

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И
ПЕРИНАТОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

ГАНИЧКИНА

Мария Борисовна

**Диагностика задержки роста плода на основе оценки паттернов
экспрессии регулирующих окислительный стресс микроРНК и маркеров
про- и антиоксидантной систем**

14.01.01. – акушерство и гинекология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Кан Н.Е.,

кандидат медицинских наук Гусар В.А.

Москва – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	5
Глава 1. Современные представления о задержке роста плода (обзор литературы)	14
1.1. Этиология и патогенез задержки роста плода	14
1.2. Роль окислительного стресса и ассоциированных с ним мкРНК в патогенезе акушерских осложнений	27
1.3. Диагностика и профилактика ЗРП	38
Глава 2. Материал и методы исследования	48
2.1. Материал исследования	48
2.2. Методы исследования	50
2.2.1. Общеклинические методы исследования	51
2.2.2. Функциональные методы исследования	52
2.2.3. Специальные методы исследования	53
2.2.4. Изучение здоровья новорожденных	61
2.2.5. Статистические методы исследования	62
Глава 3. Общая клиническая характеристика обследованных беременных	64
3.1. Анализ соматического и акушерско-гинекологического анамнеза пациенток, вошедших в исследование	64
Глава 4. Результаты собственных исследований	79
4.1. Течение и исход настоящей беременности у обследованных женщин	79
4.2. Перинатальные исходы	93
4.2.1. Перинатальные исходы при ранней и поздней задержке роста плода	97

4.3. Корреляционный анализ параметров клинико-лабораторного исследования матерей и новорожденных с задержкой роста плода.....	107
4.4. Оценка профиля экспрессии тканевых мкРНК при ранней и поздней формах задержки роста плода.....	124
4.4.1. Корреляционный анализ уровня экспрессии мкРНК в плаценте с клиническими показателями беременных и новорожденных с задержкой роста плода	127
4.5. Оценка профиля экспрессии циркулирующих мкРНК в плазме пуповинной крови новорожденных с ранней и поздней задержкой роста плода.....	129
4.5.1. Корреляционный анализ уровня экспрессии мкРНК в пуповинной крови с клиническими показателями беременных и новорожденных с задержкой роста плода.....	130
4.5.2. Оценка прогностической значимости исследуемых мкРНК в плазме пуповинной крови в отношении риска развития ВЖК у новорожденных с ранней и поздней задержкой роста плода.....	135
4.6. Функциональное состояние про- и антиоксидантных систем матери и плода.....	138
4.6.1. Окислительный статус тканей плаценты беременных исследуемых групп.....	139
4.6.2. Окислительный статус плазмы пуповинной крови исследуемых групп.....	145
4.6.3. Окислительный статус плазмы крови беременных исследуемых групп.....	150
4.7. Корреляционный анализ уровня экспрессии плацентарных мкРНК с тканевыми маркерами окислительных повреждений и антиоксидантной защиты.....	156

4.8. Оценка эффективности дифференцировки ранней и поздней задержки роста плода на основе маркеров окислительного стресса и антиоксидантной защиты.....	161
Глава 5. Обсуждение полученных результатов.....	164
Заключение.....	192
Выводы.....	193
Практические рекомендации.....	194
Список сокращений.....	196
Список литературы.....	202
Приложение.....	242

Введение

Актуальность темы исследования

Задержка роста плода (ЗРП) является актуальной проблемой современного акушерства и занимает одно из лидирующих мест в структуре перинатальной заболеваемости и смертности [1–7]. ЗРП оказывает влияние на развитие ребенка и определяет состояние его здоровья в течение жизни [8–10]. Известно, что ЗРП ассоциирована с ростом заболеваемости и смертности новорожденных и имеет непосредственную связь с такими перинатальными осложнениями, как преждевременные роды, антенатальная гибель плода, детский церебральный паралич, смерть в неонатальном периоде, а также такими патологическими состояниями в старшем возрасте, как ожирение, артериальная гипертензия, сахарный диабет II типа [11–13].

Частота ЗРП варьирует в различных странах и чаще регистрируется в регионах с ограниченными ресурсами. Среди доношенных новорожденных в развитых странах примерно 10% рождаются «малыми к сроку гестации», в развивающихся странах – около 23% [14]. В настоящее время частота ЗРП в России составляет 5–18% [7, 15]. Ранняя форма ЗРП, встречающаяся в 20–30% случаев, характеризуется наиболее неблагоприятными перинатальными исходами и сочетается с преэклампсией (ПЭ) в 50% случаев, в то время как поздняя форма, составляющая 70–80% наблюдений, сопровождается ПЭ лишь в 10% [16–18] и характеризуется более благоприятными неонатальными исходами при сохраняющемся высоком риске антенатальной гибели плода [19–22].

Известно, что в 75% случаев задержка роста плода остается невыявленной вплоть до родов и данный диагноз ставится постнатально [23–27]. Принимая во внимание взаимосвязь состояния новорожденных со сроком манифестации ЗРП определение ее формы имеет немаловажное значение в прогнозе неблагоприятных перинатальных исходов [28–31]. В настоящее время не существует надежных диагностических маркеров ЗРП, что связано с полиэтиологичностью данной патологии. Учитывая

недостаточную предиктивную ценность клинических и ультразвуковых показателей перспективным является поиск молекулярно-генетических и биохимических маркеров ЗРП.

В основе больших акушерских синдромов, в том числе ЗРП, лежит нарушение баланса про- и антиоксидантной систем, приводящее к формированию неконтролируемого окислительного стресса (ОС) [32–39]. Регуляция последнего находится под контролем эпигенетических механизмов – метилирования ДНК, модификации гистонов, малых некодирующих молекул микроРНК (мкРНК) [40–42]. Ряд исследователей указывают на роль последних в патогенезе ЗРП и формировании неблагоприятных перинатальных исходов [43–46]. Однако, данные по изучению мкРНК-зависимой модуляции экспрессии генов, отвечающих за работу окислительно-восстановительного гомеостаза при данном осложнении беременности немногочисленны [47, 48]. В связи с чем актуальным представляется изучение роли окислительного стресса и связанных с ним мкРНК в реализации ЗРП, что позволит выделить новые диагностические маркеры данной патологии.

Степень разработанности темы исследования

Этиопатогенетические механизмы развития ЗРП остаются до конца не изученными. ОС запускает целый каскад реакций, регуляция которых осуществляется на генетическом и эпигенетическом уровнях. В частности, хорошо известна роль транскрипционного фактора Nrf2, стимулирующего экспрессию антиоксидантных генов в ответ на высокий уровень АФК. Кроме того, при критическом уровне свободных радикалов показано участие Nrf2 в экспрессии другого транскрипционного фактора Klf9, способного дополнительно увеличивать уровни АФК путем супрессии антиоксидантных генов, приводя к гибели клетки [49]. Одними из регуляторов окислительного стресса на эпигенетическом уровне являются мкРНК. Их роль как эпигенетических модуляторов значительного числа биологических процессов, связанных, в том числе, с регуляцией нормального развития

плаценты и ее дисфункцией, активно изучается в последнее время [50–53]. В этой связи определены классы функционально специфичных мкРНК, в частности, трофомиры [54], гипоксамиры [55] и мкРНК, ассоциированные с ОС [56]. В мировой литературе описан широкий спектр мкРНК [57–61], среди которых члены семейства miR-200 [62–66], а также miR-451 [67, 68], miR-125b-5p, miR-221-3p [69–71], miR-30b-5p [72], miR-27a-3p [73]. К мкРНК, ассоциированным с ОС и плацентарной дисфункцией по данным литературы относятся: miR-16, miR-20a, miR-29b, miR-26b, miR-126-3p, miR-144-3p, miR-146b-5p, miR-155, miR-182, miR-210, miR-335 и miR-451a [74]. Существуют сведения о ряде специфичных плацентарных мкРНК, играющих роль в развитии ЗРП [66, 75, 76].

Однако исследования мкРНК, регулирующих ОС и связанных с различными гестационными осложнениями, проведены, в основном, на экспериментальных моделях [66, 77, 78]. На сегодняшний день не существует ни одного теста с достаточной чувствительностью и специфичностью, обеспечивающего точную диагностику ЗРП. Ряд исследований направлен на поиск специфичных маркеров ЗРП, позволяющих улучшить качество диагностики [21, 79–82].

Вышесказанное обуславливает необходимость дальнейших исследований для выявления специфических маркеров ЗРП с целью ранней диагностики данного состояния, возможного лечения и оптимального ведения беременности, осложненной ЗРП [83].

Цель исследования

Оптимизация диагностики задержки роста плода на основе исследования маркеров функционального состояния про- и антиоксидантной систем и профилей экспрессии регулирующих их мкРНК.

Задачи исследования

1. Провести анализ клинико-anamнестических данных, результатов лабораторных и функциональных методов исследования у беременных с задержкой роста плода для выделения факторов риска.

2. Определить особенности течения беременности, родов, послеродового периода, состояния новорожденных при задержке роста плода.

3. Оценить уровень белковых маркеров окислительного стресса и уровень антиоксидантной защиты в плазме крови беременной, пуповинной крови, плаценте при задержке роста плода.

4. Исследовать профили экспрессии регулирующих окислительный стресс мкРНК в плаценте и плазме пуповинной крови при задержке роста плода.

5. Установить взаимосвязь между уровнем экспрессии значимых мкРНК, маркерами функционального состояния про- и антиоксидантной систем, клиническими и функциональными показателями.

6. Разработать алгоритм диагностики задержки роста плода с учетом ее патогенетических форм.

Научная новизна

Доказана роль клинических (хроническая артериальная гипертензия, миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей) и анамнестических факторов (медицинские аборт и преждевременные роды) в риске формирования задержки роста плода.

Установлены различия в функциональном состоянии про- и антиоксидантной систем: при ранней задержке роста плода отмечается усиление окислительного стресса, при поздней форме – его снижение.

Выявлено разнонаправленное изменение уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-574-3p, miR-451a в плаценте при задержке роста плода. Впервые показана связь повышенной экспрессии miR-125b-5p с усилением окислительного стресса, а сниженной экспрессии miR-221-3p – с ослаблением антиоксидантной защиты в плаценте при ранней задержке роста плода.

Сниженная экспрессия miR-451a при ранней форме ассоциирована с ослаблением антиоксидантной защиты, а при поздней – с повышением

уровня антиоксидантов; повышенная экспрессия miR-574-3p – с интенсификацией процессов окислительного повреждения при ранней и их ослаблением – при поздней задержке роста плода.

При поздней форме повышенная экспрессия miR-451a в плазме пуповинной крови ассоциирована со снижением уровня окислительного стресса, что может указывать на ее протективную роль.

Теоретическая и практическая значимость

Обосновано определение клинико-анамнестических факторов (хроническая артериальная гипертензия, миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей; медицинские аборт и преждевременные роды в анамнезе) для выделения группы риска формирования задержки роста плода.

Дифференциальную диагностику ранней и поздней форм задержки роста плода целесообразно проводить с определением уровней малонового диальдегида (МДА), 4-гидроксиноненаля (4-ГН), глутатиона общего, окисленного, соотношения $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$, а также активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы в плазме крови беременных.

Для оценки риска развития внутрижелудочкового кровоизлияния у новорожденных при ранней форме задержки роста плода показано определение в плазме пуповинной крови уровня экспрессии miR-125b-5p, при поздней форме – уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p.

Разработанный алгоритм диагностики задержки роста плода с учетом ее патогенетических форм позволяет снизить неонатальные осложнения и улучшить перинатальные исходы.

Методология и методы исследования

Проведено ретроспективное исследование случай-контроль, в которое было включено 109 пациенток, родоразрешенных в ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И. Кулакова» Минздрава России за период с 2015 г по 2018 г. В соответствии с критериями включения и невключения в исследование была отобрана 41 пациентка с ЗРП и 41 беременная – без ЗРП. Основная группа

была разделена на 2 подгруппы. В подгруппу Ia вошли 20 пациенток с ранней формой ЗРП (до 34 недель беременности), в подгруппу Ib – 21 беременная с поздней ЗРП (после 34 недель).

Критериями включения в исследование явились: возраст 18-45 лет; одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле, в сроке 26-40 недель, наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании; для основной группы – беременность, осложнившаяся ЗРП, для группы сравнения – беременность без ЗРП. Критериями невключения для обеих групп явились: тяжелая экстрагенитальная патология; беременность, наступившая в результате ВРТ; преэклампсия; многоплодная беременность; пороки развития плода; генетические и острые инфекционные заболевания матери.

Все пациентки были обследованы согласно приказу Министерства Здравоохранения Российской Федерации от 01 ноября 2012 года №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология» (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и подписывали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

В работе использованы общеклинические, лабораторные, инструментальные и специальные методы исследования. Для определения уровня экспрессии изучаемых мкРНК (miR-16-5p, miR-27a-3p, miR-30b-5p, miR-100-5p, miR-125b-5p, miR-146a-5p, miR-182-5p, miR-199a-5p, miR-221-3p, miR-451a и miR-574-3p) в ткани плаценты и плазме пуповинной крови проводили выделение суммарной РНК, включающей фракцию мкРНК, ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени; для определения маркеров про- (МДА, 4-ГН) и антиоксидантной (глутатион, каталаза, СОД, ГП) систем в ткани плаценты, плазме крови беременной и пуповинной крови использовали полярографию, спектрофотометрию, электрофорез в полиакриламидном геле с вестерн-блоттингом. Результаты обследования вносились в специально разработанную тематическую карту и в электронные

таблицы MS Excel. Для статистической обработки результатов использовали скрипты, написанные на языке R, и программу RStudio, а также Microsoft Office Excel 2016 и пакеты прикладных программ «Statistica» v.13.0, StatSoft Inc. (США).

Положения выносимые на защиту

1. К клинико-анамнестическим факторам риска задержки роста плода относятся: хроническая артериальная гипертензия, миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей, медицинские аборт и преждевременные роды. Нарушение функционального состояния плода по данным доплерометрии при ранней форме задержки роста выявляется в 3 раза чаще, чем при поздней. Задержка роста плода диагностируется антенатально в 80,5% случаев.

2. Ранняя форма задержки роста плода сопровождается значимым повышением маркеров окислительного стресса на фоне снижения активности антиоксидантной системы, а поздняя – снижением уровня окислительного стресса. Модель логистической регрессии на основе определения показателей функционального состояния про- и антиоксидантной систем в плазме крови беременной позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью дифференцировать раннюю и позднюю формы задержки роста плода.

3. Ранняя и поздняя формы задержки роста плода сопровождаются разнонаправленным изменением экспрессии регулирующих окислительный стресс мкРНК. Модели логистической регрессии с высокой чувствительностью и специфичностью позволяют прогнозировать риск развития внутрижелудочкового кровоизлияния у новорожденных на основе определения в плазме пуповинной крови экспрессии miR-125b-5p – при ранней форме и miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p – при поздней форме задержки роста плода.

Личный вклад автора

Автор участвовал в выборе темы и дизайна исследования, обобщении литературных данных, посвященных проблеме задержки роста плода, анализе клинико-лабораторных данных пациенток, включенных в исследование. Диссертант участвовал в ведении беременности, родоразрешении, сборе и обработке биологического материала участниц исследования. Автор провел анализ медицинской документации, систематизировал полученные результаты и сделал выводы на основании полученных данных.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

Апробация работы

Материалы исследования представлены на XIX Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя – 2018» и VI Съезде акушеров-гинекологов России (Москва, 2018), XX Юбилейном Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя – 2019» (Москва, 2019), 2nd World Congress on Gynecology and Obstetrics (Токио, 2019).

Работа обсуждена на заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (15.06.2020, протокол №21).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанный алгоритм диагностики задержки роста плода с учетом ее патогенетических форм применяется в практической деятельности отделений ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Материалы исследования представлены в 8 печатных работах, из них 6 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 242 страницах и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, приложения. Работа иллюстрирована 44 рисунками и 32 таблицами. В список литературы входит 322 источника, 49 из которых – на русском, 273 – на иностранном языках.

Глава 1

Современные представления о задержке роста плода (обзор литературы)

1.1. Этиология и патогенез задержки роста плода

Задержка роста плода (ЗРП) – осложнение беременности, характеризующееся неспособностью плода достичь своего генетически запрограммированного потенциала роста [84]. Под ЗРП понимают отставание размеров плода от предполагаемых при данном сроке беременности [85].

В мировых литературных источниках имеются различные определения ЗРП. Наиболее распространено определение ЗРП как патологического состояния, характеризуемого снижением веса плода ниже 10 перцентили для установленного срока беременности согласно кривым Фентона [86]. Однако, встречаются также определения, согласно которым ЗРП характеризуется снижением веса плода менее 5 перцентили для установленного срока беременности [87]. В других работах предлагается использование 15 перцентили в качестве порогового значения для выявления ЗРП в связи с тем, что дети, имеющие вес при рождении между 10 и 15 перцентильями, находятся в зоне более высокого риска антенатальной гибели [88].

