФБ и ПР. Максимум локализован на сроке 12 недель, соответствующем критической точке формирования плаценты и определения дальнейшей траектории развития беременности (рисунок 25).

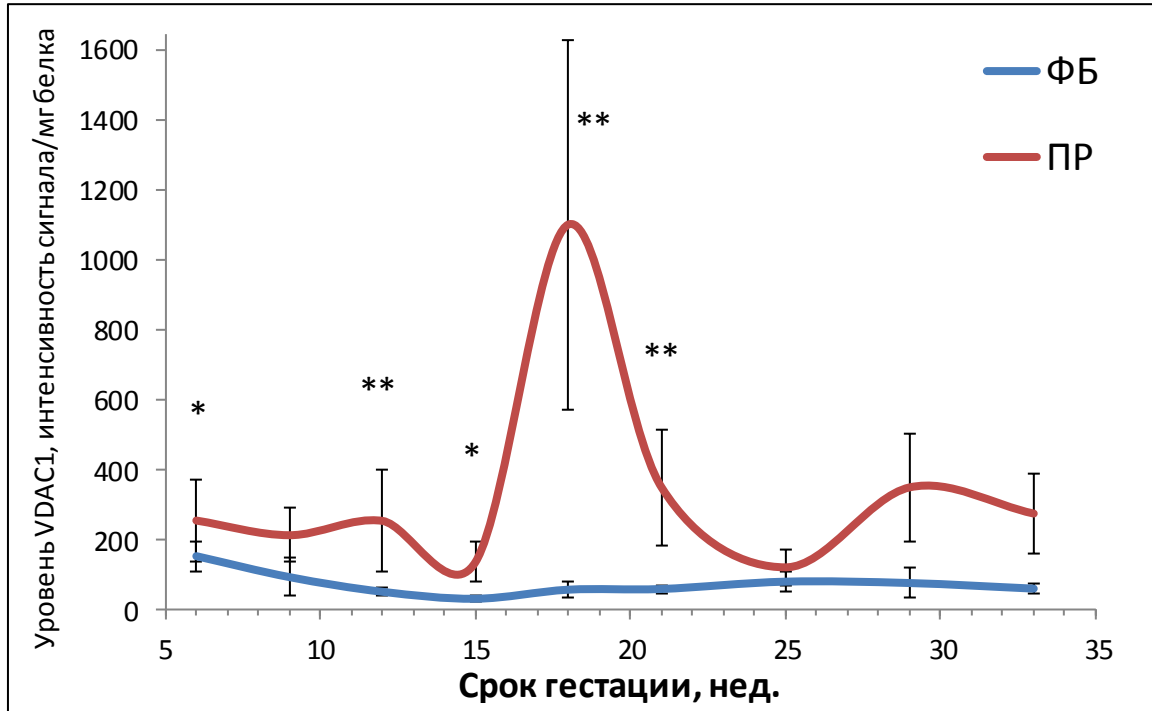


Рисунок 22. Содержание VDAC1 в плазме крови у женщин с преждевременными родами (ПР) и физиологической беременностью (ФБ); * $p < 0,05$, ** $p < 0,0001$ статистически значимые различия между группами

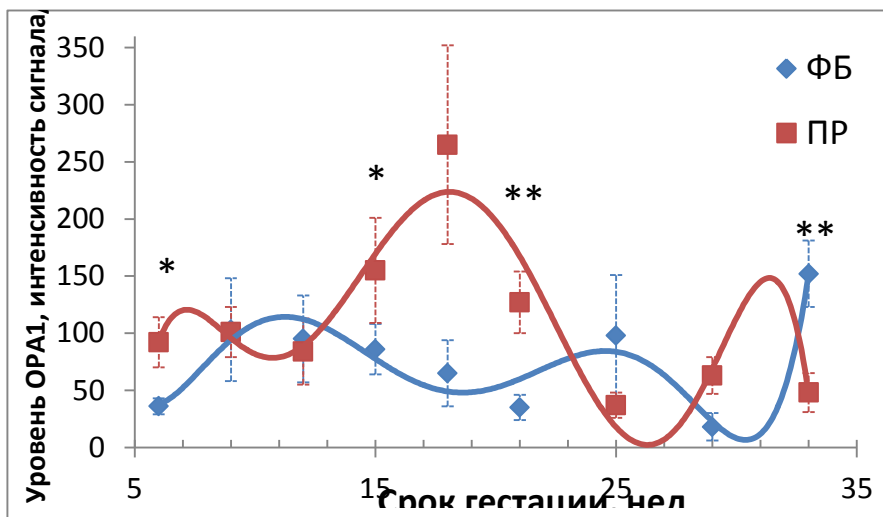


Рисунок 23. Уровень ORA1 в плазме крови у женщин с преждевременными родами (ПР) и физиологической беременностью (ФБ); * $p < 0,05$, ** $p < 0,0001$ статистически значимые различия между группами

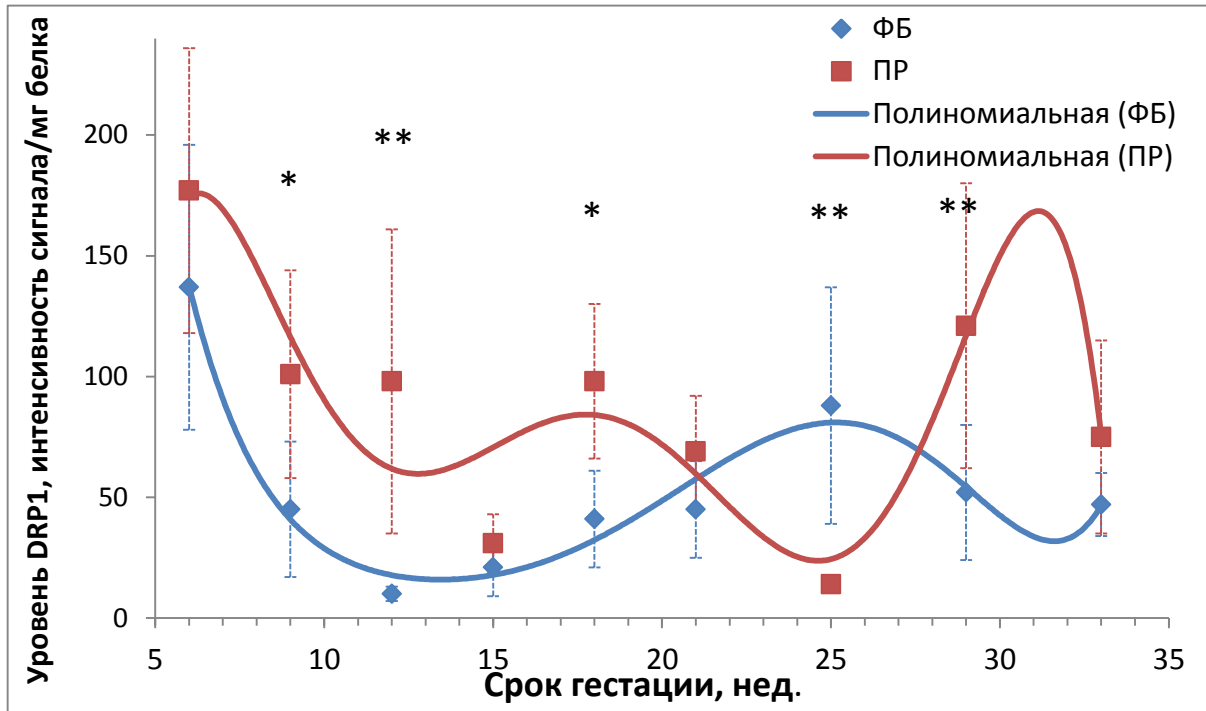


Рисунок 24. Уровень DRP1 в плазме крови у женщин с преждевременными родами (ПР) и физиологической беременностью (ФБ); * $p < 0,005$ **, $p < 0,0001$ статистически значимые различия между группами

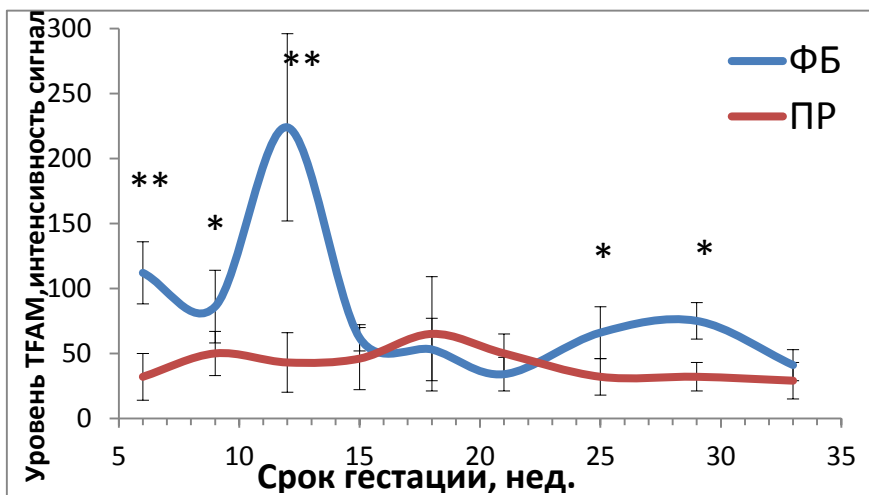


Рисунок 25. Уровень ПФМП TFAM в плазме крови женщин с преждевременными родами (ПР) и физиологической беременностью (ФБ); * $p < 0,05$ **, $p < 0,0001$ статистически значимые различия между группами

На основании полученных данных нами был проведен регрессионный анализ с целью построения модели, которая в рамках диагностики позволила бы уточнить вероятность наступления преждевременных родов с целью коррекции тактики лечения.

Прогностическая значимость для оценки вероятности наступления преждевременных родов была найдена для VDAC1 на сроках гестации 15-18 недель. На представленной ROC-кривой (рисунок 26) площадь под кривой составила 0,74 , 95%-ный доверительный интервал - 0,5899 -0,898 ($p < 0,005$). Уровень порогового значения выбирали исходя из баланса максимальной чувствительности и специфичности. При содержании VDAC более 30000 чувствительность модели составила 67%, специфичность 77%. Уровень порогового значения выбирали исходя из требования максимальной суммы чувствительности и специфичности. При содержании VDAC более 102743 чувствительность модели составила 43%, специфичность 92%. Таким образом, в большей степени, модель дает истинный результат при наличии отрицательного исхода.