В настоящее время в русскоязычной литературе используются следующие термины: задержка роста плода (ЗРП), синдром задержки роста плода (СЗРП); внутриматочная задержка роста плода (ВЗРП); плод, малый для срока гестации и плод с малой массой при рождении. В зарубежной литературе для описания плода, не достигшего своего ростового потенциала вследствие генетических или средовых факторов, используются такие термины, как "intrauterine growth restriction", "fetal growth retardation", "small for gestational age". Ряд авторов различают понятия: ЗРП и «плод, малый к сроку гестации». Под термином ЗРП понимают патологическое ограничение генетически запрограммированного роста плода, свидетельствующее о страдании плода. В то время, как «плод, малый к сроку гестации» конституционально мал в соответствии с расовой принадлежностью и

антропометрическими показателями матери [89, 90]. Термин «малый к сроку гестации» в литературе используется как для описания новорожденных с ЗРП, так и конституционально маленьких детей. Некоторые исследования свидетельствуют о том, что дети, рожденные с диагнозом «малый плод к сроку гестации» не относятся к группе высокого риска перинатальной заболеваемости и смертности [86]. В то время, как ряд других исследований свидетельствует о том, что новорожденные «малые к сроку гестации» (согласно общепопуляционным центильным таблицам) имеют более высокий риск перинатальной смертности и заболеваемости, при этом наибольшее число осложнений наблюдается в группе детей с ЗРП [91–93]. Следует отметить, что использование в качестве диагностического маркера понятие «малый к сроку гестации» для идентификации детей с ЗРП приведет к потере из поля зрения детей с ЗРП, имеющих вес более 10 перцентили, не достигших генетически запрограммированного потенциала роста.

Существует несколько классификаций ЗРП. ЗРП классифицируется по степени тяжести: «плод, малый к сроку гестации» – вес или окружность живота плода меньше 10 центили, «плод, малый к сроку гестации, тяжелая форма» – вес или окружность живота плода меньше 3 центили [89]. ЗРП также классифицируют по соответствию срокам манифестации: ранняя и поздняя. Ранняя ЗРП – манифестирующая до 32-34 недель беременности. Поздняя ЗРП – развивается после 34 недель беременности. Данный вид классификации позволяет разделить 2 разных фенотипа ЗРП, отличающихся по тяжести и причине развития [94]. Следует отметить, что согласно некоторым данным 32 недели являются порогом для деления ранней и поздней ЗРП (Таблица 1) [95, 96].

Таблица 1. Особенности ранней и поздней ЗРП.

Ранняя ЗРП	Поздняя ЗРП
Проблема: ведение беременности, родоразрешение	Проблема: диагностика

Нарушения плацентарной функции: тяжелые (отклонения в доплерометрии пупочной артерии, высока ассоциация с преэклампсией (ПЭ))	Нарушения плацентарной функции: легкие (доплерометрия пупочной артерии соответствует норме, редкая ассоциация с преэклампсией (ПЭ))
Гипоксия: ++: системная сердечно-сосудистая адаптация	Гипоксия: +/-: центральная сердечно-сосудистая адаптация
Незрелый плод = более высокая толерантность к гипоксии	Зрелый плод = более низкая адаптация к гипоксии
Высокий уровень смертности и заболеваемости; более низкая частота встречаемости	Более низкий уровень смертности (но частая причина антенатальной смерти на поздних сроках беременности); плохие отдаленные исходы, высокая частота возникновения

На раннюю форму ЗРП приходится 20-30% случаев. Раннее начало ЗРП в 50% случаев ассоциировано с ранней ПЭ; сопряжено с тяжелой плацентарной недостаточностью и хронической гипоксией плода [97]. Во многих случаях ранняя тяжелая форма ЗРП ассоциирована со значительным поражением плода и/или его антенатальной гибелью [98]. Ведение беременности и определение сроков родоразрешения в случае ранней ЗРП – сложная задача для клиницистов, стоящих перед выбором: пролонгировать беременность и повысить риски антенатальной гибели плода или родоразрешить пациентку и столкнуться с осложнениями, связанными с недоношенностью. Пролонгирование беременности до доношенного срока

может повлечь за собой рост перинатальной заболеваемости и неблагоприятные исходы, такие, как детский церебральный паралич [29].

Поздняя форма ЗРП встречается в 70-80% среди случаев ЗРП. Сочетание поздней ЗРП и ПЭ составляет не более 10% [97]. Несмотря на более мягкое клиническое течение поздней формы по сравнению с ранней, сохраняется высокий риск резкого ухудшения состояния плода до родов и последующим развитием ацидоза у новорожденного. Такая особенность отражает вклад поздней формы в частоту антенатальной гибели плода на поздних сроках беременности [99, 100] и может быть обусловлена комплексом причин, среди которых: низкая толерантность к гипоксии у доношенных детей по сравнению с недоношенными детьми; более высокая частота сокращений матки при доношенном сроке беременности и, в некоторых случаях, более быстрое нарастание плацентарной недостаточности [12]. Несмотря на значительные отличия в степени тяжести состояния плода при поздней и ранней формах ЗРП, обе формы связаны с неблагоприятными исходами, заболеваниями сердечно-сосудистой системы, метаболическими нарушениями и отклонениями в развитии нервной системы у ребенка, рожденного с диагнозом ЗРП [101–105]. Предполагается, что плацентарная недостаточность при ранней форме ЗРП является следствием нарушения ремоделирования спиральных артерий [106], в то время как поздняя ЗРП связана с нарушением функционирования плаценты во второй половине беременности. В пользу последнего утверждения свидетельствуют нарушения кровотоков в маточных артериях в III триместре беременности при нормальных показателях доплерометрии в I триместре [107]. Согласно МКБ-10 существует несколько кодов, позволяющих классифицировать ЗРП: P05.0, P05.1, P05.2, P05.9, O36.5. В отечественной литературе классифицируют ЗРП по степени тяжести: I степень – отставание размеров плода от нормативных для его срока значений на 1–2 недели, II степень – на 2–3 недели, III степень – более чем на 3 недели [2]. В соответствии с данными ультразвуковой фетометрии в России выделяют следующие формы

ЗРП: симметричная форма – пропорциональное уменьшение всех размеров тела плода по отношению к средним для данного срока беременности; асимметричная форма – уменьшение только размеров живота плода по отношению к среднему для данного срока беременности (отставание более, чем на 2 недели или размер менее 5-го перцентиля для данного гестационного срока), остальные размеры при этом остаются в пределах физиологической нормы; смешанная форма – отставание размеров живота более, чем на 2 недели и отставание других фетометрических показателей в пределах 10–25 перцентилей [85]. Существуют некоторые различия в клинической классификации ЗРП в России и зарубежом. В соответствии с мировыми данным ультразвуковой фетометрии смешанная форма ЗРП не выделяется. Зарубежом выделяют симметричную и асимметричную формы ЗРП, описание которых несколько отличается от российской классификации. Симметричная форма ЗРП (20-30% от общего числа случаев ЗРП) характеризуется уменьшением размеров всех систем органов, включая размеры тела, головы и конечностей. Симметричная форма ЗРП развивается в начале беременности и обычно связана с хромосомными aberrациями и врожденной инфекцией. Снижение снабжения плода питательными веществами на ранних сроках беременности может способствовать задержке роста всех органов плода [108]. Асимметричная форма ЗРП (70-80% от общего числа случаев ЗРП) характеризуется диспропорциональным развитием плода, при котором окружность головы соответствует нормальным значениям для гестационного срока, а длина тела и вес – меньше нормы. Асимметричная форма развивается обычно в конце II или в III триместре и происходит по причине снижения питания плода, в результате чего запасы гликогена и жира снижаются [6].

В настоящее время не существует единого подхода к пониманию механизмов и причин развития ЗРП, а также классификации и критериям диагностики. Не разработан диагностический алгоритм, позволяющий определять и прогнозировать данную патологию на начальных этапах,

оценивать риск ухудшения состояния плода. Данная патология полиэтиологична и связана с несколькими факторами, в частности, фетальными (генетические и хромосомные аномалии), плацентарными, и материнскими (Таблица 2). В условиях гипоксии, характерной для ЗРП, плод «перенаправляет» кровь к жизненно важным органам, таким, как мозг, сердце, надпочечники, плацента. У детей с ЗРП снижается общий объем жира в организме, мышечной массы, содержание минеральных веществ в костях, что формирует типичный облик детей с тяжелой ЗРП [109]. Уровень глюкозы и инсулина в крови плода, гликогена в скелетной мускулатуре и печени – снижается [108]. Вследствие сниженных энергетических запасов организма дети с ЗРП находятся в зоне повышенного риска перинатальной заболеваемости и смертности [110].

Таблица 2. Этиология ЗРП.

<p>Генетические аномалии плода</p>	<p>Встречается в 5-20% всех случаев ЗРП. Генетические аномалии включают: анеуплоидии (включая триплоидию), однородительскую дисомию, мутации одного гена (IGF1, IGF2, IGF1R), частичные делеции или дупликации, кольцевая хромосома, абберантный геномный импринтинг. Обнаружение ЗРП до 20 недель беременности часто вызвано анеуплоидией, чаще трисомией 18 хромосомы. Встречается синдром Рассела-Сильвера, для которого характерна асимметричная форма ЗРП, синдром Смит-Лемли-Опиц, характеризующийся малыми размерами головы и множественными экстракраниальными аномалиями развития плода.</p>
------------------------------------	---

Инфекция	<p>Встречается в 5-10 % случаев ЗРП. Цитомегаловирус и токсоплазмоз наиболее распространены в роли этиологических факторов ЗРП в развитых странах. Другие инфекции, связанные с ЗРП это: вирус краснухи, малярия, сифилис, вирус простого герпеса.</p>
Плоды, имеющие структурные аномалии развития	<p>Плоды с врождёнными аномалиями развития могут иметь нарушения роста, что обычно связано с сопутствующими цитогенетическими нарушениями. Частота ЗРП связана с типом и числом аномалий развития у плода.</p>
Многоплодная беременность	<p>ЗРП коррелирует с числом имеющихся плодов. Более низкий вес плодов в многоплодных беременностях связан с невозможностью их обеспечения питательными веществами в соответствии с их потребностями.</p>
Ограниченный плацентарный мозаицизм	<p>Ограниченный плацентарный мозаицизм относится к хромосомному мозаицизму плаценты, но не плода. Обычно это трисомия, которая часто ассоциирована с ЗРП. Ограниченный плацентарный мозаицизм обнаруживается после рождения плода в 10% идиопатической ЗРП, 1/3 часть случаев ЗРП в этом случае связана с инфарктами плаценты и децидуальной васкулопатией. Частота</p>

	<p>встречаемости ограниченного плацентарного мозаицизма в плаценте женщин с ЗРП составляет 1%.</p> <p>Тяжесть ЗРП, связанной с ограниченным плацентарным мозаицизмом, зависит от хромосом, вовлеченных в процесс, количества мозаичных клеток и наличия однородительской дисомии.</p>
«Ишемическая болезнь плаценты»	<p>«Ишемическая болезнь плаценты» может манифестировать в виде ЗРП, ПЭ, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты или их комбинаций.</p>
Аномалии развития плаценты и пуповины	<p>Единственная артерия пуповины, оболочечное прикрепление пуповины, краевое прикрепление пуповины, двулобая плацента, "плацента, окруженная валиком", гемангиома.</p> <p>Редкая аномалия развития плаценты: мезенхимальная дисплазия плаценты, характеризующаяся наличием плацентомегалии и виноградоподобных везикул, напоминающих частичный пузырьный занос. Эуплоидный плод находится в группе риска развития ЗРП, перинатальной смерти, синдрома Беквита – Видемана.</p>
Материнские генетические факторы	<p>Женщины, родившиеся с ЗРП, имеют удвоенные риски рождения ребенка с ЗРП. Риски рождения детей с ЗРП у этой группы</p>

	<p>женщин растут с увеличением числа родов, осложнившихся ЗРП.</p>
<p>Заболевания матери</p>	<p>Заболевания матери могут быть ассоциированы со снижением маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровообращения и/или транспорта кислорода. Среди них:</p> <ul style="list-style-type: none"> -ПЭ -Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты -Хроническая артериальная гипертензия (ХАГ) -Хроническая болезнь почек (ХБП) -Сахарный диабет до наступления беременности -Системная красная волчанка (СКВ) и антифосфолипидный синдром (АФС) -Врожденный порок сердца синего типа -Хронические заболевания легких -Хроническая анемия тяжелой степени -Серповидно-клеточная анемия -Пороки развития матки -Прием алкоголя и/или наркотиков (например, героина, кокаина), курение

	-Лучевая терапия таза до наступления беременности
Тератогенные факторы	Прием препаратов, обладающих тератогенным действием: варфарин, антиэпилептические препараты (вальпроевая кислота), противоопухолевые препараты, антагонисты фолиевой кислоты могут вызвать ЗРП. Алкоголь также нарушает рост плода. Радиация (в терапевтических дозах) нарушает рост плода.
Применение ВРТ	Частота ЗРП в группе детей, зачатых с помощью ВРТ (одноплодная беременность) выше.
Проживание высоко над уровнем моря	Вес новорожденных уменьшается на 65 г каждые 500 метров на высоте выше 2000 метров над уровнем моря.

Короткий интергравидарный промежуток, возраст матери (ранние или поздние роды), малый вес матери при наступлении беременности, малый набор веса во время беременности, мальабсорбция, недостаточное питание матери также повышают частоту ЗРП [111]. Плацентарная недостаточность играет ведущую роль в патогенезе ЗРП.

Гистологические особенности плаценты при ЗРП. Некоторые авторы отмечают, что при ЗРП наблюдается нарушение созревания ворсинчатого дерева и ангиогенеза плаценты, что приводит к плацентарной недостаточности (ПН) [112, 113]. Нарушение соотношения про- и антиангиогенных факторов способствует развитию ПН и ЗРП. Некоторые данные позволяют предположить, что в патогенезе ЗРП ведущую роль играют повреждение синцитиотрофобласта, снижение его функциональной

активности и синтеза ангиогенных факторов роста, в том числе VEGF [113]. Некоторые исследования свидетельствуют о том, что при тяжелой форме ЗРП (вес плода менее 3 перцентили) отмечается снижение уровня плацентарного фактора роста (PLGF) [114, 115]. А.Н. Стрижаков и соавт. [7] также отмечают высокую чувствительность такого антиангиогенного фактора, как растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1 (sFlt-1): ее уровень повышается в несколько раз у беременных с последующей манифестацией ПН и ЗРП. Существуют данные, согласно которым у беременных с ЗРП отмечается снижение концентрации инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1) [116, 117]. Ряд работ, в частности, А.Н. Стрижакова с соавт. [7] демонстрируют, что нарушения гемостаза, в частности наличие наследственных тромбофилий, вносят свой вклад в патогенез различных форм ПН. Частота наследственных тромбофилий при субкомпенсированной и декомпенсированной формах существенно выше, чем при компенсированной ПН. Мажорной мутацией, приводящей к развитию клинической симптоматики тромбофилии является мутация С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы (МТНFR). В случае декомпенсированной ПН мутация данного фермента встречается в 57,14% случаев в гомозиготном состоянии. При компенсированной ПН наследственные формы тромбофилии выявлены в 16% наблюдений, в то время как при субкомпенсированной форме – в 93,3%, а при декомпенсированной – в 100%. Авторы отмечают, что при декомпенсированной ПН превалирует сочетание нескольких мутаций. А частота наследственных тромбофилий при неосложненной беременности не превышает 8%. Еще одним фактором, ассоциированным с нарушением гемостаза и развитием ЗРП, является антифосфолипидный синдром (АФС). Антифосфолипидные антитела (АФА) оказывают опосредованное влияние на процесс имплантации, развитие эмбриона и последующий рост плода. Установлено, что АФА способны повысить экспрессию PAI-I, что усиливает тромбообразование, приводя к нарушению имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта. АФА изменяют адгезивные

характеристики предимплантационного эмбриона; нарушают слияние синцития; подавляют продукцию хорионического гонадотропина и соматомаммотропина. Циркулирование АФА в кровяном русле матери является фактором, приводящим к повреждению эндотелия, нарушению тонуса сосудистой стенки и микроциркуляции. Вышеуказанные патологические нарушения приводят, в конечном итоге, к тромбированию сосудов плаценты и, как следствие, к развитию ПН с внутриутробной гипоксией и ЗРП. Кроме этого, АФА могут оказывать непосредственное патогенное влияние на плод, свободно проникая через плацентарный барьер после 15 недель беременности, и вызывая тромботические осложнения у плода [7, 118]. Отмечается связь между ЗРП и ранней ПЭ. В основе ранней ПЭ лежат нарушения ремоделирования спиральных артерий и инвазии трофобласта, которые ведут к гипоперфузии плаценты, снижению поступления питательных веществ и кислорода к плоду. В результате чего манифестирует ЗРП [119].

Известно, что на ранних сроках беременности, вплоть до конца I триместра, в межворсинчатом пространстве плаценты материнский кровоток еще не функционирует. Ремоделирование спиральных артерий происходит после имплантации бластоцисты по мере инвазии клеток вневорсинчатого трофобласта в децидуальную оболочку. Таким образом, формируется непрерывный слой клеток вневорсинчатого трофобласта на материнской части плаценты. Клетки вневорсинчатого трофобласта заполняют спиральные артерии и трансформируют их в сосуды с более широким диаметром. В норме в I триместре эти расширенные сосуды заполнены клетками вневорсинчатого трофобласта, что ограничивает приток оксигенированной крови к формирующейся плаценте. В межворсинчатом пространстве отмечается низкая концентрация кислорода, что крайне важно для нормального эмбриогенеза и органогенеза, так как эмбрион еще не обладает механизмами защиты от свободнорадикального повреждения. На этой стадии перенос питательных веществ от эмбриона к матери происходит

путем диффузии. Когда эмбриогенез завершается, клетки вневорсинчатого трофобласта, прежде заполнявшие спиральные артерии, перестают выполнять функцию «пробки», что ведет к заполнению межворсинчатого пространства непрерывным потоком материнской оксигенированной крови. Механизмы этого явления до сих пор не до конца изучены. Постепенное заполнение кровью межворсинчатого пространства, а значит и повышение концентрации кислорода в этой области, происходит от периферии к центру плаценты. В связи с тем, что в центре плаценты отмечается более глубокая инвазия вневорсинчатого трофобласта, требуется больше времени для того, чтобы скопления клеток вневорсинчатого трофобласта покинули расширенные спиральные артерии, чем объясняется постепенное увеличение концентрации кислорода в межворсинчатом пространстве. К концу I триместра напряжение кислорода в межворсинчатом пространстве становится более высоким. В случае нарушения инвазии трофобласта в спиральные артерии происходит неполное их заполнение клетками вневорсинчатого трофобласта, таким образом, слой клеток вневорсинчатого трофобласта перестает быть непрерывным. Это ведет к преждевременному началу циркуляции материнской крови и преждевременному увеличению напряжения кислорода. Кислород, участвуя в ферментативных реакциях, метаболизируется в организме с образованием активных форм кислорода (АФК), свободных радикалов. Низкие концентрации АФК необходимы для многих биохимических процессов. АФК участвуют в функционировании клетки, передаче сигналов внутри клетки, защите от микроорганизмов, являются компонентом врожденного иммунитета итд. В норме АФК участвуют в процессе инвазии трофобласта и формировании сосудов. Для поддержания физиологических концентраций АФК требуется баланс между их продукцией и утилизацией антиоксидантными системами. Хотя повышение напряжения кислорода в межворсинчатом пространстве является физиологическим явлением, оно в определенной степени приводит к окислительному стрессу (ОС) в плаценте. В плаценте отмечается увеличение

активности антиоксидантных систем для адаптации к среде с высоким содержанием кислорода. В трофобласте резко усиливается ОС, что в норме приводит к повышению активности в плаценте таких антиоксидантов, как каталаза и глутатионпероксидаза. Возможно именно постепенное «открытие» материнских сосудов, прежде заполненных клетками вневорсинчатого трофобласта, позволяют плаценте адаптироваться к нарастающему напряжению кислорода [35]. В случае развития плацентарной недостаточности и гипоксии при ЗРП развивается ОС [36–39].

1.2. Роль окислительного стресса и ассоциированных с ним мкРНК в патогенезе акушерских осложнений

Окислительный стресс (ОС) представляет собой нарушение баланса в производстве АФК и способности биологической системы к антиоксидантной защите. Избыточное накопление АФК ведёт к необратимому повреждению биологических молекул с последующей потерей их функции, нарушению структуры клеток вплоть до цитолиза [120]. ОС вызывает токсические эффекты при производстве пероксидов и свободных радикалов, которые повреждают все компоненты клетки, включая белки, липиды, митохондрии, РНК и ДНК. Резко повышенные уровни маркеров окислительного стресса свойственны таким патологиям беременности, как неразвивающаяся беременность, невынашивание беременности, ПН и ЗРП [121]. Такие патологические явления, как анемия, нарушение синтеза половых гормонов, воспалительные процессы ведут к дисбалансу между свободнорадикальным окислением и антиоксидантной защитой в пользу первого [122, 123]. При этом в организме повышается содержание супероксид – анионов, имеющих неспаренный электрон на наружной орбите, в результате действия которых ускоряются процессы апоптоза и некроза клеток, в том числе в плацентарной ткани [124]. Как известно, в состав клеточных мембран и липопротеинов входят полиненасыщенные цепи жирных кислот, которые являются субстратом для перекисного окисления липидов (ПОЛ). ПОЛ инициируется различными оксидантами, такими как

H_2O_2 , супероксид, а также реактивными гидроксильными радикалами, в результате чего наблюдается разрушение клеточных мембран. Липидные радикалы, малоновый диальдегид (МДА) и диеновые конъюгаты, которые образуются в результате ПОЛ, повреждают молекулы белков и нуклеиновых кислот. Поврежденные мембраны клеток утрачивают энергетический потенциал, электровозбудимую функцию, контроль над ионными потоками и медиаторными системами, что может запустить процесс апоптоза. Для характеристики ПОЛ используется определение их конечных продуктов: МДА и 4-гидроксиноненаля (4-ГН) [125, 126]. МДА образуется в результате распада арахидоновой кислоты и более крупных полиненасыщенных жирных кислот. Являясь вторичным продуктом перекисного окисления липидов МДА сшивает молекулы липидов, снижая прочность клеточной мембраны [127]. МДА широко используется в практике как надежный маркер перекисного окисления омега-3 и омега-6 жирных кислот и показатель окислительного стресса [128]. 4-ГН – продукт преобразования арахидоновой и линолевой кислот. 4-ГН цитотоксичен и способствует быстрому снижению уровня глутатиона, ингибированию синтеза ДНК, РНК и белка, а в высоких концентрациях - и метаболических процессов в клетке, приводя к ее гибели [129]. В условиях плацентарной недостаточности и гипоперфузии плаценты генерируются свободные радикалы, которые способствуют ПОЛ. Потенциальными ферментными источниками активных форм кислорода являются участники цепи переноса электронов в митохондриях, такие как ксантинооксидаза, цитохром р450-зависимая монооксигеназа, липоксигеназа, NO-синтаза и NADPH-оксидаза (Рис.1) [130]. Антиоксидантная защита противостоит повреждающему действию АФК. К ней относятся ферментные и ферментные антиоксиданты, нейтрализующие свободные радикалы путем обмена своего атома водорода (в большинстве случаев) на кислород свободных радикалов [131]. Среди ферментов антиоксидантной системы выделяют: энзиматические перехватчики (каталаза, глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза); липофильные перехватчики радикалов (каротиноиды,

токоферолы, убихиноны, флавоноиды и др.); гидрофильные сквенджеры радикалов (глутатион, аскорбат, тиолы и др.); ферменты, участвующие в поддержании внутриклеточного стационарного уровня восстановительных эквивалентов (глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа); ферменты, осуществляющие восстановление окисленных антиоксидантов (глутатионредуктаза) или участвующие в поддержании в функционально активном состоянии белковых тиолов (тиоредоксинредуктаза); антиоксидантные белки (церулоплазмин, ферритин, альбумин, трансферрин, лактоферрин и др.) [132]. Неферментативная антиоксидантная система включает водорастворимые соединения: глутатион, аскорбат, цистеин, эрготионеин, и гидрофобные вещества: α -токоферол, витамин А, каротиноиды, убихиноны, витамины группы К, которые снижают скорость образования свободных радикалов [133]. Организмы различной степени сложности, утилизирующие кислород в процессах обмена веществ, содержат ферменты, обладающие способностью дисмутировать супероксидные радикалы, обрывая тем самым опасную цепь свободнорадикальных превращений на стадии их индукции. Эти ферменты называют супероксиддисмутазами (СОД). СОД – один из ключевых ферментов в антиоксидантной системе, участвующий в реакции дисмутации супероксидных анион – радикалов, в ходе которой образуется пероксид водорода. Образующийся в ходе данной реакции пероксид водорода способен инактивировать СОД, поэтому СОД всегда «работает» в тандеме с каталазой, расщепляющей пероксид водорода на нейтральные соединения. Каталаза – гемопротеин, катализирующий реакцию обезвреживания пероксида водорода, образующегося в результате реакции дисмутации супероксидного радикала. Каталитическая скорость каталазы достаточно высокая и составляет приблизительно 45 тыс. молекул пероксида водорода в секунду [134]. СОД препятствует образованию синглетного кислорода, активность которого гораздо выше, чем супероксидных анион-радикалов. СОД также противостоит оксидативному преобразованию оксида азота и продукции такого оксиданта, как пероксинитрит, тем самым

препятствуя эндотелиальной и митохондриальной дисфункции. СОД играет важнейшую роль в функционировании эндотелия и митохондрий путем ингибирования инактивации оксида азота в результате окислительного стресса, предотвращая образование пероксинитрита и гидроксильных радикалов. Дефицит СОД способствует эндотелиальной дисфункции, нарушению тонуса сосудов, воспалительному процессу в сосудах, ремоделированию сосудов, повышению их проницаемости, увеличению агрегации тромбоцитов, приводя к нарушению неоангиогенеза, к развитию атеросклероза и артериальной гипертензии [130]. Существует несколько изоферментов СОД: цитоплазматическая медь/цинк-содержащая СОД1, митохондриальная марганец-содержащая СОД2, внеклеточная медь/цинк-содержащая СОД3. В исследованиях показаны ангиопротекторные свойства СОД. СОД1 играет ключевую роль в функционировании эндотелия, сохраняя запасы оксида азота в эндотелии сосудов. Изменения экспрессии СОД1 могут повлечь за собой изменения структуры сосудов. Экспериментально показано, нехватка СОД1 ведет к вазоконстрикции и эндотелиальной дисфункции, нарушению ангиогенеза. СОД2 также играет важную роль в функционировании эндотелия. Дефицит СОД2 связан с увеличением уровня супероксида, с эндотелиальной дисфункцией и хроническим повреждением митохондрий. СОД3 снижает резистентность сосудов и артериальное давление. Кроме того, показано, что СОД3 стимулирует неоангиогенез в условиях ишемии, защищая ишемизированные ткани от избыточной продукции повреждающего супероксида [130]. Другими важными антиоксидантными ферментами являются каталаза и глутатионпероксидаза (ГП), расщепляющие пероксид водорода до инертных соединений, таких как вода и кислород (Рис.1) [130]. Пероксид водорода может спонтанно превращаться в активный оксидант, гидроксильный радикал. Каталаза и ГП (GSH-Px) препятствуют этому процессу. Превращая токсичный пероксид водорода в воду и кислород при участии глутатиона ГП (GSH-Px) превращает глутатион восстановленный в глутатион окисленный. При этом

сульфгидрильная группа глутатиона (GSH) окисляется до дисульфидной формы (GSSG), отдавая электроны пероксиду водорода (Рис.1). ГП также превращает перекиси липидов в спирты липидов. В случае снижения активности ГП или уровня глутатиона пероксид водорода и перекиси липидов не обезвреживаются и могут превращаться в токсичные гидроксильные радикалы и липидные пероксил-радикалы, соответственно [130]. На систему глутатиона возложен ряд важнейших функций, среди которых детоксикационная и антиоксидантная. Для нас представляет особый интерес протективное действие глутатиона в отношении окислительного стресса. Соотношение восстановленной и окисленной форм глутатиона в клетке – показатель, с помощью которого можно оценить уровень окислительного стресса [135].

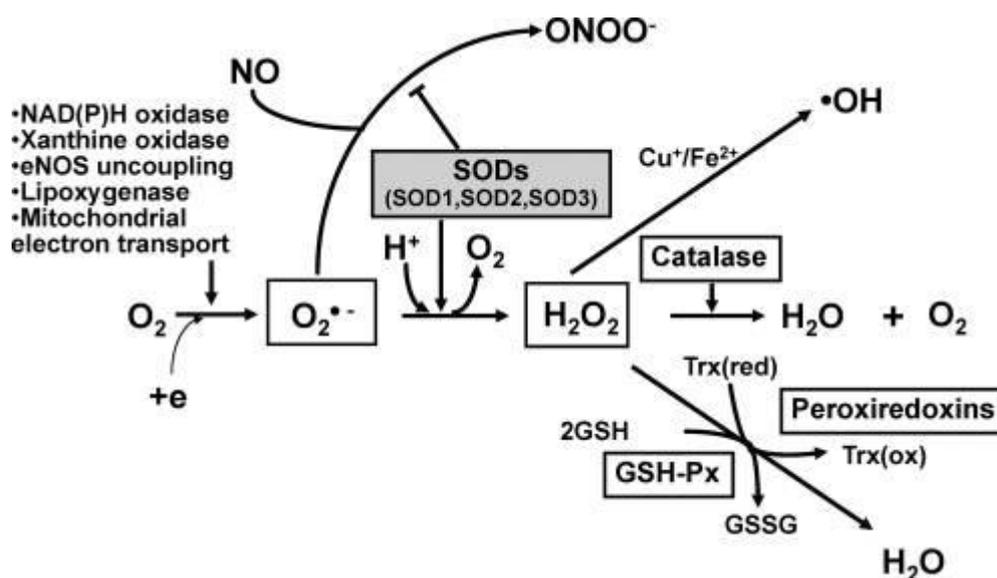


Рис. 1. Образование и метаболизм активных форм кислорода.

В настоящее время имеются сведения о роли ОС в развитии ЗРП [38, 39]. У женщин с ПЭ и ЗРП отмечается повышение уровня общего оксидантного статуса (TOS) и общего антиоксидантного статуса (TAS) по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью. Снижение перфузии как результат нарушения плацентации приводит к повреждению ишемизированной плаценты, что приводит к ОС [39]. Согласно ограниченному числу исследований ОС обнаруживается как у беременных

женщин, так и у новорожденных с ЗРП [39]. ОС при ЗРП был обнаружен в плацентарной ткани [136], околоплодных водах [37], а также плазме крови беременных [36]. Biri и соавт. показали, что в плацентарной ткани и плазме крови матери уровни МДА и ксантинооксидазы, участвующих в перекисном окислении липидов, были значительно выше у женщин с ЗРП по сравнению с контрольной группой [36]. ЗРП часто возникает как следствие ПЭ в результате ишемических процессов в плаценте и выработки АФК [36, 137]. M. Longini и соавт. выявили маркеры перекисного окисления липидов у беременных с ЗРП [37]. Известно, что регуляция окислительного стресса осуществляется различными механизмами [49]. В том числе одними из регуляторов окислительного стресса являются мкРНК [138]. МкРНК – малые некодирующие молекулы, размером от 19 до 24 нуклеотидов, которые играют важную роль в различных биологических процессах, в том числе, пролиферации, клеточной дифференцировке, апоптозе, регулируя экспрессию генов. МкРНК осуществляют контроль экспрессии генов на посттранскрипционном уровне за счет связывания с 3'-нетранслируемой областью мРНК-мишени, приводя либо к ее последующей деградации, либо к репрессии трансляции. Формируя, таким образом, сложную сеть генных взаимодействий, мкРНК регулируют экспрессию более 60% генов человека [139]. В настоящее время показано участие мкРНК в регуляции иммунного ответа, в процессах созревания, пролиферации, дифференцировки и активации клеток иммунной системы, продукции антител и высвобождении медиаторов воспаления [140]. МкРНК регулирует как физиологические, так и патологические процессы как на клеточном, так и тканевом уровнях [141]. Изменение уровня экспрессии мкРНК при различных заболеваниях, в частности, онкологических, сердечно-сосудистых, наследственных и других, позволяет их рассматривать в качестве потенциальных биомаркеров и медиаторов патологических процессов [142]. В ряде исследований продемонстрировано участие мкРНК в патогенезе гинекологических заболеваний и акушерских осложнений. В ходе исследований была показана

роль miR-503, miRNA-15a-5p в патогенезе эндометриоза, miR-203, miR-210 - в патогенезе ПЭ [143–146]. При преждевременных родах было выявлено повышение экспрессии miR-25, miR-338, miR-101, miR-449, miR-154, miR-135a, miR-142-3p, miR-202*, miR-199a* и miR-136 [147]. В различных исследованиях была показана роль мкРНК в развитии плаценты [148–150], а также патологических изменениях плаценты [151–153]. Известно, что существует ряд мкРНК, которые специфично экспрессируются в плаценте. Целый ряд исследований посвящен идентификации специфичных паттернов экспрессии мкРНК, циркулирующих в материнском кровотоке, как результат секреции трофобластных клеток, вследствие плацентарной гипоксии/ишемии, дисфункции эндотелия, апоптоза [154, 155]. МкРНК, секретлируемые в кровяное русло матери во время беременности, могут быть использованы в качестве маркеров мониторинга состояния плаценты, делая возможным раннюю диагностику осложнений беременности [74]. Выделено 3 кластера мкРНК, связанных с развитием плаценты. Кластер мкРНК хромосомы 14(C14MC) – является самым большим из описанных кластеров мкРНК, который включает 52 мкРНК. Он расположен в 14q32 хромосоме. Некоторые мкРНК кластера C14MC преимущественно экспрессируются в плаценте. C14MC экспрессируется в хромосоме, наследуемой от матери. Кроме того, C14MC, по-видимому, играет важную роль в эмбриональном развитии, нейрогенезе и метаболизме РНК [153]. Кластер мкРНК хромосомы 19(C19MC) включает 46 мкРНК, расположенных в хромосоме 19q13.41. C19MC экспрессируется только в наследованной от отца хромосоме и также связан с функцией плаценты и развитием эмбриона [153]. Кластер miR-371-3 состоит из hsa-miR-371a-3p, has-miR-371b-3p, hsa-miR-371-5p, hsa-miR-372, hsa-miR-373-3p и hsa-miR-373-5p. Этот кластер мкРНК экспрессируется в плаценте, соседствуя с кластером C19MC. МкРНК кластера miR-371-3 экспрессируются в эмбриональных стволовых клетках, уровни их экспрессии снижаются по мере развития эмбриона. Кластер miR-371-3, по-видимому, регулирует клеточный цикл, пролиферацию и апоптоз [153]. Опубликованы