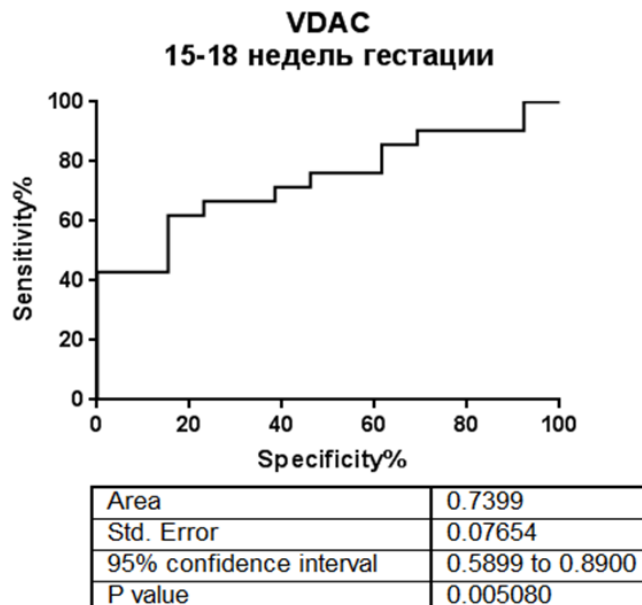


Рисунок 26. Прогностическая значимость модели вероятности ПР на основе определения уровня VDAC1 в микровезикулах плазмы крови беременных. Прогностическая значимость для оценки вероятности наступления

преждевременных родов была найдена для TFAM на сроках гестации 6 недель. На представленной ROC-кривой (рисунок 27А) площадь под кривой составила 0,8519, 95%-ный доверительный интервал 0,6813 -1,022 ($p=0,006946$). Уровень порогового значения выбирали исходя из требования баланса максимальной чувствительности и специфичности. При содержании TFAM менее 45000 чувствительность модели составила 89%, специфичность 75 %.

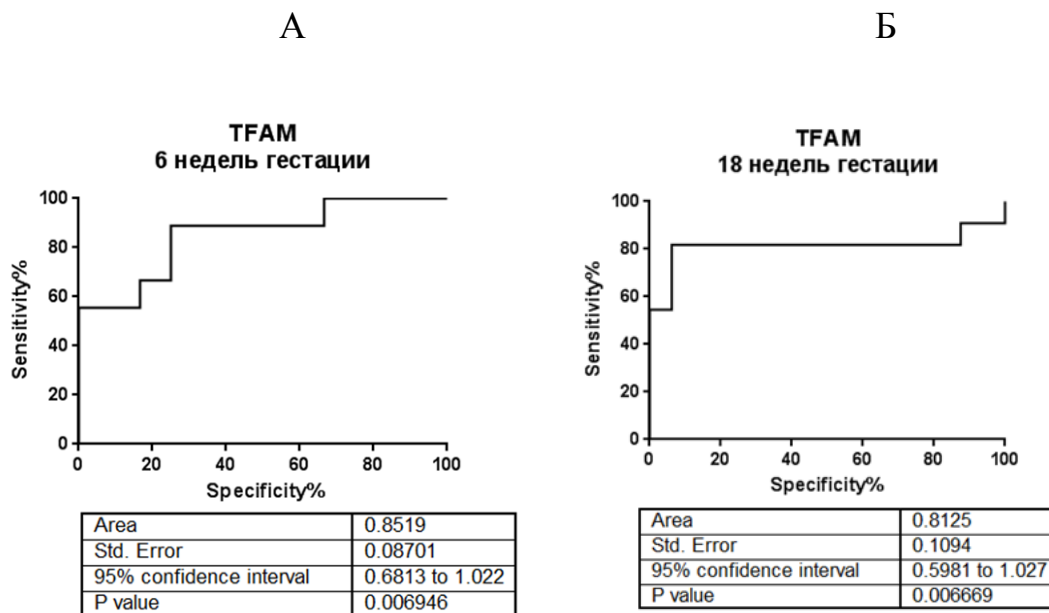


Рисунок 27. Прогностическая значимость модели вероятности ПР на основе определения уровня TFAM в микровезикулах плазмы крови беременных

Кроме того, прогностическая значимость для оценки вероятности наступления преждевременных родов была найдена для TFAM на сроках гестации 18 недель. На представленной ROC-кривой (рисунок 27Б) площадь под кривой составила 0,8125, 95%-ный доверительный интервал 0,5981 - 1,027 ($p=0,006669$). Уровень порогового значения выбирали исходя из требования баланса максимальной чувствительности и специфичности. При содержании TFAM менее 25000 чувствительность модели составила 82%, специфичность 94 %.

ГЛАВА 4

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблемы самопроизвольных прерываний беременности и преждевременных родов остаются ключевыми в современном акушерстве. Несмотря на возрастающие диагностические возможности при обследовании супружеских пар с привычным выкидышем, существует категория пациентов, причины потерь беременности у которых остаются неясными. Беременные с угрожающим и привычным выкидышем составляют группу риска по реализации так называемых плацента-ассоциированных осложнений. Считается общепризнанным, что неполная инвазия трофобласта и последующая недостаточность функции плаценты, формирующаяся в первой половине беременности, приводят к таким осложнениям, как ранняя преэклампсия, задержка роста плода, неоднократные кровотечения, мертворождение, преждевременные роды. В течение многих недель первого и второго триместров беременности патология плацентации может протекать бессимптомно, что при отсутствии эффективных диагностических маркеров создает трудности в оценке происходящих процессов и эффективности проводимой терапии [22,29,35].

Известно, что воспалительные реакции являются ключевым звеном в реализации успешной репродуктивной функции, начиная с регуляции менструального цикла, овуляции, ранних этапов беременности (плацентации, имплантации) и до родового процесса при своевременных родах [13,26,35].

Описана роль нарушения сбалансированного течения воспаления при таких патологиях, как бесплодие, обусловленное эндометриозом, привычный выкидыш, преэклампсия, задержка роста плода, а также преждевременные роды [5,18,104].

По-видимому, это обусловлено тем, что одной из значимых причин неполной инвазии трофобласта и незавершенной децидуализации является нарушение нормального течения воспалительной реакции [21,95]. Как

избыточные, так и недостаточно выраженные воспалительные процессы могут приводить к невозможности имплантации, очень ранним доклиническим потерям беременности и привычному выкидышу в целом. В то время, как вклад воспалительного фактора в патогенез ранних преждевременных родов изучался неоднократно, исследования, посвященные ранним нарушениям имплантации при самопроизвольно наступившей беременности немногочисленны. Однако, если воспаление инфекционного генеза и его последствия достаточно хорошо изучены, патогенез асептического воспаления остается неясным и представляет собой нерешенную проблему [53]. Попытки прогнозирования акушерских осложнений при привычном выкидыше на фоне асептического воспаления проводились отдельными группами зарубежных ученых [132,142]. В качестве индукторов асептических воспалительных реакций исследователи описывают: внеклеточную плодовую ДНК, белки теплового шока, протеин S100, пурины, нуклеосомы, насыщенные жирные кислоты, антимикробные пептиды и другие факторы [87,101,160].

Роль макромолекул, попадающих в периферический кровоток при повреждении клеток и тканей в патогенезе патологий, ассоциированных с окислительным стрессом, все чаще обсуждается в зарубежной литературе [61].

Особое внимание в последнее время уделяется так называемым ПФМП (провоспалительным факторам митохондриального происхождения), называемым в иностранных источниках DAMP (Damage Associated Molecular Patterns) [170]. Среди последних, как наиболее активные в плане индукции воспаления, выделяют ПФМП, такие как митохондриальная ДНК (мтДНК), фактор инициации трансляции мтДНК белок TFAM, аденозинтрифосфат (АТФ), кислые липиды митохондриальных мембран и др. [45,163].

Особую роль в каскаде реакций, приводящих к развитию воспаления неинфекционного генеза, играют протеолипиды и пептидные фрагменты

митохондриальных мембранных белков, содержащие на N-конце остаток формилметионина, сходные по своей иммуностимулирующей активности с бактериальными белками [65,82,161].

При этом, прогностическая ценность определения ПФМП при беременности, осложненной на ранних сроках кровотечением, остается не исследованной [89,112].

В этой связи, **целью** настоящего исследования явилась оптимизация программы ведения беременностей у женщин с угрожающим и привычным выкидышем на основании раннего прогнозирования гестационных осложнений и оценки эффективности проводимой терапии по уровням провоспалительных факторов митохондриального происхождения (ПФМП).

Для достижения поставленной цели было проведено проспективное исследование трех групп женщин, наблюдавшихся с момента диагностики беременности при обращении в Научно-поликлиническое отделение Центра за период 2015-2019 гг.

Проводилось динамическое измерение уровней ПФМП в течение всей беременности у женщин с привычным выкидышем (группа ПВ), при беременности, осложненной кровотечением (группа угрожающего выкидыша – группа УВ) и беременных с неотягощенным акушерским анамнезом (группа физиологической беременности - ФБ). Исследование проводилось у всех пациенток, начиная со срока 6 недель беременности с интервалом 3 недели до 22 недель беременности, далее ежемесячно до родоразрешения.

После определения строгих критериев включения / не включения в группы, динамическое наблюдение было проведено 132 женщин.

Критериями включения в группу ПВ являлись: нормальный кариотип партнеров, привычный выкидыш (наличие в анамнезе 3 и более потерь беременности до 22 недель от одного и того же партнера или 2 и более потерь, если в каждом случае был подтвержден нормальный кариотип плода), маточная беременность малого срока, информированное согласие

женщины на проведение исследования. В группу УВ включены женщины с наличием кровяных выделений из половых путей в сроке 6 недель беременности с неотягощенным акушерским анамнезом и наличием маточной беременности с документированным сердцебиением плода по данным УЗИ.

Контрольную группу составили женщины с неотягощенным акушерским и гинекологическим анамнезом, физиологическим течением беременности на момент обследования, подписавшие информированное согласие на проведение исследования.

Критерии не включения были едиными для всех трех групп: многоплодная беременность, наличие генетических родительских факторов привычных потерь беременности, анатомические причины привычного выкидыша, наличие хронических инфекционных, системных аутоиммунных, онкологических заболеваний, резус-сенсбилизация.

Перед включением в исследование все пациентки прошли обследование по определенной схеме, состоящей из сбора данных анамнеза, объективного и гинекологического осмотров, инструментальных исследований, включавших в себя ультразвуковое исследование для подтверждения развивающейся маточной беременности.

В соответствии с поставленными задачами, у всех беременных проводилось обследование и амбулаторное наблюдение в Научно-поликлиническом отделении ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» МЗ РФ по стандартной схеме, разработанной в отделении профилактики и лечения невынашивания беременности (2-м отделении акушерском патологии беременности). При необходимости в госпитализации стационарное лечение проводилось во 2-м отделении акушерском патологии беременности.

Были проанализированы факторы риска прерывания беременности у женщин исследуемых групп. Причины, приводящие к прерываниям беременности чрезвычайно разнообразны и включают в себя эндокринные,

анатомические, инфекционные, тромбофилические, аллоиммунные, аутоиммунные, нарушения [140].

Из проанализированных соматических заболеваний достоверные отличия отмечены в частоте встречаемости субклинического гипотиреоза и хронического цистита. У пациенток с УВ и ПВ частота вышеуказанных заболеваний достоверно превышала показатели в группе ФБ.

При анализе структуры гинекологической заболеваемости отмечено, что патология шейки матки встречалась статистически значимо чаще в группе ПВ (у 27,3%), чем в группе УВ – (12,2%) и в группе ФБ у 14,3% ($p < 0,05$). Воспалительные заболевания органов малого таза в анамнезе, в частности, хронический эндометрит значимо чаще отмечен в группах ПВ и УВ - 61,8% и 42,8% соответственно, чем в группе ФБ. Пациенткам с ПВ вне беременности в программе прегравидарной подготовки проводилась противовоспалительная терапия, после которой контрольные анализы свидетельствовали об отсутствии инфекционно-воспалительных процессов. В программе прегравидарной подготовки и во время беременности проводилось обследование на инфекции, передающиеся половым путем. Абсолютных патогенов выявлено не было ни в одном случае. Титр условно-патогенных микроорганизмов по результатам количественного ПЦР метода (фемофлор-16) в первом триместре не превышал установленных нормативных значений (10^3 и менее). Причиной подобного высокого процента инфекционно-воспалительных осложнений у женщин с привычным выкидышем согласно данным литературы может быть не только восходящее инфицирование, но и неоднократные оперативные вмешательства, проводимые с диагностической и лечебной целью, а также генетическая предрасположенность к воспалительным процессам [24,125]. Проанализированы другие этиологические факторы женщин из группы ПВ, в частности, эндокринные нарушения: в 5,5% случаев диагностированы поликистозные яичники и субклинический гипотиреоз в 25,5% наблюдениях.

Всем женщинам проводилось лечение до наступления планируемой беременности, гормональные нарушения были компенсированы.

Проанализированы данные репродуктивного анамнеза у женщин исследуемых групп: так, потери первого триместра составили 84,5% от числа всех самопроизвольных выкидышей у женщин с ПВ, поздние выкидыши регистрировались относительно редко – 4,1% в сроках с 13 до 22 недель беременности. Женщины с УВ чаще были первобеременными, чем пациентки с ФБ.

Согласно современным литературным данным, женщин основной группы можно отнести в группу высокого риска по реализации ранних и поздних гестационных осложнений, таких как угрожающий выкидыш, угроза преждевременных родов, преэклампсия, плацентарная недостаточность, задержка роста плода [3,25,40]. У беременных всех трех групп (ПВ, УВ, ФБ) было произведено определение уровней провоспалительных факторов митохондриального происхождения, дальнейшее динамическое наблюдение за беременностью, анализ осложнений и исходов беременностей.

Самым частым осложнением I триместра беременности у женщин исследуемых групп был угрожающий и начавшийся выкидыш 70,9% в группе ПВ и 100% в группе УВ (критерий включения в группу). Полученные результаты согласуются с данными литературы о высоком проценте кровотечений в первом триместре у женщин с ПВ [42]. При УВ без отягощенного акушерского анамнеза в 2 раза чаще, чем при ПВ встречались заоболочечные гематомы (14,3% по сравнению с 7,3%), а также кровотечения без образования гематом (55,1% по сравнению с 38,2% при ПВ).

Для определения уровней провоспалительных факторов митохондриального происхождения (ПФМП) у пациенток исследуемых групп проводили фракционирование венозной крови, выделение микровезикул из полученной плазмы и методом Вестерн-блот проводился анализ содержания митохондриальных белков в микровезикулах.

Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи программы GraphPad Prism 8.0.

При анализе ранних потерь беременности в группах установлено, что из 16 неразвивающихся беременностей 11 (86%) приходилось на группу ПВ, среди них 6 (6/11 - 54,6%) – с нормальным кариотипом. В 5 наблюдениях (5/11 - 45,4%) отмечены анеуплоидии. Среди группы УВ процент анеуплоидий был выше и составил 60% (3/5), в 2 (2/5 – 40,0%) случаях кариотип был нормальным.

При сопоставлении результатов воспалительного ответа при нормальном и патологическом кариотипе плода были получены следующие результаты.

При неразвивающихся беременностях уровень ПФМП в крови женщин в 6 недель беременности был достоверно ниже, особенно при патологическом кариотипе абортуса, чем у женщин с развивающимися беременностями. Руководствуясь полученными данными, можно утверждать, что нормальное течение беременности сопровождается достаточно высокими значениями содержания митохондриальных белков в периферической крови, в то время как при потерях беременности мы регистрировали существенно меньшее и, видимо, недостаточное для активации инфламмасом трофобласта количество митохондриальных белков. Вероятно, жизнеспособное плодное яйцо способно индуцировать в эндометрии сбалансированный провоспалительный ответ, тогда как при угрожающем и привычном выкидыше имеет место нарушение данного взаимодействия, результирующее в гибель плодного яйца. Полученные нами данные согласуются с доминирующей в последнее время концепцией о необходимости провоспалительного состояния иммунной системы для успешности процессов имплантации и плацентации в начале беременности и формирования противовоспалительного фона на более поздних ее сроках.

Полученные нами результаты наглядно демонстрируют, что на ранних сроках беременности маркеры асептического воспаления у женщин с угрожающим и привычным выкидышем достоверно отличаются при наличии кровотечения. Если у женщин с привычным выкидышем пик уровня белков ОРА1 и TFAM приходится на срок 12 недель и достоверно отличается от показателей в группах угрожающего выкидыша и физиологической беременности, то впоследствии - под действием проводимой терапии гестагенами, происходит снижение показателей, к 20-й неделе достигающих уровня, соответствующего физиологической беременности. Интересно, что в группе угрожающего выкидыша без отягощенного акушерского анамнеза терапия гестагенами носит кратковременный характер и пик воспалительных маркеров приходится на срок беременности 18 недель. Отметим, что в группе привычного выкидыша подобная тенденция также видна, однако, различия статистически незначимы, хотя и ниже, чем в группе угрожающего выкидыша.

В рамках данной концепции, обнаружение низких уровней ПФМП в первом триместре может применяться в качестве раннего маркера неблагоприятного течения беременности и последующих гестационных осложнений [81,88].

Известно, что физиологическая беременность протекает на фоне окислительного стресса, выступающего триггером воспалительного процесса, который на ранних сроках гестации играет ведущую роль в формировании плаценты, а далее отвечает за ее ремоделирование. В первом триместре окислительный стресс стимулирует экспрессию транскрипционных факторов, регулирующих ангиогенез и инвазию трофобласта, вызывает регрессию ворсинок хориона и способствует формированию дискоидальной формы плаценты, а также компенсаторно-приспособительных механизмов, направленных на улучшение процессов микроциркуляции для повышения кровоснабжения плаценты и плода [47].

При нормальном балансе регуляторных процессов, контролирующих течение окислительного стресса, происходит фокальное повреждение трофобласта и прогрессирующая дегенерация ворсинок с последующим образованием плодных оболочек. Нормальное течение данного процесса является ключевым моментом благоприятного исхода беременности. В то время как физиологические концентрации кислорода в маточно-плацентарном комплексе поддерживает транспортные и белок-синтетические функции, окислительный стресс некомпенсируемого типа, вызывающий развитие патологических процессов, возникает, когда производство АФК превосходит емкость антиоксидантных систем при высоком парциальном давлении кислорода. При массовом апоптозе клеток плаценты, индуцированном АФК, происходит снижение ее функциональных возможностей, проявляющееся на более поздних сроках беременности. Таким образом, окислительный стресс некомпенсированного типа играет существенную роль не только в патофизиологии выкидыша, но и в развитии задержки роста плода [93] и преэклампсии (ПЭ). В целом, дисфункция плацентарных митохондрий, играющих ведущую роль в индукции окислительного стресса и программированной клеточной гибели может иметь решающее значение для ряда гестационных осложнений, имеющих серьезные последствия для здоровья матери и плода.

Нами были проанализированы течение и исходы беременностей женщин всех исследуемых групп.

Угроза прерывания беременности у женщин групп ПВ и УВ была отмечена во втором триместре беременности с высокой частотой и практически не отличалась в группе ПВ и УВ - 29,1% и 26,5% соответственно. Истмико-цервикальная недостаточность была достоверно чаще отмечена у женщин с ПВ в 36,4% случаев, по сравнению с 14,3% пациенток группы УВ и 10,7% группы ФБ ($p < 0,05$).

Осложнения течения III триместра беременности у женщин с привычным выкидышем были представлены угрозой преждевременных родов, плацентарной недостаточностью, то есть состояниями, в основе которых лежит нарушение плацентации [36,70]. Многие исследователи обоснованно полагают, что истоки данных состояний лежат в первом триместре беременности, когда происходит инвазия трофобласта [4,33,34,79].

Нами были проанализированы изменения уровней ПФМП в динамике беременности и полученные результаты сопоставлены с осложнениями и исходами гестационного процесса у женщин исследуемых групп.

Было установлено, что мембранный белок митохондрий VDAC, являющимся маркером содержания митохондрий, претерпевает количественные изменения в везикулярной фракции плазмы крови в зависимости от срока беременности. Выявлено, что при физиологической беременности (ФБ) на сроке 6 недель отмечается достоверно более высокое содержание фрагментов митохондрий в плазме крови по сравнению с группой УВ и ПВ, в дальнейшем наблюдается снижение содержания этого белка в микровезикулах плазмы крови и его последующий плавный подъем к 25 неделям гестации. К концу беременности во всех трех группах значения содержания VDAC в микровезикулах плазмы снижаются и достоверно не различаются для трех исследованных групп беременных.

Известно, что в плаценте при таких гестационных осложнениях как преэклампсия и задержка роста плода митохондриальный динамический баланс сдвинут в сторону фрагментации митохондриального ретикулума, о чем свидетельствует увеличение экспрессии/активации белка DRP1 и уменьшение содержания OPA1 [111].