исследования, изучающие роль мкРНК в различных процессах, происходящих на территории плаценты. Известно, что пролиферация трофобласта активируется miR-378a-5p [156], miR-376c [157] и miR-141 [158]. miR-155 [152] и miR-675 [159] ингибируют пролиферацию трофобласта. Известно, что в клетках трофобласта MiR-29b индуцирует апоптоз [151], в то время, как miR-182 ингибирует апоптоз [57]. MiR-195, miR-376c, and miR-378a-5p усиливают, а miR-210, miR-34a, miR-29b – ингибируют миграцию и инвазию трофобласта. А miR-29b и miR-16 ингибируют ангиогенез посредством супрессии VEGFA [66]. В мировой литературе описан ряд мкРНК, экспрессия которых меняется при заболеваниях, связанных с патологией плаценты. Было выявлено, что экспрессия miR-210 [160], miR-20a [161], miR-20b [161], miR-29b [151], miR-16 [68], miR-155 [75] и miR-675 [159] повышается при ПЭ, что приводит к снижению ангиогенеза, пролиферации и миграции трофобласта. Снижение экспрессии miR-378a-5p [156], miR-376c [157] и miR-195 [162] связано с активацией пролиферации и миграции трофобласта. При ГСД отмечается снижение экспрессии miR-132, miR-29a и miR-222; предполагается использование перечисленных мкРНК в диагностике ГСД, так как данные мкРНК могут быть определены в кровотоке матери [163]. Представляет интерес диссертационная работа Прозоровской К.Н., выполненная на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации на тему: «Особенности профиля мкРНК при ПЭ различной степени тяжести». В ходе исследования автор выявила снижение уровня экспрессии 6 мкРНК кластера генов 14 хромосомы C14MC (hsa-miR-323b-3p, miR-369-5p, miR-411-3p, miR-539-5p, miR-494-3p, miR-376a-5p) и повышение уровня экспрессии 7 мкРНК кластера генов 19 хромосомы C19MC и miR-371-3 (hsa-miR-371a-3p, miR-371a-5p, miR-372-3p, miR-373-3p, miR-519a-3p, miR-517c-3p, miR-519a-5p) в плаценте беременных при ранней и поздней ПЭ. Кроме того, выявлено

снижение уровня экспрессии hsa-miR-512-3p кластера C19MC и повышение уровня экспрессии hsa-miR-127-3p и hsa-miR-409-3p кластера C14MC в плазме беременных при ранней и поздней ПЭ. В результате исследования были сделаны выводы, что ПЭ сопровождаются достоверным снижением уровня экспрессии miR-539-5p, miR-423-5p, miR-376a-5p, miR-629-5p, miR-532-5p, miR-519a-3p, miR-130b3p, miR-127-3p, let-7c-5p в плаценте и повышением уровня экспрессии miR-532-5p, miR-423-5p, let-7c-5p, miR-629-5p, miR-519a-3p, miR-181a-5p, miR-92b-3p в плазме крови беременных, что коррелирует со степенью тяжести ПЭ. miR-423-5p и miR-92b-3p в данной работе рассмотрены в качестве маркеров, обладающих высокой диагностической ценностью в отношении развития тяжелой ПЭ [164]. Имеется ряд исследований, посвященных поиску специфичных для ЗРП мкРНК [75, 76]. В частности, определен ряд плацента-специфичных мкРНК, экспрессия которых снижается при ЗРП: miR-518b, miR-1323, miR-516b, miR-515-5p, miR-520h, miR-519d и miR-526b [75, 76]. В другом исследовании авторы обнаружили снижение экспрессии miR-517-5p, miR-518f-5p, miR-519a, miR-519d, miR-520a-5p и miR-525 в плацентарной ткани при ЗРП [165]. Но поскольку механизмы, регулирующие развитие плаценты, включают пролиферацию трофобластов, их дифференцировку, миграцию, инвазию и апоптоз, а также ангиогенез и сбалансированную работу про- и антиоксидантной системы, предполагается вовлеченность широкого спектра мкРНК. По данным Guo и соавт. было показано снижение экспрессии miR-194 в плацентарной ткани при ЗРП и ПЭ [166]. В исследованиях, проведенных Нгоматникова и соавт., было показано снижение экспрессии ряда мкРНК в ткани плаценты и сыворотке крови у беременных при ранней ЗРП, в том числе: miR-16-5p, miR-26a-5p, miR-100-5p, miR-103a-3p, miR-122-5p, miR-125b-5p, miR-126-3p, miR-143-3p, miR-145-5p, miR-195-5p, miR-199a-5p, miR-221-3p, miR-342-3p и miR-574-3p. При этом изменения экспрессии ряда указанных мкРНК, ранее были обнаружены при сердечно-сосудистых и цереброваскулярных заболеваниях. Кроме этого, повышенная экспрессия

miR-499a-5p оказалась общим феноменом для ПЭ, ГАГ и ЗРП, а повышенная экспрессия miR-1-3p наблюдали у беременных с ПЭ после 34 недель гестации и у беременных с ЗРП, сопровождающейся нарушением кровотока в пупочной артерии [69]. В исследовании Huang L. с соавт. были представлены данные о повышении уровня экспрессии miR-424 в ткани плаценты у 25 беременных с ЗРП, а также был исследован его ген-мишень: митоген-активированная протеинкиназа 1 (MEK1), которая играет роль в пролиферации клеток эндотелия через рецептор фактора роста фибробластов 1 (FGFR1) и регулирует VEGF. В условиях гипоксии изменяется экспрессия miR-424 в клетках эндотелия. Продукт гена MEK1 участвует в каскаде реакций, направленных на активацию пролиферации и дифференцировки клеток. miR-424, в свою очередь, ингибирует пролиферацию и ангиогенез, участвуя в патогенезе ЗРП [167]. МкРНК регулируют большинство биологических процессов, в то числе клеточные реакции на ОС. Так члены семейства miR-200 участвуют в формировании дисфункции эндотелия, опосредованной ОС, развитии сосудистых нарушений, связанных с сахарным диабетом и ожирением [62]. Хорошо известна ключевая роль miR-210 в метаболизме митохондрий и регуляции продукции АФК [63]. MiR-210 активируется фактором, индуцированным гипоксией 1- α (HIF-1 α) [63], модулируя адаптивные механизмы, возникающие при острой ишемии, осуществляя, таким образом, регуляцию ОС [64], метаболизм в митохондриях, ангиогенез, восстановление ДНК и выживаемость клеток [65]. Повреждение клеток в результате ОС и ассоциированная с ним митохондриальная дисфункция могут привести к накоплению цитотоксических медиаторов и гибели клеток [66]. Некоторые исследования свидетельствуют о том, что изменение напряжения кислорода и гипоксия являются важными регуляторами экспрессии мкРНК в плаценте [67, 68]. Кроме того, имеются сведения о том, что ряд мкРНК, чья экспрессия менялась при различных изменениях в плаценте, в экспериментах доказали свое участие в ОС. Среди мкРНК, активных при ПЭ, miR-210, miR-144*,

miR-451, miR-146b-5p, miR-126*, miR-16, miR-29b, miR-26b, miR-335, miR-182, miR-155 и miR-20a [57–61, 67, 68, 74] также связаны с ОС. Интересен тот факт, что среди этих мкРНК miR-210, miR-155, miR-16 и miR-29b играют важную роль в нормальном развитии плаценты. MiR-210 ингибирует миграцию трофобласта, участвует в регуляции метаболизма железа, митохондриальном дыхании и метаболизме стероидов [59, 60, 160, 168]. Среди мкРНК, экспрессия которых подавлена при ПЭ, miR-204, miR-195 и miR-1 [67] ассоциированы с ОС.

Снижение экспрессии miR-21, miR-16, увеличение экспрессии miR-210, согласно некоторым данным, ассоциированы с ЗРП. Экспрессия miR-21, которая повышается под действием АФК, также связана с раком желудка и толстой кишки. [169, 170]. Следует отметить, что miR-21 и miR-132 в ходе исследований были также обнаружены в материнском кровотоке, что делает возможной перспективу использования мкРНК в качестве диагностических/прогностических маркеров [66]. МкРНК, ассоциированные с ОС, экспрессия которых меняется при альтерациях плаценты, представлены в таблице 3 [66].

Таблица 3. МкРНК, экспрессия которых меняется при ОС, связанные с развитием плаценты/альтерациями плаценты, а также осложнениями беременности.

Развитие плаценты	Альтерации плаценты
Миграция трофобласта: miR-155, miR-195, miR-210, miR-29a	ПЭ: miR-210, miR-144*, miR-451, miR-146b-5p, miR-126*, miR-16, miR-29b, miR-26b, miR-335, miR-182, miR-155, miR-20a, miR-204, miR-195, miR-1
Пролиферация трофобласта: miR-155, miR-195,	ЗРП: miR-210, miR-21, miR-16

miR-21	
Инвазия трофобласта: miR-29b, miR-16, miR-21	Преждевременные роды: miR-338
Апоптоз: miR-29b, miR-182	ГСД: miR-132
Ангиогенез: miR-16, miR-29b	

Некоторые из мкРНК, такие как miR-210, miR-155, miR-16, miR-195, miR-21 и miR-29b, непосредственно ассоциированы с АФК и ОС. Поскольку под действием ОС наблюдаются функциональные и структурные изменения плаценты, связанные с развитием осложнений беременности, представляет интерес изучение механизмов регуляции ОС. Регуляторные механизмы, благодаря которым мкРНК оказывает влияние на пролиферацию, дифференцировку, миграцию, инвазию и апоптоз трофобласта, ангиогенез, а также на экспрессию антиоксидантных генов требуют дальнейшего изучения. Поскольку различные изменения в плаценте связаны с определенными паттернами мкРНК, можно предположить, что эти паттерны могут быть использованы в качестве биомаркеров соответствующих изменений в плаценте.

На сегодняшний день недостаточно данных о спектре специфичных для ЗРП мкРНК, регулирующих окислительный стресс. Поиск характерных для ЗРП мкРНК в аспекте окислительного стресса в дальнейшем может позволить использовать их в качестве маркеров данной патологии.

1.3. Диагностика и профилактика задержки роста плода

До родов диагностика ЗРП складывается из тщательного сбора анамнеза, физикального обследования, проведения функциональных методов исследования: УЗИ, доплерометрии маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотоков. Подтвердить данный диагноз можно только после

родов при оценке параметров состояния новорожденного. Международные клинические протоколы фокусируют внимание на тщательном сборе анамнеза, четком определении срока беременности, а также данных УЗИ, сделанном в I или начале II триместра беременности. Кроме того, рекомендуется проводить биохимический скрининг для оценки рисков трисомии 21 хромосомы [90]. С 24 до 38 недель беременности необходимо оценивать высоту дна матки (ВДМ) относительно лонного сочленения (значима разница в ВДМ и сроке гестации более 3 см) [171]. Однако, рутинное определение ВДМ имеет ограничения в случае ожирения, наличия миомы матки у матери, многоплодия, многоводия или, когда дно матки не может быть пропальпировано. На чувствительность данного метода влияет индекс массы тела матери, объем мочевого пузыря, паритет и расовая принадлежность [172, 173]. В перечень рекомендуемых исследований при ВДМ (в сантиметрах) меньше гестационного срока (в неделях) на 3 и более сантиметров входит: УЗИ для определения веса плода, объема околоплодных вод, исследование биофизического профиля плода и/или доплерометрия пупочной артерии [83]. Объем околоплодных вод должен оцениваться на основании только глубокого вертикального кармана [89]. Если по данным ультразвуковой диагностики предполагаемая масса плода (ПМП) <10 центили необходимо провести доплерометрию с оценкой ПИ в маточных артериях (МА), ПИ в пупочной артерии (ПА), а также церебро-плацентарное соотношение (ЦПС) для дифференциальной диагностики ЗРП и «малого плода к сроку гестации». У плодов с ЗРП должны мониторироваться изменения в доплерометрических показателях в ПА, ductus venosus (DV) и перешейке аорты, а также должна производиться КТГ для оценки нарушений состояния плода [174–176]. Допплерометрия пупочной артерии проливает свет на этиологию ЗРП, так как увеличение сопротивления в ПА свидетельствует о плацентарной недостаточности, лежащей в основе ЗРП. Нулевой и реверсный конечно-диастолический кровоток в ПА ассоциирован с повышенной частотой перинатальной смертности и влияет на принятие

решения о времени родоразрешения. Согласно некоторым источникам литературы доплерометрия других фетальных сосудов (среднемозговой артерии (СМА), прекардиальной венозной системы плода) не улучшает перинатальных исходов [83]. Согласно же другим источникам литературы в случае патологических изменений доплерометрических показателей в артериях пуповины, как отмечено Канадским обществом акушеров и гинекологов, дальнейшее исследование плодовой сердечно-сосудистой системы с помощью доплерометрии (СМА, DV) является обоснованным [90]. По рекомендации Королевского общества акушеров и гинекологов, доплерометрия DV имеет умеренную прогностическую ценность, и его следует использовать для наблюдения за недоношенным плодом, «малым к сроку гестации» с отклонениями в доплерометрических показателях пупочной артерии с целью определения срока его родоразрешения [89, 177]. Благодаря проведению многочисленных рандомизированных исследований было установлено, что использование доплерометрии ПА для наблюдения за состоянием плода может значительно снизить перинатальную смертность, а также необоснованную индукцию родов при недоношенном сроке беременности, осложненной ЗРП [175, 178, 179]. В течение долгого времени нарушения в кровотоке ПА (ПИ больше 95 перцентили) рассматривали в качестве основного маркера дисфункции плаценты. Считалось, что в случае наличия «малого плода к сроку гестации» при имеющихся нормальных показателях доплерометрии ПА, нарушения функции плаценты отсутствуют [180]. Следует отметить, что проведение доплерометрии ПА не выявляет легкую плацентарную недостаточность, которая наблюдается в некоторых случаях ранней формы ЗРП и практически полностью при поздней ЗРП [181]. Данные доказательной медицины, полученные в течение двух последних десятилетий, показали, что в группе плодов, «малых к сроку гестации», имеющих нормальный ПИ в артериях пуповины, выделяется подгруппа детей, перинатальные исходы которых хуже, чем у детей с нормальным весом [182–185]. При таких ситуациях ПИ в ПА не может быть использован в

качестве единственного достоверного критерия при дифференциальной диагностике между «малым плодом к сроку гестации» и ЗРП [94]. Согласно доказательным данным, доплерометрический показатель ЦПС является точным параметром для проведения дифференциальной диагностики между плодами с ЗРП и плодами, «малыми к сроку гестации» особенно в случае легкой плацентарной недостаточности. Данный показатель рассчитывают при делении ПИ в СМА на ПИ в ПА. ЦПС отражает незначительное увеличение плацентарной резистентности и ее спады в сосудах мозга плода. Некоторые исследования свидетельствуют о том, что показатель ЦПС может являться индикатором гипоксического состояния мозга и коррелировать с неблагоприятными перинатальными исходами [186]. Для предикции неблагоприятных перинатальных исходов при ЗРП F. Figueras и соавт. предлагают использовать, в качестве биомаркеров, три следующих параметра: ЦПС (меньше 5 перцентили), ПИ в маточной артерии (больше 95 перцентили) и малый предполагаемый вес плода для срока гестации (меньше 3 перцентили). Что касается особенностей доплерометрии при ранней и поздней ЗРП в случае поздней ЗРП отмечается умеренная плацентарная недостаточность и показатели доплерометрии в пупочной артерии могут оставаться в пределах нормы. Однако, несмотря на нормальные показатели, отмечается высокая частота отклонений в ЦПС (меньше 5 перцентили). Кроме этого, усиление вазодилатации в головном мозге плода, свидетельствует о хронической гипоксии, что отражается в показателях доплерометрии СМА (ПИ ниже 5 перцентили). Данное изменение наблюдают в 25% случаев поздней ЗРП [181]. Дополнительные признаки ухудшения состояния плода, такие как, изменения кровотока в DV (ПИ больше 95 перцентили), практически никогда не встречаются [187]. Ранняя ЗРП ассоциирована с функциональными отклонениями кровотока при доплерометрии ПА [188]. При отсутствии соответствующего лечения состояние плода ухудшается, гипоксия и ацидоз прогрессируют, что отражается в доплерометрических показателях и увеличении ПИ