В рамках данного исследования, нами установлено, что изменение содержания белка OPA1 на разных сроках гестации отражает различное состояние плаценты в норме и при плацентарной недостаточности. При ФБ мы наблюдаем низкий уровень этого белка в микровезикулярной фракции

плазмы крови в 12 недель, в то время как при ПВ отмечается резкое его повышение, свидетельствующее о снижении эффективности системы элиминации поврежденных митохондрий и увеличению продукции АФК. К 25 неделям складывается новое равновесие между процессами биогенеза и контроля качества митохондрий, обусловленное растущими энергозатратами развивающегося плода. В связи с этим, в 25 недель мы наблюдаем подъем уровня ОРА1 при ФБ, а достоверно более низкое значение при ПВ позволяет прогнозировать осложнения на базе измерения этого параметра. При угрожающем выкидыше пик, соответствующий максимальному содержанию ОРА1 в микровезикулах плазмы крови приходится на срок 18 недель гестации, что свидетельствует о временном смещении вероятности осложнений по сравнению с физиологической беременностью, где такие изменения наблюдаются в сроке 25 недель. По-видимому, имеет место более ранняя манифестация изменений митохондриального биогенеза, в норме соответствующего более поздним срокам гестации и адекватного нормам потребления растущего плода. По-видимому, резервные возможности плаценты при ПВ и УВ определяются более узким диапазоном адаптивных возможностей, по сравнению с неосложненной беременностью. Провоспалительное состояние, соответствующее физиологической беременности в сроке 25 недель, было описано в предыдущих исследованиях. Так, содержание НК клеток с фенотипом CD3-CD16+ у женщин с физиологическим течением беременности в 25 недель было достоверно выше, чем у беременных с привычным выкидышем, как и уровни CD200+-клеток (63). Хотя не вполне ясно, какая эволюционная задача продиктовала необходимость индукции воспалительных реакций именно в данном гестационном сроке – 25 недель, мы предполагаем, что в это время происходят обусловленные началом интенсивного роста плода структурные изменения плаценты, сопровождающиеся повышением порога качества и функционального состояния митохондрий. Данный процесс сопровождается

селективным отбором и разрушением значительной части митохондрий с последующим выбросом в системный кровоток митохондриальных белков TFAM и OPA1. Дисрегуляция описанных процессов и понижения отбора отсеки приводит к критично высокому уровню селекции и элиминации митохондрий при низком уровне OPA1. Патологическое состояние, соответствующее привычному выкидышу, в таком случае, является следствием уменьшения количества митохондрий и резкого падения энергообеспеченности плаценты, приводящих к формированию плацентарной недостаточности. Именно поэтому, как мы полагаем, зарегистрированы достоверные различия в уровнях TFAM и OPA1 при физиологической беременности, угрожающем и привычном выкидыше, а также преждевременных родах.

Исследование динамики содержания митохондриальных белков в везикулярной фракции крови беременных выявило связь этого параметра со сроком гестации как для группы женщин с физиологической беременностью, так и для преждевременных родов. Оказалось, что для данной патологии, тесно ассоциированной с воспалением, выполняющим роль триггера родовой деятельности, в сроке 18 недель, соответствующем позднему выкидышу, в микровезикулах плазмы наблюдается пик содержания маркера количества митохондрий VDAC1 ($p < 0.0001$). Интересно, что для образцов, полученных в этом сроке, также наблюдается достоверно более высокое содержание белка DRP1, ответственного за фрагментацию митохондрий при реализации программы контроля качества органелл ($p < 0,005$). В то же время, для белка слияния митохондрий OPA1 в интервале от 15 до 21 недели ($p < 0,0001-0,005$) также наблюдается повышенное содержание, что говорит об активации митохондриального биогенеза, выполняющей роль триггера воспалительных реакций при индукции преждевременных родов, чего не наблюдается при физиологической беременности в эти сроки. Что касается такого известного провоспалительного фактора митохондриального происхождения, как белок

TFAM, его содержание в микровезикулах плазмы крови женщин с преждевременными родами значительно ниже, по сравнению с физиологической беременностью. В то время как для нормы ярко выраженный пик, соответствующий воспалительным реакциям первого триместра и ассоциированной с ней плацентацией и успешным последующим течением беременности, наблюдается на сроке 12 недель ($p < 0.0001$), для преждевременных родов это явление отсутствует, в том числе и на поздних сроках беременности на фоне транзитной активации биогенеза митохондрий в 31-33 недели ($p < 0,0001$). Повышение уровня провоспалительного фактора митохондриального происхождения TFAM может являться маркером воспалительного ответа и неблагополучия в фето-плацентарной системе при компроментированной функции плаценты. При этом, у пациенток с угрожающим выкидышем под действием проводимой терапии отмечается нормализация уровней провоспалительных факторов митохондриального происхождения, что коррелирует с последующим нормальным течением беременности.

По результатам исследования изменения содержания ПФМП в микровезикулярной фракции плазмы крови беременных были построены регрессионные модели, позволяющие предсказывать вероятность наступления преждевременных родов. Для 15-18 недель беременности, на основе баланса максимальной чувствительности и специфичности, была определена прогностическая значимость оценки вероятности наступления преждевременных родов по уровню VDAC1 (площадь под кривой составила 0,74, 95%-ный доверительный интервал - 0,5899 - 0,898, $p < 0,005$). Кроме того, был определен порог специфичности и чувствительности, позволяющий делать прогноз при наличии отрицательного результата прогнозирования преждевременных родов.

Таким образом, нарушения в процессах имплантации, инвазии трофобласта и плацентации, отражающиеся в изменении содержания ПФМП

в микровезикулярной фракции плазмы крови беременных, создают предпосылки для формирования плацентарной недостаточности, лежащей в основе поздних гестационных осложнений.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что определение содержания ПФМП в микровезикулярной фракции плазмы крови беременных позволяет прогнозировать осложнения как первого триместра, так и преждевременные роды вследствие развития плацентарной недостаточности.

ВЫВОДЫ

1. При анализе клинико-анамнестических данных установлено, что пациентки с угрожающим и привычным выкидышем сопоставимы по возрасту, характеру менструальной функции, частоте экстрагенитальных заболеваний. Женщины с ПВ в анамнезе имели большую частоту гинекологических заболеваний и операций на органах репродуктивной системы. Несмотря на плановую терапию гестагенами у женщин с ПВ в 71% случаев первый триместр осложнился кровотечениями с образованием гематом у каждой 3-й беременной (32,8%) с преобладанием ретрохориальных гематом (25,5%). При УВ без отягощенного акушерского анамнеза в 2 раза чаще, чем при ПВ встречались заоболочечные гематомы (14,3% по сравнению с 7,3%), а также кровотечения без образования гематом (55,1% по сравнению с 38,2% при ПВ).

2. Потери беременности первого триместра у женщин с УВ и ПВ преимущественно происходили в сроках 6-7 недель беременности (80,0% и 54,6% от числа всех выкидышей соответственно). После 8 недель беременность прервалась с равной частотой в обеих группах (20,0%-27,3%). Прерывание беременностей на ранних сроках в 2 раза чаще отмечено у женщин с ПВ - 20,0% по сравнению с 10,0% в группе УВ.

3. Из числа прервавшихся беременностей, нормальный кариотип абортусов отмечен в 54,6% группы ПВ и в 40% случаев при УВ. Хромосомные нарушения были представлены анеуплоидиями в обеих группах (45,4% в группе ПВ, 60% в группе УВ). При неразвивающихся беременностях уровень провоспалительных факторов митохондриального происхождения (ПФМП) в крови женщин в 6 недель беременности был достоверно ниже, особенно при патологическом кариотипе абортуса, чем у женщин с развивающимися беременностями.

4. Зарегистрированы достоверные различия в содержании белков OPA1 и TFAM при физиологической беременности, угрожающем и привычном выкидыше. Максимальные значения были зарегистрированы в группе привычного выкидыша в 12 недель, в группе угрожающего выкидыша в 18 недель беременности, а в группе физиологической беременности - на сроке 25 недель. Подобные изменения в уровнях ПФМП отражают волны инвазии трофобласта и плаценты с последующим провоспалительным ответом материнского организма.

5. Установлено резкое повышение уровня ПФМП при привычном выкидыше в конце первого триместра беременности на фоне снижения эффективности системы элиминации поврежденных митохондрий при экзогенном окислительном стрессе, ассоциированном с воспалением. Разнонаправленность уровней ПФМП уже на ранних сроках гестации отражает различное состояние формирующейся плаценты при физиологической и осложненной беременности, что создает предпосылки для развития плацентарной недостаточности у женщин с угрожающим и привычным выкидышем.

6. Показано, что у женщин с последующим развитием преждевременных родов по сравнению с женщинами, родившими своевременно имеют место достоверные различия в уровнях ПФМП: на сроке 12 недель в микровезикулах плазмы крови отсутствует соответствующее физиологической беременности количество провоспалительного фактора митохондриального происхождения белка TFAM, а в сроке 18 недель содержание митохондриального белка VDAC1 на порядок выше, чем в норме.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У женщин с угрожающим и привычным выкидышем рекомендуется определять интенсивность воспалительного ответа путем измерения уровней ПФМП в плазме крови в первом триместре беременности. Низкие уровни ПФМП в сроке 6 недель беременности являются неблагоприятным прогностическим фактором ранних гестационных осложнений (самопроизвольного выкидыша, неразвивающейся беременности, анеуплоидии) и должны служить основанием для расширенного клинико-лабораторного обследования, углубленного мониторинга и подбора терапии.
2. Повышение уровня ПФМП в сроке 12 недель беременности у женщин с ПВ указывает на положительный прогноз развития беременности при сохранении возможности реализации плацента-ассоциированных осложнений.
3. Рекомендуется исследование уровня ПФМП в диапазоне от 15 до 18 недель беременности для прогнозирования плацентарной недостаточности, задержки роста плода и elective досрочного родоразрешения у групп беременных высокого риска.
4. При повышении содержания ПФМП в плазме крови, начиная со второго триместра беременности, необходимо провести детальное обследование фето-плацентарного комплекса для оптимизации акушерской тактики в случае ухудшении состояния плода.
5. Определение содержания ПФМП в плазме крови у женщин с угрожающим и привычным выкидышем в анамнезе, начиная с 25 недель, позволяет оценить эффективность проводимого лечения и при нормализации показателей прогнозировать успешный исход беременности.

АЛГОРИТМ ОБСЛЕДОВАНИЯ ПАЦИЕНТОК С УГРОЖАЮЩИМ И ПРИВЫЧНЫМ ВЫКИДЫШЕМ С ОПРЕДЕЛЕНИЕМ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ФАКТОРОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ



СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АФС – антифосфолипидный синдром
АФК – активные формы кислорода
ВА – волчаночный антикоагулянт
ВПР – врожденные пороки развития
ДВС – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания
СЗРП – синдром задержки роста плода
ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность
ПВ – привычный выкидыш
ПР – преждевременные роды
ПЦР – полимеразная цепная реакция
ПФМП – провоспалительные факторы митохондриального происхождения
СПКЯ – синдром поликистозных яичников
УВ – угрожающий выкидыш
УЗИ – ультразвуковое исследование
ФБ – физиологическая беременность
 β -ХГЧ – бета-субъединица хорионического гонадотропина человека
ХА – хромосомные анеуплоидии
ER – эндоплазматический ретикулум
HLA – лейкоцитарные антигены человека
NK – натуральные киллеры
DAMP - Damage Associated Molecular Patterns
DRP1 – dynamin related protein 1
HMGB1 – high-mobility group protein B1
OPA1 - optic atrophy 1
TFAM – transcription factor activation mitochondrial
VDAC - voltage dependent anionic channel

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абрамченко, В.В. Ведение беременности и родов высокого риска / В.В. Абрамченко. – М.: Медицинское Информационное Агенство, 2004. – 400 С.
2. Акушерство. Национальное руководство / Под ред. Э.К. Айламазяна, В.И. Кулакова, В.Е. Радзинского, Г.М. Савельевой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1218 С.
3. Атласов, В.О. Преждевременные роды и недоношенный ребенок в 22-27 недель гестации: практическое руководство для врачей / В.О. Атласов, Д.О. Иванов, И.Б. Года. – Спб.: Фолиант, 2012. – 253 С.
4. Башмакова, Н.В. Сверхранные преждевременные роды: новые результаты / Н.В. Башмакова // Status Praesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак. – 2014. - № 6 (23) – С. 13-21.
5. Биохимические маркеры угрожающих преждевременных родов / А.Е. Коваленко, Н.И. Калинина, М.В. Алексеенкова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2013. - № 3. – С. 43-47.
6. Бугеренко, Е.Ю. Прегравидарная подготовка пациенток с отягощенным акушерским анамнезом / Е.Ю. Бугеренко // Вопросы гинекологии акушерства и перинатологии. -- 2012. – Т. 11, № 3. – С. 18-24.
7. Булатова Ю.С., Тетрашвили Н.К., Вишнякова П.А., Высоких М.Ю., Марей М.В., Пятаева С.В., Сухих Г.Т. / Митохондриальные белки микровезикул плазмы периферической крови как биомаркеры ранних потерь беременности // Акушерство и гинекология. 2017; 7: 46-51.
8. Ведение беременности у женщин с невынашиванием в анамнезе / В.И. Краснопольский, О.Ф. Серова, Л.И. Титченко [и др.] // Пособие для врачей МЗ МО.- М., 2007. - 24 С.

9. Грачева, М.И. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности / Кан Н.Е., Красный А.М. // *Акушерство и гинекология*. 2016; 10: 5-10.
10. Дифференцированный подход к прегравидарной подготовке у пациенток с привычным невынашиванием беременности в анамнезе / Р.И. Шалина, М.В. Михалева, А.П. Кирющенко [и др.] // *Российский вестник акушера-гинеколога*. – 2015. – Т. 15. №5. – С. 36-40.
11. Доброхотова, Ю.Э. Неразвивающаяся беременность. Тромботические и клиничко-иммунологические факторы / Ю.Э. Доброхотова, Э.М. Джобаева, Р.И. Озерова – ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – 144 С.
12. Доброхотова, Ю.Э. Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности / Л.В. Ганковская, И.В. Бахарева, О.А. Свитич // *Акушерство и гинекология*. 2016; 7: 5-10
13. Ильина И.Ю., Доброхотова Ю.Э. Роль окислительного стресса в развитии гинекологических заболеваний. *Акушерство и гинекология*. 2021; 2: 150-156
14. Кан, Н.Е. Клинические и молекулярно-генетические факторы риска преждевременного разрыва плодных оболочек / Н.Е. Кан [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2013. - №4. – С. 14-18.
15. Кан, Н.Е. Особенности антиоксидантной защиты беременных в системе «мать-плацента-плод» при внутриутробной инфекции / Е.А. Сироткина, В.Л. Тютюнник, М.Ю. Высоких // *Акушерство и гинекология*. 2016; 1: 40-46
16. Крыжановская, М.В. Роль инфекционного фактора в развитии преждевременных родов / М. В. Крыжановская // *Медико-социальные проблемы*. – 2011. – №16(1). – С. 104-107.
17. Куликов, В.Ю. Роль окислительного стресса в регуляции метаболической активности внеклеточного матрикса соединительной ткани (обзор) / В.Ю. Куликов // *Медицина и образование в Сибири*. – 2009. - № 4. – С. 1-17.

18. Левит, Д.А. Варианты развития острого системного воспаления / Д.А. Левит, И.Н. Лейдерман // Цитокины и воспаление. – 2008. - №2. – С. 15-18.
19. Милованова, А.П. Цитотрофобластическая инвазия – ключевой механизм развития нормальной и осложненной беременности / А.П. Милованова, А.К. Кириченко – Красноярск, 2009.
20. Митохондриальный метаболизм активных форм кислорода: десять лет спустя (обзор) / А. Ю. Андреев, Ю. Е. Кушнарева, Э. Н. Мерфи [и др.] // Биохимия. – 2015. – Vol. 80, N 5. – P. 612-630.
21. Недосейкина, М.С. Особенности морфологического строения последов у женщин с преждевременными родами / М.С. Недосейкина, А.В. Мишин, Е.И. Барановская // Проблемы здоровья и экологии. – 2012. - №24. – С. 79-83.
22. Новые подходы к ведению очень ранних преждевременных родов / О.Ф. Серова, И.В. Чернигова, Е.В. Данилова [и др.] // Мать и дитя в Кузбассе. – 2014. №3. – С. 22-26.
23. Оказание помощи при осложненном течении беременности, родов и послеродового периода, Рекомендации ВОЗ, 2003
24. Поиск путей профилактики преждевременных родов / Г.М. Савельева, Е.Ю. Бугеренко, Р.И. Шалина, [и др.] // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2013. - №4. – С. 18-33.
25. Прегравидарная подготовка в профилактике преждевременных родов / Г.М. Савельева, М.А. Курцер, О.Б. Панина [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2017. – Т. 16. № 6. – С. 24-29.
26. Проблема преждевременных родов в современном акушерстве / Г.М. Савельева, Р.И. Шалина, О.Б. Панина [и др.] // Российский медицинский журнал. - 2014. - №5. - С. 4-9

27. Прокопенко, В.М. Проксидантная и антиоксидантная системы в митохондриях плаценты при ее дисфункции / В.М. Прокопенко, Н.Г. Павлова, А.В. Арутюнян // Журн. акуш. и жен. бол. – 2010. – № 5. – С. 56-62.
28. Реабилитация репродуктивного здоровья супружеских пар с невынашиванием беременности / Л. В. Посисеева, А. И. Малышкина, Е. Л. Бойко [и др.] – Иваново: ОАО «Изд-во «Иваново», 2008. -240 С.
29. Савельева, Г.М. Прегравидарные нарушения маточного кровотока у пациенток с преждевременными родами в анамнезе / Г.М. Савельева, Е.Ю. Бугеренко, О.Б. Панина // Акушерство и гинекология. – 2012. - № 4-1. – С. 42-47.
30. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности: Руководство для практикующих врачей / В.М. Сидельникова, Г. Т. Сухих. - М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2011. - С.9.
31. Тетрашвили, Н.К. Привычный выкидыш / Н.К. Тетрашвили // Акушерство и гинекология: Новости, мнения, обучение. – 2017. - №4 (18). – С. 70-87.
32. Тютюнник В.Л. Возможности прогнозирования преждевременных родов путем определения содержания митохондриальной ДНК и структурно-функционального белка VDAC1 // Н.Е. Кан, М.Ю. Высоких, М.К. Меджидова // Акушерство и гинекология. 2021; 3: 58-65.
33. Ходжаева, З.С. Особенности секреции про- и антиангиогенных факторов в I триместре беременности у женщин с привычным выкидышем в анамнезе / З. С. Ходжаева, Г. Т. Сухих, Е. В. Мусиенко. Проблемы репродукции. 2011; 2: 30-4.
34. Шалина, Р.И. Комплексная терапия беременных с угрозой преждевременных родов / Р.И. Шалина, Е.Р. Плеханова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. - Т. 6. №1. – С. 33-40.

35. Шалина, Р.И. Преждевременные роды / Р. И. Шалина, З. С. Ходжаева // *Акушерство национальное руководство. Сер. «Национальные руководства»* Под Ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского. – Москва, 2015. – С. 213-229.
36. Шаргаева, Н.В. Морфология последа при плацентарной недостаточности / Н.В. Шаргаева // *Проблемы здоровья и экологии*. – 2005. - №7. – С. 69-77.
37. Экстремально ранние преждевременные роды. Исходы для детей в условиях поэтапного оказания медицинской помощи / А.И. Малышкина, О.Н. Песикин, С.Б. Назаров [и др.] // *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. – 2015. - №1 (7). – С. 17-21.
38. Щербаков В.И., Поздняков И.М., Ширинская А.В., Волков М.В. Уровень интерлейкина-6, растворимых рецепторов интерлейкина-6, сосудисто-эндотелиального фактора роста при срочных родах, угрозе преждевременных родов и преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2017; 3: 50-4.
39. Affiliations expand «Inflammosome in the Human Endometrium: Further Step in the Evaluation of the "Maternal Side" / Silvia D'Ippolito, Chiara Tersigni, Riccardo Marana [et al.] // *Fertility Sterility*. – 2016. – Vol.105, N 1. – P.111-118
40. Abruptio-induced preterm delivery is associated with Thrombin-Mediated Functional Progesterone Withdrawal in Decidual Cells / C.J. Lockwood, U.A. Kayisli, C. Stocco [et. al.] // *Am J Pathology*. – 2012. – Vol.181, N 6. – P. 2138-2148.
41. Acute Chorioamnionitis and Funisitis: Definition, Pathologic Features, and Clinical Significance / C.J. Kim, R. Romeo, P. Chaemsaitong [et al.] // *Am J Obstetrics Gynecology*. – 2015. – Vol. 213, N40. – P. S29-S52.
42. ACOG practice bulletin. Management of recurrent pregnancy loss. № 24, 2001. American College of Obstetricians and Gynecologists. American