прекардиальных вен плода, особенно в DV [98]. E. Ferrazzi и соавт. в своем исследовании выделили особенности этапности ухудшений показателей доплерометрии при ЗРП в системе «мать-плацента-плод» [189]. Для ранних изменений доплерометрии характерны повышение ПИ в ПА и централизация кровообращения плода, «brain-sparing» эффект, которые отражают увеличение резистентности сосудов плаценты и перераспределение кровотока в пользу мозга плода. Поздние этапы изменений доплерометрии при ЗРП характеризуются нарушением кровотоков в венозной системе плода: в ductus venosus, нижней полой и пупочной венах [189]. В проспективном исследовании, включающем 236 плодов с ЗРП, исследователи выделили 3 этапа ухудшения кровотоков при доплерометрии: увеличение ПИ в ПА, централизация кровообращения плода, «brain-sparing» эффект, а затем нарушение кровотока в венозной системе плода [190]. Авторы также отмечают, что у 6 плодов сначала отмечались нарушения в венозной системе, а затем появлялись явления централизации кровообращения, «brain-sparing» эффект. В то же время некоторые авторы свидетельствуют о том, что при умеренной плацентарной недостаточности и нормальном показателе ПИ в ПА при поздней ЗРП может отмечаться снижение показателя ЦПС, что свидетельствует о вазодилатации в головном мозге плода и централизации кровообращения. Другие признаки ухудшения состояния плода, такие, как изменения кровотока в ductus venosus, практически не встречаются при поздней ЗРП [187]. Ранняя ЗРП связана с нарушением кровотока при доплерометрии ПА [188]. По мере прогрессирования гипоксии отмечается увеличение ПИ прекардиальных вен плода, особенно в ductus venosus [98]. Согласно некоторым данным, при легкой плацентарной недостаточности нарушения кровотоков наблюдаются на более поздних сроках (средний срок беременности 31 неделя 5 дней) и проявляются чаще в виде «brain-sparing» эффекта без изменений кровотока в венозной системе плода. В случае выраженной плацентарной недостаточности нарушения показателей доплерометрии наблюдаются

гораздо раньше (средний срок беременности – 27 недель 1 день) [191]. А.О. Odibo и соавт. в ходе исследования обнаружили, что площадь под ROC-кривой для ПА и СМА для прогнозирования неблагоприятных перинатальных исходов составила 70% и 48%, соответственно [192]. Таким образом, доплерометрия СМА для разделения группы плодов с благоприятными и неблагоприятными перинатальными исходами имеет ту же точность, что случайный выбор. Допплерометрия сосудов фетоплацентарной системы в комплексе дает более точные данные о состоянии плода. А. Baschat обнаружили постепенные изменения ПИ в ПА и ПИ в СМА в течение двух недель, в то время, как показатели доплерометрии в DV и в нижней полой вене плода оставались стабильными и изменялись примерно за 4 дня до родоразрешения [190]. В 2016 году S. Gordijn и соавт. представили консенсус, в котором были предложены ультразвуковые критерии для постановки диагноза ранней и поздней ЗРП для плодов без пороков развития (Таблица 4.) [96].

Таблица 4. Ультразвуковые критерии ранней и поздней ЗРП.

Ранняя ЗРП	Поздняя ЗРП
Срок беременности менее 32 недель	Срок беременности более 32 недель
Окружность живота плода/предполагаемый вес плода <3 центили или нулевой конечно-диастолический кровоток в пупочной артерии	Окружность живота плода/предполагаемый вес плода <3 центили или по крайней мере 2 критерия из нижеперечисленных:

или	
1. Окружность живота плода/предполагаемый вес плода <10 центили в сочетании с:	1. Окружность живота плода/предполагаемый вес плода <10 центили
2. ПИ в маточной артерии >95 центили и/или	2. Значение окружности живота плода/предполагаемого веса плода при УЗИ в динамике различается на величину, превышающую 2 квартили (1 квартиль соответствует 25 центилям) на центильной кривой роста
3. ПИ в пупочной артерии >95 центили	3. ЦПС <5 центили или ПИ в пупочной артерии >95 центили

В настоящее время нет единых подходов к диагностике ЗРП, что явилось одной из предпосылок к проведению мультицентрового широкомасштабного исследования INTERGROWTH-21st, координируемого Оксфордским университетом. Для создания единых международных стандартов роста и развития плода и новорожденного с момента зачатия до 2 лет объединились более 300 исследователей и клиницистов из 27 учреждений в 18 странах мира. В ходе исследования был собран массив данных о состоянии здоровья, росте и питании, полученный от почти 60000 женщин и новорожденных на пяти континентах. Благодаря INTERGROWTH-21st создаются новые стандарты оценки развития новорожденных, в том числе недоношенных и «малых для срока гестации», ультразвуковые стандарты фетометрии, нормы прибавки веса матери во время беременности [193]. Как упоминалось выше, окончательный диагноз ЗРП можно поставить только после родов при непосредственной оценке состояния новорожденного.

Помимо веса новорожденного ниже 10 перцентили для клинициста важно подтвердить диагноз ЗРП с помощью других признаков, свидетельствующих о наличии задержки роста плода. К ним относятся: признаки нарушения внутриутробного питания у новорожденного: снижение мышечной массы, подкожной жировой клетчатки, тощая пуповина, «морщинистое» лицо, тонкая, шелушащаяся кожа, признаки асимметричной формы ЗРП с низким индексом Пондерала [111]. На сегодняшний день наиболее эффективным методом лечения пациенток с ЗРП является своевременное родоразрешение после тщательной оценки рисков для плода с учетом клинических данных и показателей доплерометрии и УЗИ.

Не существует доказательных данных, что какие-либо меры у женщин с ЗРП улучшают рост плода. Многочисленные подходы были опробованы в небольших рандомизированных исследованиях, в том числе включение в рацион матери пищевых добавок, применение оксигенотерапии, а также принятие мер по улучшению кровообращения в плаценте, таких как увеличение объема плазмы крови, применение низких доз аспирина, постельный режим [172, 178, 194, 195]. Ряд авторов изучали модификацию рациона питания матери для профилактики ЗРП. Однако, изменение питания, а также биоактивные добавки не показали эффективности для профилактики ЗРП. Постельный режим также не показал своей эффективности [83, 178, 196]. Пациенты с ЗРП могут наблюдаться амбулаторно, и нет доказательных данных, на которых могут быть основаны показания к госпитализации. Однако госпитализация обеспечивает контроль за состоянием плода и беременной, позволяя при необходимости родоразрешить пациентку в случае осложнений [178]. Все международные клинические протоколы подчеркивают необходимость консультирования женщины о вреде курения для нее и ребенка и о необходимости немедленного прекращения курения во время всего периода беременности [89, 90, 178]. Специалисты Королевской коллегии акушеров и гинекологов считают, что препараты, относящиеся к группе антиагрегантов, могут быть эффективными в предотвращении

рождения плода, «малого к сроку гестации» у женщин с высоким риском ПЭ, хотя их эффективность мала. Подчеркивается, что у женщин с высоким риском ПЭ прием антиагрегантов следует начинать не позднее 16 недель беременности [89]. Канадское общество акушеров и гинекологов рекомендует малые дозы аспирина, которые могут быть назначены при наличии 2 и более факторов риска имеющихся во время текущей беременности: ХАГ, ожирение, возраст беременной более 40 лет, использование ВРТ, сахарный диабет I или II типов, возникшие до беременности, многоплодная беременность, преждевременная отслойка плаценты и инфаркты плаценты в анамнезе. Малые дозы аспирина должны быть рекомендованы всем женщинам с плацентарной недостаточностью в анамнезе, в том числе женщинам с ПЭ и ЗРП. Прием аспирина рекомендован с 12-16 недель до 36 недель беременности в отсутствие противопоказаний для его применения [90]. Однако Американское общество акушеров и гинекологов [83] отмечает, что несмотря на то, что некоторые авторы предлагали применение аспирина для профилактики плацентарной недостаточности у женщин, имевших новорожденного, «малого к гестационному возрасту», на сегодняшний день недостаточно доказательных данных для применения аспирина для рутинного использования в профилактике ЗРП. Остаются неясными и дискуссионными вопросы, связанные с эффективностью применения нефракционированных или низкомолекулярных гепаринов (НМГ) для снижения риска повторных плацента-ассоциированных осложнений поздних сроков беременности, таких как ЗРП. Согласно данным М. Rodger и соавт. [197] изучение эффективности терапии НМГ у женщин с наличием в анамнезе плацента-опосредованных осложнений беременности показало, что применение НМГ было связано с 50-60 процентным снижением частоты рождения плодов, «малых к сроку гестации» с весом <10-го перцентиля и <5-го перцентиля при сравнении с группой, не получавшей НМГ. Однако эти данные не могут считаться окончательными, поскольку исследования, включенные в обзор, имели

разное качество, а подгруппы пациентов, имевшие наибольшую профилактическую пользу от применения НМГ, не могут быть точно определены. На сегодняшний день антитромботическая терапия является перспективной в отношении предотвращения рождения плода, «малого к сроку гестации» у женщин с высоким риском ЗРП. Однако недостаточно данных, особенно в отношении побочных эффектов от приема препаратов данной группы, чтобы рекомендовать их для широкого применения [89]. Профилактика ЗРП при последующих беременностях включает в себя отказ от курения и употребления алкоголя, сбалансированное питание у женщин со значительным дефицитом питательных веществ, избегание короткого или длинного интергравидарного промежутка и др. [89]. В настоящее время требуются дополнительные исследования, касающиеся ранней диагностики ЗРП, оптимизации тактики ведения беременности, а также профилактики и возможных вариантов лечения данной патологии.

Глава 2

Материал и методы исследования

2.1. Материал исследования

Настоящее исследование выполнялось с сентября 2015г. по август 2018 г. в акушерском отделении (заведующий: д.м.н. Кан Н.Е.) ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор: академик РАН, профессор Сухих Г.Т.). Мультидисциплинарный подход к проведению исследования, обследование пациенток и новорожденных, сбор и обработка материала для исследования требовали участия различных подразделений ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Специальные методы исследования проводились в лаборатории прикладной транскриптомики (заведующий: к.б.н. Тимофеева А.В.), лаборатории митохондриальной медицины (заведующий: к.б.н. Высоких М.Ю.) Был проведен ретроспективный анализ 109 историй родов беременных, родоразрешенных в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России за период с 2015 г. по 2018 г. В соответствии с критериями включения и невключения в исследование нами была отобрана 41 пациентка с ЗРП, из них у 20 женщин наблюдалась ранняя форма ЗРП (манифестировавшая до 34 недель гестации) и у 21 женщины – поздняя форма ЗРП (манифестировавшей после 34 недель беременности). Методом подбора пар была отобрана 41 пациентка, составившая группу сравнения, с фетометрическими параметрами плода и новорожденного, соответствующими гестационному сроку. С целью выделения факторов риска развития ЗРП был проведен анализ данных анамнеза, соматических заболеваний, числа и исхода предыдущих беременностей, а также осложнений течения настоящей беременности.

В рамках исследования случай-контроль было проведено изучение показателей функционального состояние про- и антиоксидантной систем, а также уровня экспрессии ассоциированных с окислительным стрессом мкРНК у женщин с беременностью в сроке от 26 до 40 недель,

осложнившейся ЗРП (манифестировавшей и требующей родоразрешения до 34 и после 34 недель беременности). Для проведения специальных методов исследования были отобраны пациентки с ранней формой ЗРП (Ia подгруппа) (n=9) и с поздней ЗРП (Ib подгруппа) (n=14). II группу составили женщины с беременностью, неосложненной ЗРП (n=26), родоразрешенные до 34 недель (группа сравнения 1; n=13) и после 34 недель беременности (группа сравнения 2; n=13). В соответствии с задачами исследования для сбора анамнеза была разработана специальная карта обследования женщин, включенных в исследование, состоящая из нескольких разделов. Общая часть карты объединила медико-социальный и общий анамнез женщин; специальная – информацию о количестве и исходах беременностей и родов, перенесенных гинекологических заболеваниях, течении настоящей беременности. Анамнестические сведения включали: возраст, данные о соматических, том числе гинекологических заболеваниях, информацию о характере менструаций, состоянии репродуктивной функции, данные о перенесенных оперативных вмешательствах.

Критерии включения в I группу:

1. Беременные со сроком беременности от 26 - 40 недель.
2. Возраст беременных от 18 до 45 лет.
3. Одноплодная беременность, осложнившаяся ЗРП.
4. Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии включения во II группу:

1. Беременные со сроком беременности от 26 - 40 недель.
2. Возраст беременных от 18 до 45 лет.
3. Одноплодная беременность без ЗРП.
4. Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения:

1. Тяжелая экстрагенитальная патология.
2. Беременность, наступившая в результате ВРТ.
3. Преэклампсия.

4. Многоплодная беременность.
5. Пороки развития плода.
6. Генетические заболевания матери.
7. Острые инфекционные заболевания матери.

Группы были сопоставимы по исходной клинической характеристике. Все пациентки были информированы о цели и задачах исследования, этапах его проведения и дали информированное согласие на участие в нём. Автор исследования лично провел анализ данных историй родов, участвовал в ведении беременности на различных ее этапах, а также в родоразрешении пациенток, включённых в исследование, в сборе и обработке биологического материала, а также мониторинге полученных результатов. Были проведены анализ и статистическая обработка клинико-анамнестических данных и результатов специальных методов исследования.

2.2. Методы исследования

Данная работа проводилась с использованием современных высокоинформативных методов исследования, реактивов и аппаратуры ведущих производителей лабораторного оборудования.

Следующие принципы были применены при проведении данной работы:

1. Сопоставление соматического и акушерского анамнеза с течением настоящей беременности и частотой развития ЗРП.
2. Применение функциональных и специальных методов исследования с целью их комплексной оценки.
3. Использование современных методов статистической обработки для анализа полученных данных.

В данной работе использовались следующие методы:

1. Общеклинические методы исследования.
2. Функциональные методы исследования:
 - Ультразвуковое исследование;

- Допплерометрическое исследование кровотока в системе «мать-плацента-плод»;
- Антенатальная кардиотокография;
- 3. Специальные методы исследования:
 - Выделение суммарной РНК и мкРНК из тканей плаценты;
 - Выделение мкРНК из плазмы пуповинной крови;
 - Обратная транскрипция и количественная ПЦР в режиме реального времени;
 - Определение маркеров про- и антиоксидантной систем методами полярографии, спектрофотометрии, электрофореза в полиакриламидном геле с вестерн-блоттингом (ткани плаценты, плазма крови беременной, полученная перед родоразрешением и плазма пуповинной крови).

4. Изучение здоровья новорожденных.

5. Статистическая обработка данных.

2.2.1. Общеклинические методы исследования

Проведен анализ данных анамнеза, который включал: возраст, перенесенные ранее и имеющиеся в наличии соматические, в том числе гинекологические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций. В клиническое обследование входили: общий осмотр, измерение массы тела и роста пациенток, оценка состояния сердечно-сосудистой, дыхательной, эндокринной, пищеварительной и мочевыделительной систем, а также оценка состояния молочных желез. Для определения предполагаемой даты родов использовали общепринятые методы, основанные на дате первого дня последней менструации, продолжительности и регулярности менструального цикла, сроке беременности при первой явке в женскую консультацию и данных ультразвукового исследования во время беременности. При наружном исследовании устанавливали положение, предлежание и позицию плода, основываясь на наружных акушерских приемах (приемы Леопольда), измеряли окружность живота и высоту стояния дна матки, определяя при

доношенной беременности предполагаемую массу плода по формулам (Жордания, Якубовой), выслушивали сердцебиение плода с помощью акушерского стетоскопа или Doppler. Оценка акушерского статуса включала в себя: осмотр наружных половых органов, исследование влагалища и шейки матки с помощью зеркал, бимануального влагалищного исследования. Отмечали особенности течения беременности, интраоперационную кровопотерю, состояние новорожденного. В ходе выполняемой работы был использован стандартный спектр лабораторных исследований: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, гемостазиограмма, определение групповой и резус-принадлежности. Диагноз ЗРП устанавливался на основании заключения неонатологов с учетом перцентильной шкалы Фентона (вес плода ниже 10 перцентили) при недоношенной беременности (при сроке беременности менее, чем 37 недель 1 день) и перцентильной шкалы ВОЗ (при сроке беременности более, чем 37 недель 1 день), а также на основании данных об осложненном течении раннего неонатального периода. При анализе медицинской документации было обнаружено, что в ряде случаев вес плода ниже 10 перцентили сочетался с нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод» по данным доплерометрии (нарушение маточно-плацентарного и/или фето-плацентарного кровотоков). Однако, отмечались случаи, где вес плода был ниже 10 перцентили при наличии нормальных показателей кровотока в системе «мать-плацента-плод» (поздняя ЗРП). В этих случаях при ультразвуковом исследовании в динамике наблюдалось отставание плода в росте по данным кривой, полученной при динамическом наблюдении, так ПМП в динамике по данным кривой роста плода отличалась на более чем 2 квантили.