- College of Obstetricians and Gynecologists. // *Int J Gynaecol Obstet*. 2002 Aug;78(2):179-90.
43. Alterations in antioxidant system, mitochondrial biogenesis and autophagy in preeclamptic myometrium. Vishnyakova PA, Volodina MA, Tarasova NV, Marey MV, Kan NE, Khodzhaeva ZS, Vysokikh MY, Sukhikh GT. // *BBA Clin*. 2017 Jul 3;8:35-42.
44. An imbalance between innate and adaptive immune cells at the maternal-fetal interface occurs prior to endotoxin-induced preterm birth / Arenas-Hernandez M, Romero R, St Louis D, Hassan SS, Kaye EB, Gomez-Lopez N. // *Cell Mol Immunol*. 2016 Jul;13(4):462-73.
45. An oxytocin receptor antagonist (atosiban) in the treatment of preterm labor: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial with tocolytic rescue / R. Romero, B.M. Sibai, L. Sanchez-Ramos [et al.] // *Am. J. Obstetrics Gynecology*. – 2000. – Vol. 182, N 5. – P. 1173–1183.
46. Andraweera, P.H. IFPA meeting 2015 workshop report II: mechanistic role of the placenta in fetal programming; biomarkers of placental function and complications of pregnancy / Bobek G., Bowen C. [et al] // *Placenta*. 2016; 48(1): 7-11.
47. Angiogenesis in the placenta: the role of reactive oxygen species signaling / R. D. Pereira, N. E. De Long, R. C. Wang [et al.] // *Biomedicine. Res. Int.* – 2015.- 2015: 814543.
48. Antenatal Corticosteroids for Reducing Adverse Maternal and Child Outcomes in Special Populations of Women at Risk of Imminent Preterm Birth: A Systematic Review and Meta-Analysis / R.A. Amiya, L.B. Mlunde, E. Ota [et al.] // *PLoS One*. – 2016. - №11 (2): e0147604.
49. Ban, T. OPA1 disease alleles causing dominant optic atrophy have defects in cardiolipin-stimulated GTP hydrolysis and membrane tabulation / T. Ban, J. A.W. Heymann, Z. Song // *Human Molecular Genetic*. – Vol. 19, N11. – P. 2113-2122.

50. Biala, A.K. Mitochondrial dynamics: Orchestrating the journey to advanced age / A. K. Biala, R. Dhingra, L. A. Kirshenbaum // *J. Molecular Cell Cardiology*. – 2015. – Vol. 83. – P. 37-43.
51. Bianchi, M. E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger / *J. Leukoc. Biol.* 81: 1–5. / Chen, G. Y., and G. Nuñez. 2010.
52. Boivin, J. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care / L. Bunting, J.A. Collins, K.G. Nygren // *Hum Reprod.* 2007 Jun;22(6):1506-12.
53. Brazilian Multicentre Study on Preterm Birth (EMIP): Prevalence and Factors Associated with Spontaneous Preterm Birth / R. Passini, J.G. Cecatti, G.J. Lajos [et al.] // *PLoS One*. - 2014. – Vol.9, N10. – e109069.
54. Brien, M.E. Alarmins at the maternal-fetal interface: involvement of inflammation in placental dysfunction and pregnancy complications / M.E. Brien, B. Baker, C Duval, et al. // *Can J Physiol Pharmacol.* 2019. - №3. - 97(3). P. - 206-212
55. Burnstock, G. Blood cells: an historical account of the roles of purinergic signaling // *Purinergic Signal.* 2015 Dec;11(4):411-34.
56. Ceramide-induced BOK promotes mitochondrial fission in preeclampsia. Ausman J, Abbade J, Ermini L, Farrell A, Tagliaferro A, Post M, Caniggia I. // *Cell Death Dis.* 2018 Feb 20;9(3):298.
57. CD200-dependent and nonCD200-dependent pathways of NK cell suppression by human IVIG / DA. Clark, K. Wong, D. Banwatt [et al.] // *J Assist Reproduction Genetic*. – 2008. – Vol.5, N 2-3. – P.67-72.
58. Charnock-Jones, D.S. Aspects of human fetoplacental vasculogenesis and angiogenesis / D. S. Charnock-Jones, P. Kaufmann, T. M. Mayhew // *I. Molecular regulation Placenta*. - 2004. *Placenta*. 2004 Feb-Mar;25(2-3):103-13.
59. Chen, G.Y. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage / G. Nuñez // *Nat Rev Immunol.* 2010 Dec;10(12):826-37.

60. Chorioamnionitis Is a Risk Factor for Intraventricular Hemorrhage in Preterm Infants: A Systematic Review and Meta-Analysis / E. Villamor-Martinez, M. Fumagalli, O. Mohammed Rahim, S. Passera [et al.] // *Front Physiology*. – 2018. – Vol.11, N 9. – P. 1253.
61. Circulating mitochondrial DAMPs cause inflammatory responses to injury/ Qin Zhang, Mustafa Raoof, Yu Chen [et al.] // *Nature*. - 2010. - V. 464. - P. 104–107.
62. Circulating cytokines and alarmins associated with placental inflammation in high-risk pregnancies. / Girard S, Heazell AE, Derricott H, Allan SM, Sibley CP, Abrahams VM, Jones RL. // *Am J Reprod Immunol*. 2014 Oct;72(4):422-34.
63. Clark, D.A. Cell surface CD200 may predict efficacy of paternal mononuclear leukocyte immunotherapy in treatment of human recurrent pregnancy loss / D. A. Clark // *Am J Reproduction Immunology*. – 2009. – Vol.61. – P.75-84.
64. Comparative proteomics analysis suggests that placental mitochondria are involved in the development of pre-eclampsia / Z. Shi, W. Long, C. Zhao [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol.8, N 5. - e64351.
65. Complexity of danger: the diverse nature of damage-associated molecular patterns. Schaefer L. // *J Biol Chem*. 2014 Dec 19;289(51):35237-45.
66. Conformational changes in Dnm1 support a contractile mechanism for mitochondrial fission / J. A. Mears, L. L. Lackner, S. Fang [et al.] // *Nature Structure Molecular Biology* -. 2011. – Vol.18, N 1. – P. 20- 26.
67. Christiaens, I. Inflammatory processes in preterm and term parturition / D.B. Zaragoza, L.Guilbert, S.A. Robertson // *J Reprod Immunol*. 2008 Oct;79(1):50-7
68. Crosstalk between decidual NK and CD14+ myelomonocytic cells results in induction of Tregs and immunosuppression. / P. Vacca, C. Cantoni, M. Vitale [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A*.- 2010. – Vol. 29, N107(26). – P.11918-11923.

69. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. Mariathasan S, Weiss DS, Newton K, McBride J, O'Rourke K, Roose-Girma M, Lee WP, Weinrauch Y, Monack DM, Dixit VM. // *Nature*. 2006 Mar 9;440(7081):228-32.
70. Demir, R. Vasculogenesis and angiogenesis in the early human placenta / R. Demir, Y. Seval, B. Huppertz // *Acta Histochem.* – 2007. – Vol. 109. – P. 257-265.
71. Determination of Clinical Cellular Immune Markers in Women with Recurrent Pregnancy / SK. Loss, Lee SK, Na BJ, Kim JY. [et al.] // *Am J Reproduction Immunology.* – 2013. -N 9.
72. Elevated Periimplantation Uterine Natural Killer Cell Density in Human Endometrium Is Associated With Impaired Corticosteroid Signaling in Decidualizing Stromal Cells / Keiji Kuroda, Radha Venkatakrishnan, Sean James [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* - September 2013. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013 Nov;98(11):4429-37.
73. Emmer P.M. Peripheral natural killer cytotoxicity and CD56(pos)CD16(pos) cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion / P.M. Emmer, W.L. Nelen, E.A. Steegers // *Human Reproduction.* – 2000. - №. 15. – P. 1163 – 1169.
74. Epidemiology and causes of preterm birth / R. L Goldenberg, J. F. Culhane, J. D. Iams [et al.] // *Lancet.* – 2008. – Vol. 371, N 9606. – P. 75–84.
75. Exosomal signaling during hypoxia mediates microvascular endothelial cell migration and vasculogenesis / C. Salomon, J. Ryan, L. Sobrevia [et al.] // *PLoS One.* 2013 Jul 8;8(7):e68451
76. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. Smiley ST, King JA, Hancock WW. // *J Immunol.* 2001 Sep 1;167(5):2887-94.

77. Fueling inflamm-aging through mitochondrial dysfunction: mechanisms and molecular targets / A. Picca, A. M.S. Lezza, C. Leeuwenburgh [et al.] // *Int. J. Molecular Sci.* – 2017. – Vol.18, N 5. - pii: E933.
78. Gestation age-associated dynamics of mitochondrial calcium uniporter subunits expression in feto-maternal complex at term and preterm delivery. Vishnyakova PA, Tarasova NV, Volodina MA, Tsvirkun DV, Sukhanova IA, Kurchakova TA, Kan NE, Medzidova MK, Sukhikh GT, Vysokikh MY. // *Sci Rep.* 2019. - №4. - 2;9(1):5501.
79. Goldenberg, R. L. Andrews W. W. Intrauterine infections and preterm delivery / R. L. Goldenberg, J. C. Hauth // *N. Engl. J. Medicine.* – 2000. – Vol. 342, N 20. – P. 1500–1507.
80. Gupta, S. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility / J.M. Goldberg, N. Aziz, E. Goldberg // *Fertil Steril.* 2008 Aug;90(2):247-57
81. High levels of fetal cell-free DNA in maternal serum: a risk factor for spontaneous preterm delivery / A. Farina, E. S. Le Shane, R. Romero [et al.] // *Am. J. Obstetrics Gynecology.* – 2005. – Vol. 193, N 2. – P. 421–425.
82. HMGB1: endogenous danger signaling. Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, Billiar TR, Tsung A. // *Mol Med.* 2008 Jul-Aug;14(7-8):476-84.
83. HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. Bertheloot D, Latz E. // *Cell Mol Immunol.* 2017 Jan;14(1):43-64.
84. Humoral immune response to an allogenic foetus in normal fertile women and recurrent aborters / S. Agrawal, M. K. Pandey, S. Mandal [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2002. – Vol.5, N2(1). – P.6.
85. IFPA meeting 2015 workshop report II: mechanistic role of the placenta in fetal programming; biomarkers of placental function and complications of pregnancy / P. H. Andraweera, G. Bobek, C. Bowen [et al.] // *Placenta.* - 2016.- Vol. 48, N 1. – P. 7-11.

86. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis / K.D. Beaman, E. Ntrivalas, T.M. Mallers [et. al.] // *American J Reproduction Immunology*. – 2012. - Vol. 67., №. 4. - P.319 – 325.
87. Implantation of Ommaya reservoir in extremely low weight premature infants with posthemorrhagic hydrocephalus: a cautious option / L. Jian, S. Hang-Song, L. Zheng-Lang [et al.] // *Childs Nerv. Systems*. – 2012. – Vol. 28, N 10. – P. 1687–1691
88. Inflammation in preterm and term labour and delivery / R. Romero, J. Espinoza, L.F. Gonçalves [et. al.] // *Semin Fetal Neonatal Med*. 2006 Oct;11(5):317-26.
89. Increased placental mitochondrial fusion in gestational diabetes mellitus: an adaptive mechanism to optimize feto-placental metabolic homeostasis? Abbade J, Klemetti MM, Farrell A, Ermini L, Gillmore T, Sallais J, Tagliaferro A, Post M, Caniggia I. // *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2020 Mar; 8(1):e000923.
90. Induction of Regulatory T Cells by Dendritic Cells through Indoleamine 2,3-dioxygenase: A Potent Mechanism of Acquired Peripheral Tolerance / S. Trabanelli, D. Ocadlikova, C. Evangelisti [et al.] // *Current Medicine Chem*. – 2011. – Vol.18, N 15. – P.2234-2239.
91. Inhibition of Drp1 protects against senecionine-induced mitochondria-mediated apoptosis in primary hepatocytes and in mice / Xiao Yang, Hua Wang, Hong-Min Ni [et al.] // *Ding Redox Biology*. – 2017. –Vol. 12. – P. 264 -273.
92. Jaslow, C.R. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses / C. R. Jaslow, J. L. Carney, W. H. Kutteh // *Fertility Sterility*. – 2010. – Vol.93, N 4. – P.1234-1243.
93. Jauniaux, E. The role of oxidative stress in placental-related diseases of pregnancy / E. Jauniaux, G. J. Burton // *J. Gynecology Obstetrics Biology Reproduction (Paris)*. – 2016. – Vol.45, N 8. – P. 775- 785.

94. Kallen, K. Impact of obstetric factors on outcome of extremely preterm births in Sweden: prospective population-based observational study (EXPRESS). / K. Kallen, F. Serenius, M. Westgren, K. Marsa; EXPRESS Group. // *Acta Obstetrics Gynecology Scand.* – 2015. – Vol. 94, N 11. - P. 1203-1214.
95. Khong, Y. Defection deep placentation / Y. Khong, I. Brosens // *Best Practic Rec. Clinical Obstetrics Gynecology.* – 2011. – Vol. 25, N 3. – P. 301-311.
96. Kohli, S. Maternal extracellular vesicles and platelets promote preeclampsia via inflammasome activation in trophoblasts / S. Ranjan, J. Hoffmann, M. Kashif // *Blood.* 2016 Oct 27;128(17):2153-2164
97. Kumara, D. The effects of Thrombin and Cytokines upon the Biomechanics and Remodeling of Isolated Amnion Membrane, in vitro / D. Kumara, F. Schatzb, R.M. Moorea [et. al.] // *Placenta.* 2011. – Vol. 32, N 3. - P. 206-213.
98. Laird, S.M. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage / E.M. Tuckerman, B.A. Cork, S. Linjawi // *Hum Reprod Update.* 2003 Mar-Apr;9(2):163-74.
99. Lujan, E Impaired Immunogenicity of Meningococcal Neisserial Surface Protein A in Human Complement Factor H Transgenic Mice / R. Pajon, D.M. Granoff // *Infect Immun.* 2015 Nov 23;84(2):452-8.
100. Lipid peroxidation products as predictors of oxidant-mediated disease in preterm infants. Katti K, Ayasolla KR, Iurcotta T, Potak D, Codipilly C, Weinberger B. // *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2021. - №1. – P.1-6.
- Macklon, N.S. Conception to ongoing pregnancy: the ‘black box’ of early pregnancy loss / N. S. Macklon, J. P. Geraedts, B. S. Fauser // *Human Reproduction.* – Update. – 2002. – Vol. 8. – P.333–343.
101. Magnesium Sulfate as a Second-Line Tocolytic Agent for Preterm Labor: A Randomized Controlled Yrial in Kyushu Island / Y. Kawagoe, H. Sameshima, T. Ikenou [et. al.] // *J Pregnancy.* – 2011. – 965060.

102. Management of pregnancy in women with a history of miscarriage / V.I. Krasnopolsky, O.F. Serova, L.I. Titchenko [et al.] // Manual for doctors of the Ministry of Health of the MO.- M., 2007. - 24 p.
103. Maternal microbe-specific modulation of inflammatory response in extremely low-gestational-age newborns / R. N. Fichorova, A. B. Onderdonk, H. Yamamoto [et al.] // MBIO. – 2011 Jan 18. – Vol. 2, N 1. – P. e00280–10.
104. Mayhew, T. M. A stereological perspective on placental morphology in normal and complicated pregnancies / T.M. Mayhew // J. Anatomy. – 2009. – Vol. 215, N1. – P. 77-90.
105. Mayhew, T.M. Fetoplacental angiogenesis during gestation is biphasic, longitudinal and occurs by proliferation and remodeling of vascular endothelial cells / T. M. Mayhew // Placenta. -2002. Placenta. 2002 Nov;23(10):742-50.
106. Meekins, J.W. Histological study of decidual spiral arteries and the presence of maternal erythrocytes in the intervillous space during the first trimester of normal human pregnancy / J.W. Meekins [et al.] // Placenta. – 1997. – Vol. 18. – P. 459-464.
107. Mechanisms of abruption-induced premature rupture of the fetal membranes: thrombin-enhanced interleukin-8 expression in term decidua / C.J. Lockwood, P. Toti, F. Arcuri [et al.] // Am J Pathology. – 2005. – Vol.167, N 5. – P. 1443-1449.
108. Mechanism of Mitochondrial Transcription Factor A Attenuation of CpG-Induced Antibody Production. Malarkey CS, Gustafson CE, Saifee JF, Torres RM, Churchill ME, Janoff EN. // PLoS One. 2016 Jun 9;11(6):e0157157.
109. Mesenchymal stem cells induce T-cell tolerance and protect the preterm brain after global hypoxia-ischemia / R.K. Jellema, T.G. Wolfs, V. Lima Passos, A. [et. al.] // PLoS One. - 2013. – Vol. 8, N 8. -: e73031.
110. Mitochondrial reactive oxygen species generation by the SDHC V69E mutation causes low birth weight and neonatal growth retardation / T. Ishii, M.

- Miyazawa, A. Onodera [et al.] // *Mitochondrion*. – 2011. - Vol. 11, N 1. – P. 155- 165.
111. Mitochondrial role in adaptive response to stress conditions in preeclampsia. Vishnyakova PA, Volodina MA, Tarasova NV, Marey MV, Tsvirkun DV, Vavina OV, Khodzhaeva ZS, Kan NE, Menon R, Vysokikh MY, Sukhikh GT. // *Sci Rep*. 2016.- №8 . – P. 30.
112. Mitochondria in autoinflammation: cause, mediator or bystander? van der Burgh R, Boes M. // *Trends Endocrinol Metab*. 2015 May;26(5):263-71
113. Mitochondrial transcription factor A (Tfam) is a pro-inflammatory extracellular signaling molecule recognized by brain microglia / J.P. Little, S. Simtchouk, S.M. Schindler [et al.] // *Mol Cell Neurosci*. 2014 May;60:88-96.
114. Nadeau-Vallee, M Sterile inflammation and pregnancy complications: a review / D.Obari, J. Palacios, M.È. Brien // *Reproduction*. 2016 Dec;152(6):R277-R292
115. Nardhy, Gomez-Lopez Intra-Amniotic Administration of HMGB1 Induces Spontaneous Preterm Labor and Birth. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O. // *Am J Reprod Immunol*. 2016 Jan;75(1):3-7.
116. Newborns of Mothers with Venous Disease during Pregnancy Show Increased Levels of Lipid Peroxidation and Markers of Oxidative Stress and Hypoxia in the Umbilical Cord. Ortega M.A, Sanchez-Trujillo L., Bravo C., et al. / *Antioxidants (Basel)*. 2021. - №6. – P. 980.
117. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset / DA. Somerset, Y. Zheng, MD. Kilby // *Immunology*. – 2004. – Vol.112, N 1. – P. 38-43.
118. Novel Molecular Microbiologic Technique for the Rapid Diagnosis of Microbial Invasion of the Amniotic Cavity and Intra-Amniotic Infection in Preterm Labor with Intact Membranes. / R. Romero, J. Miranda, T. Chaiworapongsa [et al.] // *Am J. Reproduction Immunology*. - 2014. – Vol.71, N 4. – P. 330-358.

119. OPA1 Controls Apoptotic Cristae Remodeling Independently from Mitochondrial Fusion Cell. – 2006. – Vol. 126, N 1. – P.177-189.
120. OPA1 links human mitochondrial genome maintenance to mtDNA replication and distribution // *Genome Research*. – 2010. –Vol. 21, N1. – P. 12-20.
121. Optic atrophy 1-dependent mitochondrial remodeling controls steroidogenesis in trophoblasts. Wasilewski M, Semenzato M, Rafelski SM, Robbins J, Bakardjiev AI, Scorrano L. // *Curr Biol*. 2012 Jul 10;22(13):1228-34.
122. Oxygen metabolism in human placenta mitochondria / J. Bustamante, R. Ramírez-Vélez A. Czerniczyniec [et al.] // *J. Bioenerg. Biomembr*. – 2014. – Vol.46, N 6. – P. 459- 469.
123. Park, H.S. Histologic chorioamnionitis is more common after spontaneous labor than afterinduced labor at term. *Placenta* / R.Romero, S.M. Lee, C.W. Park // 2010;31:792–795
124. Phillippe, M. Cell-Free Fetal DNA, Telomeres, and the Spontaneous Onset of Parturition // *Reprod Sci*. 2015 Oct;22(10):1186-201.
125. Pignotti, M.S. Perinatal care at the thresh old of viability: an international comparison of practical guidelines for the treatment of extremely preterm births / M. S. Pignotti, G. Donzelli // *Pediatrics*. – 2008. – Vol. 121, N 1. – P. e193 – e198.
126. Placental adaptations in growth restriction / S. Zhang, T. R. Regnault, P. L. Barker [et al.] // *Nutrients*. – 2015. – Vol. 7, N 1. – P. 360- 389.
127. Placental exosomes in normal and complicated pregnancy / M.D. Mitchell, H.N. Peiris, M. Kobayashi [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. 2015 Oct;213(4 Suppl):S173-81
128. Preterm birth: Mechanisms, Mediators, Prediction, Prevention and Interventions / F. Petraglia, J. F. Strauss, S.G. Gabbe, [et al.] // London: Information Medical. – 2007. – 224 P.