2.2.2. Функциональные методы исследования

Ультразвуковое исследование осуществлялось на аппаратах экспертного класса с использованием трансабдоминального и трансвагинального датчиков. При ультразвуковом исследовании детально

изучалась анатомия плода для исключения врожденных пороков развития. Рассчитывались фетометрические показатели, включающие: бипариетальный размер, лобно-затылочный размер, окружность головы, размер мозжечка, поперечный размер живота, передне-задний размер живота, окружность живота, длину бедра, с последующим определением предполагаемой массы плода по Hadlock и сравнением параметров с нормативными для соответствующего гестационного срока. Оценивались расположение и степень зрелости плаценты по Grannum. Производилась оценка объема околоплодных вод, длины шейки матки, определение количества сосудов в пуповине.

Допплерометрическое исследование маточно-плацентарного и фето-плацентарного кровотоков производилось трансабдоминальным датчиком на аппаратах экспертного класса и включало определение следующих показателей кровотока: пульсационного индекса (ПИ) в маточных, пупочной, среднемозговой артериях, а также расчета церебро-плацентарного соотношения (ЦПС).

Аntenатальная кардиотокография (КТГ) проводилась всем участникам исследования при сроке беременности более 33 недель. Производилась непрерывная регистрация частоты сердцебиения плода и тонуса матки беременной. Состояние плода оценивалось на основании показателя состояния плода (ПСП): величина этого показателя до 1 указывала на наличие здорового плода; 1,1-2,0 – на наличие ранних проявлений фетальной гипоксии; 2,1-3,0 – на выраженные нарушения; более 3,1 – на тяжелое состояние плода.

2.2.3. Специальные методы исследования

Выделение суммарной РНК и мкРНК из тканей плаценты

Забор образцов тканей плаценты осуществлялся не позднее 10 минут после родоразрешения. Тканевой срез толщиной 5мм проходил через всю толщину плаценты, захватывая плодную и материнскую части, от хориальной пластинки до децидуальной оболочки. Взятый образец ткани

промывали в 0,9% растворе NaCl и мгновенно замораживали в жидком азоте для последующего хранения при -80°C . Перед выделением РНК образец гомогенизировали в «QIAzol Lysis Reagent» и далее выделяли суммарную РНК из 20-40 мг ткани плаценты набором miRNeasy Micro Kit (Qiagen) с последующей дополнительной очисткой суммарной РНК и обогащением фракцией мкРНК набором RNeasyMinElute Cleanup Kit (Qiagen) с использованием автоматической станции QIAcube (Qiagen). Все процедуры проводили в соответствии с протоколами фирмы-производителя. Концентрацию РНК измеряли с использованием флуориметра Qubit 3.0 (Invitrogen). Выход суммарной РНК из 20-40 мг ткани плаценты составил $8,95 \pm 4,95$ мкг. Проверку качества выделенных образцов суммарной РНК проводили на биоанализаторе Agilent Bioanalyzer 2100 с использованием набора RNA 6000 Nano Kit (Agilent Technologies). Образцы, входящие в диапазон соотношений молярных концентраций рибосомальных РНК (28S и 18S), равный 1,5-1,8, использовали для дальнейшего исследования.

Выделение мкРНК из плазмы пуповинной крови

Образцы пуповинной крови собирали в пробирки VACUETTE® с ЭДТА, затем центрифугировали в течение 20 минут при 300g ($t=4^{\circ}\text{C}$), отобранную плазму повторно центрифугировали в течение 10 минут при 14000g. МкРНК выделяли из 200 мкл плазмы крови набором Serum Plasma (Qiagen) с предварительным добавлением $5,6 \times 10^8$ копий синтетической мкРНК cel-miR-39 (miScript Primer assay, Qiagen) после инкубации плазмы с фенольной смесью Qiazol, в качестве внутреннего контроля эффективности выделения РНК, синтеза кДНК и количественной ПЦР в режиме реального времени.

Обратная транскрипция и количественная ПЦР в режиме реального времени

В реакционной смеси (20 мкл) (набор miScript II RT Kit), содержащей буфер 1x miScript HiSpec Buffer, нуклеотидную смесь 1x miScript Nucleics Mix, проводили конвертацию мкРНК (500 нг) из каждого образца в кДНК,

при $t=37^{\circ}\text{C}$ в течение 60 минут с последующей инкубацией при 95°C в течение 5 минут, охлаждением во льду и доведением объема образца деионизированной водой до 200 мкл. Для определения уровня экспрессии мкРНК в ткани плаценты проводили количественную ПЦР с использованием набора miScript SYBR Green PCR Kit (Qiagen) и праймера, специфичного для исследуемых мкРНК: hsa-miR-16-5p MIMAT0000069 (5'-TAGCAGCACGTAAATATTGGCG), hsa-miR-27a-3p MIMAT0000084 (5'-TTCACAGTGGCTAAGTTCCGC, $T_m = 58,7^{\circ}\text{C}$), hsa-miR-30b-5p MIMAT0000420 (5'-TGTA AACATCCTACACTCAGCT, $T_m = 54,6^{\circ}\text{C}$), hsa-miR-100-5p MIMAT0000098 (5'-AACCCGTAGATCCGAACCTTGTG), hsa-miR-125b-5p MIMAT0000423 (5'-TCCCTGAGACCCTAACTTGTGA), hsa-miR-146a-5p MIMAT0000449 (5'-TGAGAACTGAATTCCATGGGTT), hsa-miR-182-5p MIMAT0000259 (5'-TTTGGCAATGGTAGAACTCACACT), hsa-miR-199a-5p MIMAT0000231 (5'-CCCAGTGTTTCAGACTACCTGTTC), hsa-miR-221-3p MIMAT0000278 (5'-AGCTACATTGTCTGCTGGGTTTC), hsa-miR-451a MIMAT0001631 (5'-AAACCGTTACCATTACTGAGTT), hsa-miR-574-3p MIMAT0003239 (5'-CACGCTCATGCACACACCCACA).

Условия проведения реакции ПЦР: 15 минут при $t=95^{\circ}\text{C}$; далее 40 циклов по 15 секунд при $t=94^{\circ}\text{C}$, 30 секунд при $t=50^{\circ}\text{C}$ и 30 секунд при $t=70^{\circ}\text{C}$ в амплификаторе StepOnePlusTM (Applied Biosystems). Сравнение уровня экспрессии мкРНК в контрольном и исследуемом образцах относительно референсных мкРНК (SNORD68 для образцов плаценты, cel-miR-39 для образцов плазмы) проводили с использованием метода $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$.

Определение уровня малонового диальдегида (МДА) в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови и в экстракте плаценты

Для определения уровня МДА был применен модифицированный метод Жентча. Для проведения анализа плазма крови размораживалась на льду при температуре $0-4^{\circ}\text{C}$ и, затем плазму крови смешивали с фосфатно-солевым буфером (PBS, pH 7.4) в соотношении 1:1. Было произведено заполнение проб плазмы крови в соответствующей последовательности: 150

мкл 40% трихлоруксусной кислоты + 150 мкл смеси плазма/PBS (1:1) + 75мкл 0,5% тиобарбитуровой кислоты. Контрольное измерение проводилось для каждой пробы с использованием 75мкл деионизированной воды вместо тиобарбитуровой кислоты. Для построения калибровки вместо плазмы крови использовался раствор 1,1,3,3-тетраэтоксипропана с концентрацией 2, 4, 6, 8, 10 мкМ. В нулевую пробу вносили 75 мкл деионизированной воды. Перемешивали пробирки встряхиванием и инкубировали на водяной бане при температуре 85°C в течение 45 минут. Затем пробирки помещались на лед, в каждую пробирку было добавлен бутанол в объеме 400 мкл, затем проводилось повторное встряхивание с последующим центрифугированием в течение 20 минут при 1000g. Полученный супернатант наносился на 96-луночный планшет – 150 мкл на лунку. Затем производилось определение оптической плотности на спектрофотометре Thermo Scientific™ Multiskan™ GO при длине волны 535нм. С помощью калибровочной кривой с учетом коэффициента молярной экстинкции аддукта тиобарбитуровой кислоты с МДА равным $1,53 \cdot 10^5$ (л/моль*см) рассчитывали концентрацию МДА, нормировали на содержание белка плазмы. Для определения содержания МДА в плаценте проводили гомогенизацию 1см фрагмента плаценты при помощи гомогенизатора Polythron в 150мМ NaCl при соотношении 1:10 плацента:раствор (масса/объем). К гомогенату добавляли 1/200 от его объема 2% раствора бутилгидрокситолуена в этаноле. Гомогенат центрифугировали в пробирке типа «эппендорф» 10 минут при 1000g на центрифуге Eppendorf 5410 при 4°C, осадок отбрасывали, а собранный супернатант далее обрабатывали аналогично плазме крови (см.выше).

Определение уровня 4-гидроксиноненаля в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови и в экстракте плаценты

Образцы плазмы крови или экстракта плаценты (см. выше) выравнивали по концентрации белка до 1мг/мл, внося необходимое количество очищенной воды (MilliQ). В пробирки типа «эппендорф» вносили по 0,4 мл плазмы, 75мкл 1% раствора ЭДТА (H₂O), а также 7,5мкл 2%

раствора бутилгидрокситолуена в этаноле. Добавляли 0,4 мл 0,035% раствора 2,4-динитрофенилгидразона (приготовленного непосредственно перед измерением в 1N соляной кислоте). Штатив с пробирками оборачивали фольгой, закрепляли на вортексе и далее в течение 50 минут полученную суспензию подвергали перемешиванию путем встряхивания при комнатной температуре, после чего перемещали на лёд и выдерживали 1,5 часа. Охлажденную смесь переносили в стеклянные пробирки на 10 мл и полученные конъюгаты подвергали экстракции в CH_2Cl_2 , внося в пробирки по 4 мл растворителя. После перемешивания и разделения в течение 15 минут собирали верхнюю фазу, а к нижней фазе приливали еще 4 мл хлористого метилена. Объединяли верхнюю фазу с полученной на предыдущем этапе и определяли оптическую плотность (A) при помощи двухлучевого спектрофотометра Cary Varian II при 360 и 380. Концентрацию конъюгатов динитрофенилгидразона с 4-гидроксиноненалем определяли с учетом коэффициента молярной экстинкции $2,6 \cdot 10^4$ л/моль*см производных и 4-гидроксиноненала, далее по поглощению стандартов известной концентрации (Supelco, USA). строили калибровочную кривую, рассчитывали концентрацию 4-гидроксиноненала с учетом разведения в исходных образцах, нормируя на содержание белка.

Измерение активности каталазы в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови и в плаценте

Определение активности каталазы в плазме крови проводили с помощью прямого измерения полярографическим методом в модификации Рута и Дженсъена на оксиграфе «Hanzatech» количества O_2 , который образуется в реакции распада H_2O_2 с участием каталазы. В измерительное отделение прибора вносили 1,8 мл забуференного физиологического раствора и 200 мкл 3% H_2O_2 . После стабилизации системы и регистрации постоянного уровня кислорода в систему вносили 1 мкл плазмы крови или 10 мкл экстракта плаценты и регистрировали изменение угла наклона кривой нарастания содержания кислорода по мере каталазной реакции. Полученное

значение скорости образования кислорода (нмоль/мл/мин) использовали для расчета активности фермента, принимая за единицу активности то количество, которое катализировало преобразование 1 мкмоль H_2O_2 в минуту в пересчете на 1 литр. Рассчитывали среднее значение активности каталазы для данного препарата (в Ед/мл) по результатам трех измерений.

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови и плаценте

Определение активности СОД в плазме крови проводили с помощью спектрофотометра Cary Varian II при 347 нм в щелочном буфере по степени ингибирования аутоокисления адреналина в присутствии фермента в сравнении с контрольной пробой (вместо образца плазмы или экстракта плаценты вносили аликвоту буфера). Активность СОД выражали в мМ адреналина/мин, нормировали на содержание белка в образце:

$$A = \Delta E \times K \times V / t \times V_0,$$

где: А – активность фермента, мМ адреналина/мин × ед. объема источника фермента; ΔE – разница поглощения стандартной и опытной проб; К – коэффициент пересчета в мМ адреналина; V_0 – объем источника фермента в пробе; V – объем образца; t – продолжительность ингибирования аутоокисления адреналина, мин. Использовали 1% раствор адреналина (5,5 мМ) и 0,2 М бикарбонатный буфер с рН = 10,6.

Определение уровня супероксиддисмутаза (СОД1 и 2) и каталазы в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови, тканях плаценты с использованием вестерн-блоттинга

Образцы плацентарной ткани гомогенизировались до порошкообразного состояния при низких температурах в жидком азоте. Затем порошковая плацента смешивалась с лизирующим буфером RIPA (протокол Abscam) для последующего выделения белков. Затем в смесь добавлялся двукратный денатурирующий восстанавливающий буфер для нанесения образцов с 4% додецилсульфата натрия, 10% β -меркаптоэтанола, 20% глицерина, 0,004% бромфенолового синего, 0,125 М Tris-HCl, рН=6,8.

Содержание белка в пробах производилось по методу Лоури. С помощью электрофореза осуществлялось разделение белков в полиакриламидном геле (10%) по Лэммли. Применялся буфер, который содержал 0,025М Tris-HCl, 0,192М глицина, 0.2% додецилсульфат натрия, pH 8,3, с использованием камеры Mini Protean II («Biorad», США). В дальнейшем белки были перенесены на поливинилиден-дифлуоридную мембрану, реакция проводилась в CAPS буфере, pH 11,0, при силе тока 0,35 А. Путем инкубации в 5% растворе обезжиренного молока («Biorad», США), изготовленного на Tris-солевом буфере, pH 7,6 производилось блокирование участков неспецифического связывания антител на мембранах после переноса белков с последующим окрашиванием мембран антителами, специфичными к целевому белку и вторичными антивидовыми антителами («Abcam и Invitrogen», США). Затем методом хемилюминесценции проводилась проявка мембран с применением набора Novex ECL («Invitrogen», США) в системе ChemiDoc («Biorad», США). Интенсивность хемилюминесценции, сигнал которой пропорционален количеству целевого белка, анализировалась с использованием программного обеспечения ImageLab («Biorad», США). Производилось нормирование значений сигнала интенсивности хемилюминесценции: для СОД1 – на интенсивность хемилюминесценции полос α -тубулина, для СОД2 и каталазы – протеина мембраны митохондрий VDAC1.

Определение активности глутатионпероксидазы в плазме крови беременной, плазме пуповинной крови и плаценте

Активность фермента определяли по скорости накопления продукта реакции - окисленного глутатиона в среде инкубации следующего состава: 0,3 М KH_2PO_4 , pH 7,4; 12 мМ азид натрия; 6 мМ ЭДТА. В качестве субстрата использовали глутатион восстановленный (2,5 мМ) и H_2O_2 (0,3мМ), в контрольную пробу вместо глутатиона вносили аликвоту фосфатного буфера. В стеклянных пробирках на 10 мл смешивали 1,7 мл инкубационной среды и 0,2 мл источника фермента (плазма крови или экстракт плаценты).

Через 2 минуты инкубации в термостате при 25°C в пробы вносили 1 мл трихлоруксусной кислоты, перемешивали и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 минут на центрифуге ЦЛР25. В супернатанте при помощи спектрофотометре Cary Varian II измеряли оптическую плотность образца при длине волны 260 нм против контрольной пробы.

Расчет активности фермента на мл образца проводили по формуле:

$$A = \frac{\Delta E \times \gamma}{\text{мл} \cdot \text{мин}^{-1}} \times 40 \text{ (мкМ ГВ / мл} \cdot \text{мин}^{-1}\text{)},$$

где: А - активность глутатионпероксидазы, которую выражаем в микромолях окисленного глутатиона на 1 мл образца в минуту, нормируя на содержание белка в пробах.

Определение содержания глутатиона тотального (tGSH), восстановленного (GSH) и окисленного (GSSG) в образцах плазмы крови беременной, плазме пуповинной крови и экстрактах плаценты

Для определения использовали следующие реагенты: Na-K Фосфатный буфер 200mM (pH=7,4); DTNB (дитионитробензойная кислота) 15mM (6 mg/ml C₂H₅OH) – аликвоты по 200μl, к ним добавить 400μl 10XPBS с EDTA 0,1mM (pH=7); NADPH 4,8mM (in 0,5% NaHCO₃); GR (глутатионредуктаза) 20U/ml; раствор GSH 20mM; раствор GSSG 100mM; ТХУ (трихлоруксусная кислота) 15%; n-этилмалеимид (NEM); 10% додецилмальтозид (DCM).

Для возможности последующего определения глутатионовой системы нужно на стадии забора крови отбирать аликвоты, в одну из которых вносят NEM до конечной концентрации 10mM для полного окисления SH групп и перехода всего глутатиона в состояние окисленного GSSG и для дальнейшего определения тотального глутатиона (tGSH). Вторая аликвота остается интактной для определения уровня восстановленности глутатиона (GSH). Аналогично для экстракта плаценты, еще на стадии фрагментации и гомогенизации плаценты к одному из образцов необходимо добавить NEM.