129. RCOG Green-top Guideline N 1b / Tocolysis for women in preterm labour. – 2011.
130. Placental vascular pathology and increased thrombin generation as mechanisms of disease in obstetrical syndromes / S.A. Mastrolia, M. Mazor, G. Loverro [et. al.] // Peer J. – 2014. N. 2. – P. e653.
131. Prevalence and Clinical Significance of Sterile Intra - amniotic Inflammation in Patients with Preterm Labor and Intact Membranes» / Roberto Romero, MD, D. Med. Sci., Jezid Miranda, MD, Tinnakorn Chaiworapongsa. Am J Reprod Immunol. 2014 Nov;72(5):458-74
132. Progesterone to prevent spontaneous preterm birth / R. Romero, L. Yeo, P. Chaemsaihong [et al.] // Seminar Fetal Neonatal Medicine. – 2014. – Vol. 19, N 1. – P. 15-26.
133. Proportional change of CD4+CD25+ regulatory T cells in decidua and peripheral blood in unexplained recurrent spontaneous abortion patients / Hui Yang, M.D., Ph. D, Lihua Qiu, M.D., Ph. D, Guangjie Chen [et al.] // Fertility and Sterility. -2008. -Vol. 89, No.3. –P. 656-660.
134. Raouf, M. Mitochondrial peptides are potent immune activators that activate human neutrophils via FPR-1 / Q. Zhang, K. Itagaki, C.J. Hauser. // J Trauma. 2010 Jun;68(6):1328-32; discussion 1332-4.
135. Raghupathy, R. The immune system in pregnancy: Friend or foe? / R. Raghupathy // Kuwait Medical Journal. - 2009. – Vol. 41, N 2. – P. 93-102.
136. Recurrent Pregnancy Loss, 2nd Edition (CRC Press, 2015) Should Immunotherapy Be Used. 265. Raj Rai
137. Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion / von Wolff M, Thaler CJ, Strowitzki T, Broome J, Stolz W, Tabibzadeh S // Mol Hum Reprod. 2000 Jul;6(7):627-34.
138. Reactive oxygen species from mitochondria impacts trophoblast fusion and the production of endocrine hormones by syncytiotrophoblasts. Walker

- OS, Ragos R, Wong MK, Adam M, Cheung A, Raha S. // PLoS One. 2020 Feb 24;15(2):e0229332.
139. Redman, C.W. Microparticles and immunomodulation in pregnancy and pre-eclampsia / I.L. Sargent // J Reprod Immunol. 2007 Dec;76(1-2):61-7.
140. R.H.F. van Oppenraaij¹, E. Jauniaux, O.B. Christiansen, J.A. Horcajadas, R.G. Farquharson and N. Exalto, on behalf of the ESHRE Special Interest Group for Early Pregnancy (SIGEP)
141. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. The management of Early Pregnancy Loss. Green-top Guideline No. 25. London: RCOG 2006.
142. Role of Inflammatory Mediators in Patients Weith Recurrent Pregnancy Loss / Cihan Comba, Ercan Bastu, Ozlem Dural [et al.] // Fertility Sterility. – 2015. – Vol.104, N 6. – P. 1467-1474.
143. Role of metformin in epigenetic regulation of placental mitochondrial biogenesis in maternal diabetes. Jiang S, Teague AM, Tryggestad JB, Jensen ME, Chernausk SD. // Sci Rep. 2020 May 20;10(1):8314.
144. Role of microRNA-130b in placental PGC-1 α /TFAM mitochondrial biogenesis pathway. Jiang S, Teague AM, Tryggestad JB, Chernausk SD. // Biochem Biophys Res Commun. 2017 Jun 3; 487(3):607-612.
145. Romero, R. Placental bed disorders in preterm labor, preterm PROM, spontaneous abortion and abruptio placentae / R. Romero [et al.] // Best Practic Res. Clinical Obstetrics Gynecology. – 2011. – Vol. 25, N3. – P. 874-878.
146. Romero, R. Preterm labor: one syndrome, many causes / R. Romero, S.K. Dey, S.J. Fisher // Science. – 2014. – Vol. 345, N 6198. – P. 760–765.
147. Romero, R. Vaginal progesterone to reduce the rate of preterm birth and neonatal morbidity: a solution at last / R. Romero // Womens Health (London Engl.). – 2011. – Vol. 7, N 5. – P. 501–504.
148. Rzepka, R. On the significance of new biochemical markers for the diagnosis of premature labour / B. Dołęgowska, A. Rajewska, S.Kwiatkowski // Mediators Inflamm. 2014;2014:251451.

149. Saito, S. CD4+CD25+high regulatory T-cells in human pregnancy / S. Saito, Y. Sasaki, M. Sakai // *J Reproduction Immunology*. – 2005. – Vol.65, N 2. – P.111-120.
150. Sales, K.J. Cyclooxygenase enzymes and prostaglandins in pathology of the endometrium / H.N. Jabbour // *Reproduction*. 2003 Nov;126(5):559-67.
151. Savitskaya, M.A. Mechanisms of apoptosis (review) / M. A. Savitskaya, G. E. Onishchenko // *Biochemistry*. – 2015. – Vol. 80, N 11. – P. 1613-1627.
152. Seong, H.S. The frequency of microbial invasion of the amniotic cavity and histologic chorioamnionitis in women at term with intact membranes in the presence or absence of labor / S.E. Lee, J.H. Kang, R. Romero // *Am J Obstet Gynecol*. 2008;199:375 e371-375.
153. Spaans, F. Danger signals from ATP and adenosine in pregnancy and preeclampsia / P. de Vos, W.W. Bakker, H. van Goor, M.M. Faas // *Hypertension*. 2014 Jun;63(6):1154-60.
154. Srividya, Seshadri Natural killer cells in female infertility and recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis // Srividya Seshadri, Sesh Kamal Sunkara // *Human Reproduction Update*. – 2014. – Vol. 20, N 3. – P. 429- 438
155. Sterile Intra - amniotic Inflammation in Asymptomatic Patients with a Sonographic Short Cervix / R. Romero, J. Miranda, T. Chaiworapongsa [et al.] // *J Maternal Fetal Neonatal Medicine*. – 2014. N.10. – P. 1-17.
156. Simpson, J. Genetic and nongenetic causes of pregnancy loss / J. Simpson, S. Carson // *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015 Feb 6;5(3):a023119.
157. Suliman, H.B. Mitochondrial quality control as a therapeutic target / H. B. Suliman, C. A. Piantadosi // *Pharmacology Rev*. – 2016. – Vol. 68, N 1. – P. 20-48.
158. Tarek, A. Atia Natural killer cells, Macrophages and Inflammatory Chemokines in Recurrent Pregnancy Loss: Immunohistochemical / Study

- Tarek A. Atia Mohamed Abd Elzaher // *Life Science Journal*. – 2014. – Vol.11, N 2.-P.
159. The vaginal microbiota of pregnant women who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery and those with a normal delivery at term / R. Romero, S.S. Hassan, P. Gajer [et al.] // *Microbiome*. – 2014. – N.2. – P. 18.
160. The Actim Partus test to predict pre-term birth in asymptomatic high-risk women / H. Khambay, L. A. Bolt, M. Chandiramani [et al.] // *J. Obstetrics Gynecology*. – 2012. – Vol. 32, N 2. – P. 132–134.
161. The heat shock protein-CD91 pathway mediates tumor immunosurveillance. Zhou YJ, Binder RJ. // *Oncoimmunology*. 2014 Apr 25;3:e28222.
162. Thomas, R.L. Mitochondrial autophagy - an essential quality control mechanism for myocardial homeostasis / R. L. Thomas, A. B. Gustafsson // *Circ. J*. – 2013. – Vol. 77, N 10. – P. 2449- 2454.
163. Tita, A. T. Diagnosis and management of clinical chorioamnionitis / A.T. Tita, W.W. Andrews // *Clinical Perinatology*. – 2010. – Vol. 37, N 2. – P. 339–354.
164. Vaginal progesterone vs. cervical cerclage for the prevention of preterm birth in women with a sonographic short cervix, previous preterm birth, and singleton gestation: a systematic review and indirect comparison metaanalysis / A. Conde-Agudelo R. Romero, K. Nicolaidis K. [et al.] // *Am. J. Obstetrics Gynecology*. – 2013. – Vol. 208, N 1. – P. 42. e1–42.
165. VDAC1 at the Intersection of Cell Metabolism, Apoptosis, and Diseases. Shoshan-Barmatz V, Shteinifer-Kuzmine A, Verma A. // *Biomolecules*. 2020 Oct 26;10(11):1485.
166. University of Warwick. "New hope for women suffering from recurrent miscarriage." *ScienceDaily*. ScienceDaily, 11 September 2013.

167. Uric acid is a danger signal activating NALP3 inflammasome in lung injury inflammation and fibrosis. Gasse P, Riteau N, Charron S, Girre S, Fick L, Pétrilli V, Tschopp J, Lagente V, Quesniaux VF, Ryffel B, Couillin I. // *Am J Respir Crit Care Med*. 2009 May 15;179(10):903-13.
168. Wang, W.J. Dysregulation of macrophage activation by decidual regulatory T cells in unexplained recurrent miscarriage patients / W.J. Wang, C.F. Hao, Q.D. Lin // *J*. -2011. – Vol.92, N 1-2. – P.97-102.
169. Wang, X.W. High plasma levels of high mobility group box 1 is associated with the risk of sepsis in severe blunt chest trauma patients: a prospective cohort study / A. Karki, X.J. Zhao // *J Cardiothorac Surg*. 2014 Aug 2;9:133.
170. Wenceslau, C.F. Mitochondrial damage-associated molecular patterns and vascular function / C.G. McCarthy, T. Szasz, K. Spitler, S. Goulopoulou / Working Group on DAMPs in Cardiovascular Disease // *Eur Heart J*. 2014 May;35(18):1172-7.
171. What is the role of regulatory T cells in the success of implantation and early pregnancy? / S. Saito, T. Shima, A. Nakashima [et al.] // *Assist Reproduction Genetic*. – 2007. –Vol. 24. – P. 379–386.
172. Zenclussen, AC. Regulatory T cells in pregnancy / A. C. Zenclusstn // *Springer Seminar Immunopathology*. – 2006. –Vol. 28. – P.31–39.
173. Zhang, S. Placental adaptations in growth restriction. *Nutrients* / T.R. Regnault, P.L. Barker, et al. // 2015; 7(1): 360-89.
174. Zhang, Y.Y. Expression and functional characterization of NOD2 in decidual stromal cells isolated during the first trimester of pregnancy / H. Chen, C. Sun, H.Z. Wang [et al.] // *PLoS One*. 2014 Jun 16;9(6):e99612.