Определение проводят так: для депротеинизации к аликвоте плазмы или экстракта плаценты добавляют равное количество 15% ТХУ и после тщательного перемешивания центрифугируют при 14000g 2 мин при T комн.

Супернатант отбирают, добавляют 3 объема DCM, перемешивают 5 мин при T комн. Центрифугируют 1,5 мин при T комн. Аккуратно отбирают супернатант и проводят спектрофотометрические измерения при $\lambda=412\text{nm}$ и $T=25\text{ }^\circ\text{C}$. В кювету добавляем: PBS 880 μl , DTNB 20 μl , супернатант 40 μl , NADPH 20 μl , GR 20 μl . В кювету сравнения не вносим образец, вместо него только 15% ТХУ. Измеряем оптическую плотность в опытной кювете против контрольной кюветы и по окончании измерения для калибровки добавляем туда стандарт - 20 μl 10мМ GSSG.

Для определения tGSH в плазме или экстракте плаценты после центрифугирования на стадии депротенинизации полученный супернатант необходимо развести в 100 раз, далее измерения проводят аналогично. Для построения калибровочного графика зависимости A412 от содержания в пробе GSH, добавляют стандарт в серии: 100, 75, 50, 25, 15, 5 μM .

Концентрацию tGSH рассчитываем по калибровке. Концентрацию GSSG - по формуле:

$$[\text{GSSG}]_o = \frac{S \times [\text{GSSG}]_c}{S_t} \times 24.5 \times 2,$$

где $[\text{GSSG}]_o$ – концентрация GSSG в образце; S рассчитывается как $\Delta A_{412}\text{Sample} - \Delta A_{412}\text{Blank}$, S_t рассчитывается как $\Delta A_{412}\text{Sample} + \text{GSSG} - \Delta A_{412}\text{Sample}$; $[\text{GSSG}]_c$ – конечная концентрация стандарта в кювете (в данном случае она равна 0.2 μM); 24.5 – фактор разведения образца в кювете; 2 - фактор разведения после депротенинизации образца. Содержание восстановленного глутатиона рассчитываем как $\text{GSH} = \text{tGSH} - 2 \times \text{GSSG}$.

2.2.4. Изучение здоровья новорожденных

Новорожденные, включенные в исследование, были осмотрены неонатологом или детским реаниматологом в тех случаях, когда требовалось оказание неотложной реанимационной помощи. Непосредственно после рождения определялось состояние новорожденных по шкале Апгар, а также

их массо-ростовые показатели. В последующем изучалось течение и осложнения раннего неонатального периода.

2.2.5. Статистические методы исследования

Для статистической обработки результатов использовали скрипты, написанные на языке R [198], и программу RStudio [199], а также Microsoft Office Excel 2016 и пакеты прикладных программ «Statistica» v.13.0, StatSoft Inc. (США). Соответствие анализируемых параметров закону нормального распределения оценивали по значениям теста Шапиро-Уилка. Для описания количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD) в формате M (SD). Статистический анализ количественных данных с нормальным распределением проводили с помощью теста Стьюдента. Для описания качественных показателей использовали абсолютные значения и процентное соотношение. Для сравнения групп использовали тест χ^2 . Также определялись отношение шансов (OR) и его доверительный интервал (CI). Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05.

Поскольку анализировали как количественные, так и качественные признаки, то корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена. 95% доверительный интервал для коэффициента корреляции определяли с помощью преобразования Фишера. Величину порогового уровня значимости p принимали равной 0,05. Если значение p было меньше 0,001, то p указывали в формате $p < 0,001$.

Для оценки потенциальной прогностической значимости исследуемых параметров разработали модель логистической регрессии, качество которой определяли путем построения ROC-кривой, определения площади под ROC-кривой (AUC), а также расчета чувствительности и специфичности разработанной модели. Чувствительность и специфичность оценивали как число истинно-положительных результатов, деленное на общее количество новорожденных, у которых развились патологии, и число истинно-

отрицательных результатов, деленное на общее количество новорожденных, у которых не развились патологии, соответственно. Прогностическая ценность положительного и отрицательного результатов оценивали как $\frac{\text{число истинно-положительных результатов}}{\text{число положительных результатов}}$ и $\frac{\text{число истинно-отрицательных результатов}}{\text{число отрицательных результатов}}$.

Глава 3

Общая клиническая характеристика обследованных беременных

Учитывая влияние ЗРП на состояние плода и здоровье новорожденного на протяжении всей его жизни, представляется интересным изучение особенностей анамнеза матерей, особенностей течения беременности и ее исходов для выявления связи между анамнестическими данными матерей и исходами для плода с целью уточнения факторов риска развития данной патологии. В исследование было включено 82 женщины. Из них основную группу составила 41 пациентка с диагнозом ЗРП. В группу сравнения вошла 41 женщина с неосложненной ЗРП беременностью. Основная группа была поделена на 2 подгруппы в зависимости от срока манифестации ЗРП и родоразрешения: 20 пациенток основной группы были родоразрешены до 34 недель беременности (подгруппа Ia), 21 пациентка – после 34 недель (подгруппа Ib). Все пациентки были родоразрешены в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России за период с 2015 г. по 2017 г. Были проанализированы данные соматического, акушерского анамнеза, данные о течении настоящей беременности, родов, послеродового периода, а также состоянии здоровья новорожденных в изучаемых группах.

3.1. Анализ соматического и акушерско-гинекологического анамнеза пациенток, вошедших в исследование

Все беременных, включенные в исследование, были сопоставимы по возрасту и соматическому здоровью. Группа сравнения была подобрана по методу подбора пар. Возраст беременных, включенных в исследование, колебался от 18 до 41 года и составил в среднем $31,6 \pm 5,0$ лет – в основной группе и $31,4 \pm 5,1$ лет – в группе сравнения. Распределение женщин по возрастным градациям представлено в таблице 5.

Таблица 5. Распределение пациенток основной группы (I) и группы сравнения (II) по возрасту n (%).

	18-23 лет n(%)	24-29 лет n(%)	30-35 лет n(%)	36 и более лет n(%)
I (n=41)%	3(7,3)	12(29,3)	18(43,9)	8(19,5)
II (n=41)%	2(4,7)	13(31,7)	17(41,5)	9(22)

Как видно из представленных данных, пациентки основной группы и группы сравнения были сопоставимы по возрасту. При анализе массо-ростовых показателей у обследованных беременных средняя масса тела составила $70,8 \pm 11,1$ кг – в основной группе, $72,7 \pm 15,9$ кг – в группе сравнения. Средний рост: $165,9 \pm 6,6$ см и $165,6 \pm 5,7$ см, соответственно по группам.

Особый интерес представлял сравнительный анализ исходной клинической характеристики исследуемых групп. При изучении семейного анамнеза пациенток отмечалось преобладание заболеваний сердечно-сосудистой системы и онкологических заболеваний в основной группе при сопоставлении с группой сравнения. Частота онкологических заболеваний у ближайших родственников пациенток в основной группе составила 22,0% против 7,3% – в группе сравнения (OR=0,3; CI=0,1-1,1). Сердечно-сосудистые заболевания у ближайших родственников встречались в 41,5% случаев – в основной группе и в 31,7% случаев – в группе сравнения (OR=0,7; CI=0,3-1,6). В структуре детских инфекционных заболеваний в изучаемых группах значимых различий не наблюдалось.

Принимая во внимание тот факт, что одной из возможных причин возникновения ЗРП являются заболевания матери, представляет интерес изучение соматического статуса пациенток, вошедших в исследование. При анализе соматической заболеваемости у пациенток I группы, среди заболеваний сердечно-сосудистой системы преобладала хроническая артериальная гипертензия (ХАГ), которая встречалась в 22,0% в основной

группе и в 7,3% случаев в группе сравнения (OR=0,3; CI=0,1-1,1), при этом достоверно чаще ХАГ встречалась в подгруппе ранней ЗРП: 40,0% против 10,0% в группе сравнения соответствующего гестационного срока (OR=0,2; CI=0,1-0,7; p=0,05). Варикозное расширение вен нижних конечностей чаще наблюдалось в основной группе и было выявлено в 17,1% случаев против 2,4% в группе сравнения (OR=0,1; CI=0,01-1,0), при этом достоверно чаще в подгруппе пациенток с ранней ЗРП (n=5; 25,0%; p=0,05) при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока беременности, где случаев варикозного расширения вен нижних конечностей не отмечалось. Полиморфизм генов тромбофилии преобладал в основной группе и встречался в 17,1% случаев против 7,3% в группе сравнения (OR=0,4; CI=0,1-1,6). При анализе заболеваний желудочно-кишечного тракта в основной группе дискинезия желчевыводящих путей встречалась несколько чаще: в 4,9% случаев против 2,4% в группе сравнения (OR=0,5; CI=0,04-5,6). Среди заболеваний мочевыделительной системы в основной группе имело место преобладание хронического пиелонефрита в основной группе: 24,4% случаев против 14,6% в группе сравнения (OR=0,5; CI=0,2-1,6). Хронический цистит в I группе наблюдался – в 17,1% случаев против 4,9% в группе сравнения (OR=0,3; CI=0,01-1,3). В I группе отмечалась большая доля случаев миопии – 43,9% против 24,4% в II группе (OR=0,4; CI=0,2-1,1). При этом достоверно чаще миопия отмечалась в подгруппе Ia по сравнению с пациентками соответствующего срока гестации группы сравнения: 55,0% случаев против 20,0% (OR=0,2; CI=0,1-0,8; p=0,05). В основной группе также чаще встречался астигматизм – в 4,9% против 2,4% в группе сравнения (OR=0,5; CI=0,04-5,6). В основной группе было выявлено преобладание хронической обструктивной астмы – 4,9% случаев против 2,4% во II группе (OR=0,5; CI=0,04-5,6). Гипотиреоз преобладал в основной группе: 9,8% случаев против 2,4% в группе сравнения (OR=0,2; CI=0,03-2,2). Ожирение также преобладало в I группе и встречалось в 9,8% случаев против 4,9% во II группе (OR=0,7; CI=0,1-4,1). Таким образом, в группе пациенток с ЗРП чаще

встречались: заболевания сердечно-сосудистой системы: ХАГ, варикозное расширение вен нижних конечностей, кроме того в основной группе преобладали случаи полиморфизма генов тромбофилии. Среди заболеваний мочевыделительной системы преобладали: хронический пиелонефрит и хронический цистит. Также чаще отмечались дискинезия желчевыводящих путей. Большая частота миопии и астигматизма, по-видимому, ассоциирована с недифференцированной дисплазией соединительной ткани, в пользу чего также свидетельствует большая частота варикозного расширения вен нижних конечностей. Среди заболеваний эндокринной системы преобладали случаи гипотиреоза и ожирения. Кроме того, пациентки с ЗРП чаще имели хроническую обструктивную астму. Отмечалась большая частота заболеваний сердечно-сосудистой системы и онкологических заболеваний в семейном анамнезе в основной группе. Однако статистической значимости при сравнении I и II группы выявлено не было. При этом в подгруппе ранней ЗРП при сопоставлении с соответствующей гестационному сроку группой сравнения достоверно чаще встречались миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей и хроническая артериальная гипертензия. Вышеперечисленные данные представлены в таблице 6.

Таблица 6. Структура соматических заболеваний пациенток исследуемых групп (n,%).

Нозологические формы	I группа n (%)	II группа n (%)
Миопия	18(43,9)	10 (24,4)
Астигматизм	2 (4,9)	1 (2,4)
Гипотиреоз	4(9,8)	1(2,4)
Хроническая	2 (4,9)	1 (2,4)

обструктивная астма		
Хроническая артериальная гипертензия	9 (22,0)	3 (7,3)
Дискинезия пузырного протока или желчного пузыря	2 (4,9)	1(2,4)
Хронический пиелонефрит	10(24,4)	6 (14,6)
Хронический цистит	7 (17,1)	2 (4,9)
Варикозное расширение вен	7 (17,1)	1 (2,4)
Ожирение	4 (9,8)	2(4,9)

Для изучения акушерско-гинекологического анамнеза пациенток основной группы был проанализирован возраст наступления менархе, характер менструального цикла, гинекологические заболевания, паритет женщин исследуемых групп.

Таблица 7. Возраст наступления менархе у пациенток в группах (n,%).

Возраст наступления менархе	I группа n (%)	II группа n (%)
До 12 лет	5 (12,2)	2 (4,9)
12 – 14 лет	29 (70,7)	34 (82,9)
15 лет и более	7 (17,1)	5 (12,2)

Таблица 8. Характер менструального цикла у пациенток в группах (n,%).

Характер менструального цикла	I группа n (%)	II группа n (%)
Продолжительность менструального цикла		
25 - 35 дней	38 (92,7)	37 (90,2)
<25 дней	-	-
>35 дней	3 (7,3)	4 (9,8)

Исходя из вышеизложенных данных, пациентки в группах были сопоставимы между собой. При анализе инфекционно-воспалительной заболеваемости в основной группе в анамнезе преобладала микоплазма - в 2,4%. Случаев выявления микоплазмы у пациенток в группе сравнения не отмечалось. Частота выявления таких микроорганизмов, как уреоплазма, гарднерелла, ВПГ была сопоставима в группах. Статистической значимости выявлено не было. Данные представлены на рисунке 2.

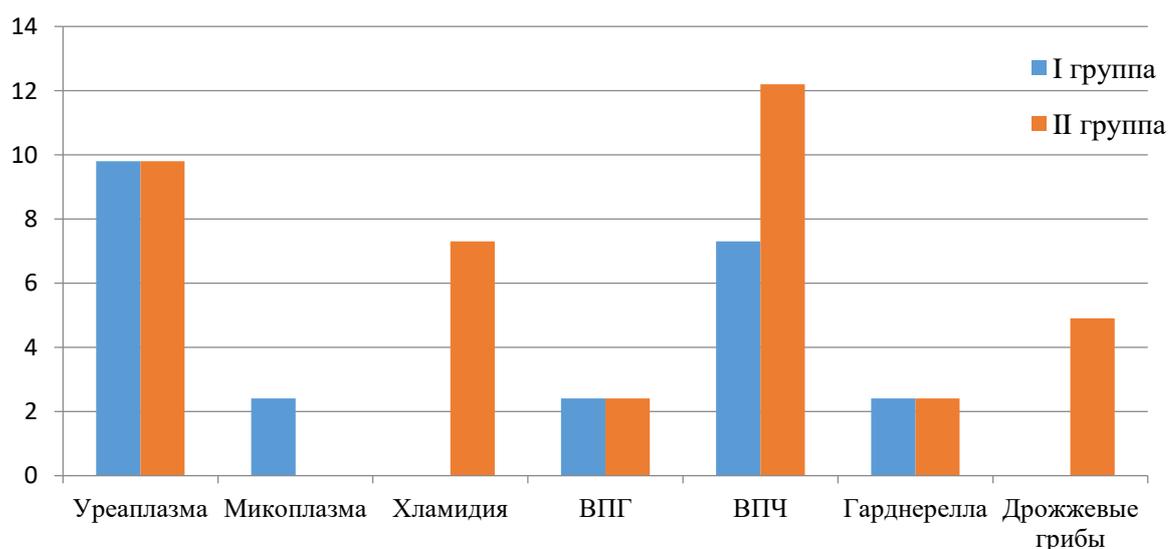


Рис. 2. Спектр инфекций мочеполовой системы у пациенток в группах в анамнезе (%).

В основной группе статистически значимо реже встречалась эрозия шейки матки 17,1% против 43,9% случаев в группе сравнения (OR=3,8; 1,4-10,6; p=0,02). В I группе отмечалось преобладание случаев лейомиомы матки – 22,0% (OR=0,5; CI=0,2-1,6), аденомиоза, полипа эндометрия, бесплодия в анамнезе – 7,3% (OR=0,7; CI=0,1-4,1), врожденных аномалий тела матки в виде двурогой матки – 9,8%, внутриматочной перегородки – 4,9% (OR=0,5; CI=0,04-5,6), дисфункция яичников, СПКЯ – 4,9% (OR=0,5; CI=0,04-5,6), гидросальпинкс и гиперплазия эндометрия – в 2,4% случаев. Однако статистической значимости выявлено не было. Значимых различий в отношении гинекологических заболеваний получено не было. Частота гинекологической заболеваемости у женщин исследуемых групп представлена в таблице 9.

Таблица 9. Структура гинекологической заболеваемости пациенток в группах (n,%).

Нозологические формы	I группа n (%)	II группа n (%)
Эрозия шейки матки	7(17,1)*	18(43,9)
Аденомиоз	3(7,3)	-
Лейомиома матки	9(22,0)	5(12,2)
Врожденные аномалии тела матки (внутриматочная перегородка, двурогая матка)	6(14,7)	1(2,4)
Внутриматочные синехии	1(2,4)	1(2,4)
Полип эндометрия	3(7,3)	-
Гиперплазия эндометрия	1(2,4)	-
Дисфункция яичников	2(4,9)	-
СПКЯ	2(4,9)	-

Невоспалительные поражения яичника (апоплексия яичника)	1(2,4)	1(2,4)
Гидросальпинкс	1(2,4)	-
Эндометриоз яичников	1(2,4)	2 (4,9)
Доброкачественное новообразование яичника	-	1 (2,4)
Лейкоплакия шейки матки	-	1(2,4)
Дисплазия шейки матки	-	2 (4,9)
Хронический сальпингоофорит	2(4,9)	3(7,3)
Хронический эндометрит	2(4,9)	2(4,9)
Эндометриоз	3(7,3)	5(12,2)
Бесплодие в анамнезе	3(7,3)	2 (4,9)

**Достоверные различия с группой сравнения ($P \leq 0,05$)*

Особый интерес представляет акушерский анамнез. При оценке акушерского анамнеза было выявлено, что в основной группе процент первобеременных женщин был ниже, чем в группе сравнения – 29,3% против 39% (OR=0,6; CI=0,3-1,6). Доля самопроизвольных родов в анамнезе была сопоставима в основной группе и группе сравнения и составила 27% и 29,3%, соответственно (OR=0,9; CI=0,3-2,3). Доля кесарева сечения в анамнезе составила – 19,5% в основной группе против 24,4% в группе сравнения (OR=0,8; CI=0,3-2,2). Обращает на себя внимание большая частота медицинских аборт, в том числе повторных – 24,4% против 4,9% в группе сравнения (OR=6,3; CI=1,3-30,8; $p=0,03$); индуцированных выкидышей – 2,4%, случаев неразвивающейся беременности – 26,8% в основной против 14,6% в группе сравнения (OR=2,1; CI=0,7-6,5); преждевременных родов в анамнезе – 14,6% ($p=0,034$). При этом случаев преждевременных родов и индуцированных выкидышей в анамнезе в группе сравнения зарегистрировано не было. Смерть новорожденного в неонатальном периоде

встречалась в 7,3% случаев в основной группе. При этом подобных случаев в группе сравнения не отмечалось. Данные представлены на рисунке 3.

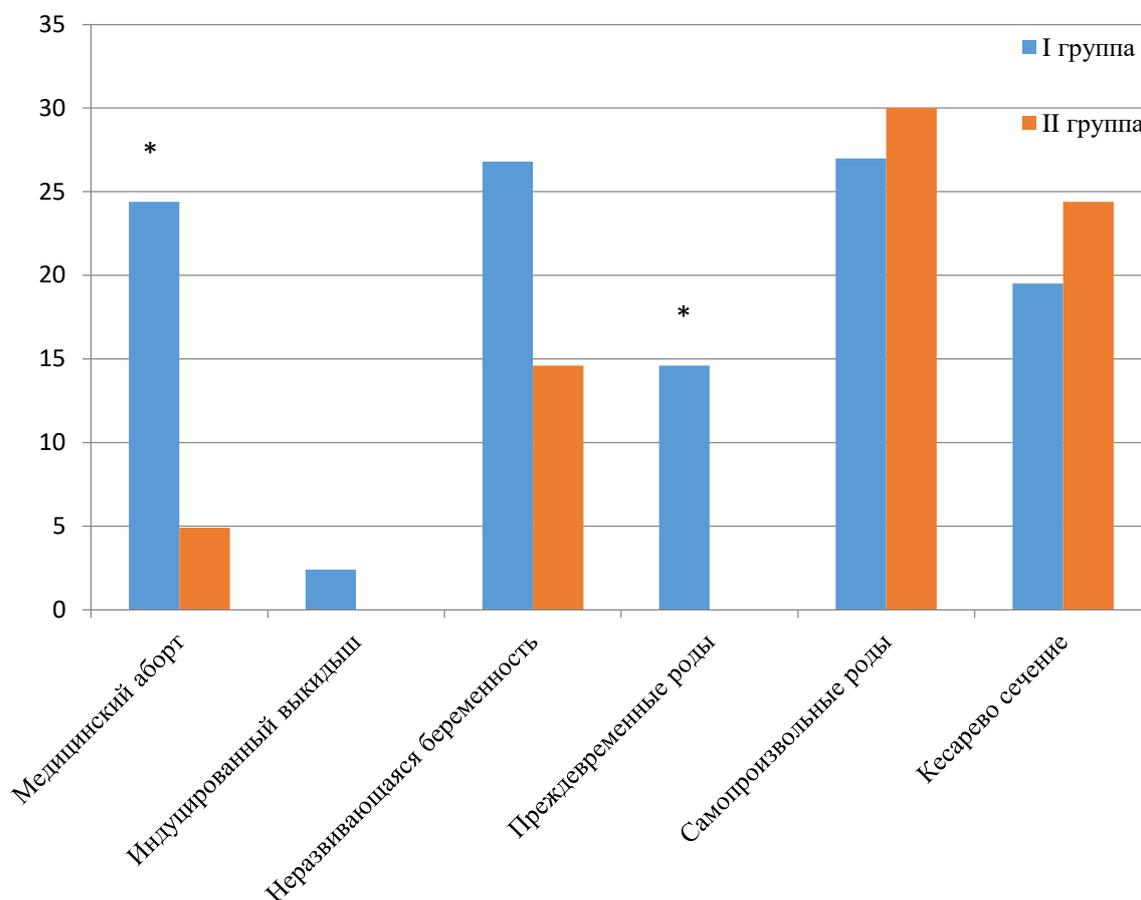


Рис.3. Особенности исходов предыдущих беременностей у пациенток в группах (%). *Достоверные различия с группой сравнения ($P \leq 0,05$)

Таким образом, в группе ЗРП привилегировали повторнобеременные повторнородящие женщины с искусственным прерыванием беременности, неразвивающейся беременностью, преждевременными родами, индуцированным выкидышем или летальным исходом у новорожденного в неонатальном периоде в анамнезе.

Анализ соматического и акушерско-гинекологического анамнеза пациенток с ранней и поздней задержкой роста плода

В связи с различными гипотезами в отношении патогенеза ранней и поздней ЗРП (манифестировавшей до и после 34 недель) представляется интересным сравнение подгрупп основной группы для выявления

особенностей анамнеза и соматического статуса матерей с ранней и поздней ЗРП. Средний возраст пациенток с ранней ЗРП (Ia подгруппа) составил $31,7 \pm 4,8$ лет, с поздней (Ib подгруппа) – $31,5 \pm 5,3$ лет. Распределение женщин внутри подгрупп по позрасту представлено в таблице 10.

Таблица 10. Распределение пациенток Ia и Ib подгрупп основной группы по возрасту n (%).

	18-23 лет n(%)	24-29 лет n(%)	30-35 лет n(%)	36 и более лет n(%)
Ia (n=20)%	1(5)	7(35)	7(35)	5(25)
Ib (n=21)%	2(9,5)	5(23,8)	11(52,4)	3(14,3)

При анализе массо–ростовых показателей средняя масса тела в Ia подгруппе составила $72,4 \pm 9,7$ кг против $69,3 \pm 12,4$ кг – в Ib подгруппе. Средний рост: $165,2 \pm 5,9$ см – в Ia подгруппе, $166,5 \pm 7,3$ см – в Ib подгруппе.

В отношении семейного анамнеза в Ib подгруппе имело место преобладание онкологических заболеваний у ближайших родственников: 23,8% против 20,0% в Ia подгруппе (OR=1,3; CI=0,3-5,5). Сердечно-сосудистые заболевания в семейном анамнезе преобладали в Ia подгруппе: 45,0% против 38,1% в Ib подгруппе (OR=0,8; CI=0,2-2,6). Среди инфекций, перенесенных в детстве, в подгруппе Ia значимо чаще встречалась ветряная оспа по сравнению с подгруппой Ib: 85,0% против 47,6% (OR=0,2; CI=0,04-0,7; p=0,03). Среди особенностей соматического статуса в Ia подгруппе по сравнению с Ib подгруппой отмечалось превалирование ХАГ: 40,0% случаев против 4,8% случаев (OR=0,08; CI=0,01-0,7; p=0,02), варикозного расширения вен нижних конечностей: 25,0% против 9,5% случаев (OR=0,3; CI=0,1-1,9), полиморфизма генов тромбофилии: 30,0% против 4,8% (OR=0,3; CI=1,1-1,9; p=0,05), хронического пиелонефрита: в 30,0% случаев против 19,0% (OR=0,5; CI=0,1-2,3), миопии: 55,5% против 33,3% (OR=0,4; CI=0,1-1,4), ожирения: 10,0% против 4,8% в Ib подгруппе (OR=0,5; CI=0,04-5,4). В Ib

подгруппе преобладали: хронический цистит: 19,0% случаев против 15,0% в Ia подгруппе (OR=1,3; CI=0,3-6,9), астигматизм, хроническая обструктивная астма – 9,5%. Случаев астигматизма и бронхиальной астмы в Ia подгруппе зарегистрировано не было. Исходя из данных нашего исследования в группе ранней ЗРП отмечалось преобладание сердечно-сосудистых заболеваний у ближайших родственников пациенток, ветряная оспа в анамнезе, наличие ХАГ, варикозного расширения вен, полиморфизма генов тромбофилии, хронического пиелонефрита, миопии, ожирения. В группе поздней ЗРП наблюдалось превалирование: хронического цистита, астигматизма и хронической обструктивной астмы.

Таблица 11. Структура соматических заболеваний пациенток исследуемых подгрупп (n,%).

Нозологические формы	Ia подгруппа n (%)	Ib подгруппа n (%)
Миопия	11(55,0)*	7(33,3)
Астигматизм	-	2(9,5)
Гипотиреоз	2(10,0)	2(9,5)
Хроническая обструктивная астма	-	2(9,5)
Хроническая артериальная гипертензия	8(40,0)*,**	1(4,8)
Дискинезия пузырного протока и желчного пузыря	1(5,0)	1(4,8)
Хронический	6(30,0)	4(19,0)

пиелонефрит		
Хронический цистит	3(15,0)	4(19,0)
Варикозное расширение вен	5(25,0)*	2(9,5)
Ожирение	2(10,0)	1(4,8)

*Достоверные различия с соответствующей гестационному сроку группой сравнения ($P \leq 0,05$).

**Достоверные различия между подгруппами ($P \leq 0,05$).

Таблица 12. Возраст наступления менархе у пациенток в подгруппах (n,%).

Возраст наступления менархе	Ia подгруппа n(%)	Ib подгруппа n(%)
До 12 лет	3(15,0)	2 (9,5)
12 – 14 лет	14(70,0)	15(71,4)
15 лет и более	3(15,0)	4(19,0)

Таблица 13. Характер менструального цикла у пациенток в подгруппах (n,%).

Характер менструального цикла	Ia подгруппа n (%)	Ib подгруппа n (%)
Продолжительность менструального цикла:		
25 - 35 дней	18 (90,0)	20 (95,2)
<25 дней	-	-
>35 дней	2 (10,0)	1(4,8)

Как видно из представленных данных в отношении возраста наступления менархе и продолжительности менструального цикла пациентки с ранней и поздней ЗРП были сопоставимы между собой.

При анализе инфекционно-воспалительной заболеваемости в анамнезе в подгруппах в Ia подгруппе отмечалось преобладание случаев выявления уреоплазмы: 15,0% против 4,8% (OR=0,28; CI=0,03-3,0), ВПЧ: 10,0% против 4,8% (OR=0,5; CI=0,04-5,4). Только в Ia подгруппе встречалась микоплазма, в 5% случаев, соответственно. Данные представлены на рисунке 4.

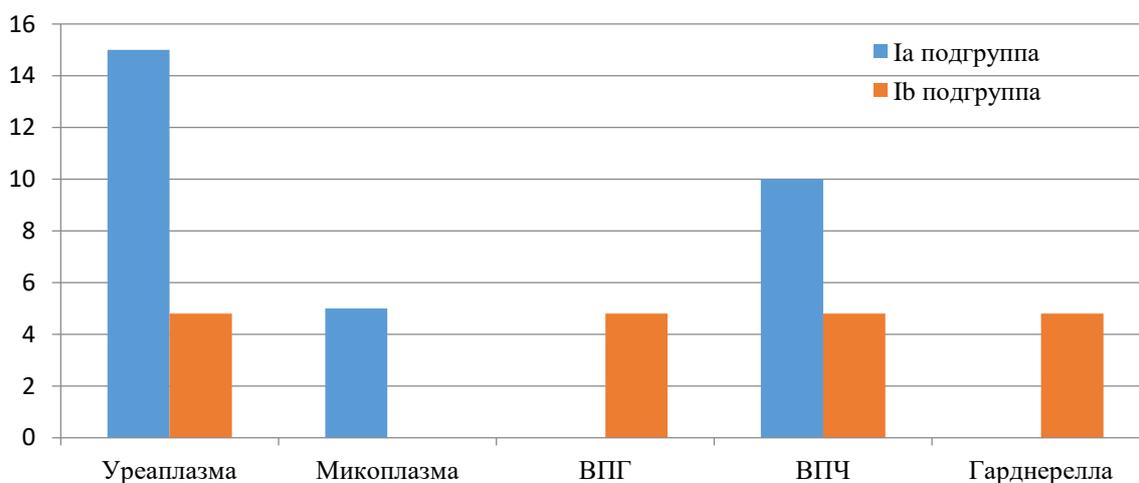


Рис. 4. Спектр микроорганизмов, выделенных при обследовании органов мочеполовой системы у пациенток в подгруппах в анамнезе (%).

В Ib подгруппе по сравнению с Ia подгруппой отмечалось преобладание: эрозии шейки матки – 19,0% против 15% (OR=1,3; CI=0,3-6,9), лейомиомы матки: 23,8% против 20,0% (OR=1,3; CI=0,3-5,5), аденомиоза, полипа эндометрия: 9,5% против 5,0% (OR=2,0; CI=0,2-24,0), двурогой матки 14,3% против 5,0% случаев (OR=3,2; CI=0,3-33,3). А также в Ib подгруппе чаще проводилось РДВ: в 20,0% против 5,0% случаев (OR=4,8; CI=0,5-47,0). В Ia подгруппе по сравнению с Ib подгруппой чаще встречалось бесплодие в анамнезе: 10,0% против 4,8% случаев (OR=0,5; CI=0,04-5,4). Дисфункция яичников, гиперплазия эндометрия и гидросальпинкс были зарегистрированы только в Ia подгруппе, в 10,0% и 5,0% случаев, соответственно. Такая врожденная аномалия тела матки, как внутриматочная перегородка, а также СПКЯ встречались в равной мере в обеих подгруппах – в 5,0% случаев

(OR=1,0; CI=0,1-16,2). Частота гинекологической заболеваемости у женщин исследуемых подгрупп представлена в таблице 14.

Таблица 14. Структура гинекологической заболеваемости пациенток в подгруппах (n,%).

Нозологические формы	Ia подгруппа n (%)	Ib подгруппа n (%)
Эрозия шейки матки	3 (15,0)*	4 (19,0)
Аденомиоз	1 (5,0)	2 (9,5)
Лейомиома матки	4(20,0)	5(23,8)
Врожденные аномалии тела матки (внутриматочная перегородка, двурогая матка)	2(10,0)	4(19,1)
Внутриматочные синехии	-	1(4,8)
Полип эндометрия	1(5,0)	2(9,5)
Гиперплазия эндометрия	1(5,0)	-
Дисфункция яичников	2(10,0)	-
Невоспалительные поражения яичника (апоплексия яичника)	1(5,0)	-
Гидросальпинкс	1(5,0)	-
Эндометриоз яичников	-	1 (4,8)
Хронический сальпингоофорит	1(5,0)	1(4,8)
Хронический эндометрит	2 (10,0)	-
Эндометриоз	1(5,0)	2(9,5)
Бесплодие в анамнезе	2 (10,0)	1 (4,8)

*Достоверные различия с соответствующей гестационному сроку группой сравнения ($P \leq 0,05$).

**Достоверные различия между подгруппами ($P \leq 0,05$).

При оценке акушерского анамнеза внутри подгрупп в Ib подгруппе было значимо больше первобеременных: 47,6% против 10,0% в Ia подгруппе (OR=0,1; CI=0,1-0,7; p=0,02). В Ia подгруппе отмечалось преобладание в анамнезе самопроизвольных родов: 30,0% против 23,8% (OR=1,4; CI=0,3-5,5), случаев кесарева сечения: 30,0% против 9,5% (OR=4,1; CI=0,7-23,3). В Ia подгруппе также чаще регистрировались: неразвивающаяся беременность: 30,0% против 23,8% в Ib подгруппе (OR=1,4; CI=0,3-5,5), преждевременные роды в анамнезе: 20,0% против 9,5% (OR=0,4; CI=0,07-2,6); смерть новорожденного в неонатальном периоде в анамнезе: 10,0% случаев против 4,8% (OR=0,5; CI=0,04-5,4). Индуцированный выкидыш встречался только в Ia подгруппе в 5% случаев.

Данные проиллюстрированы на рисунке 5.

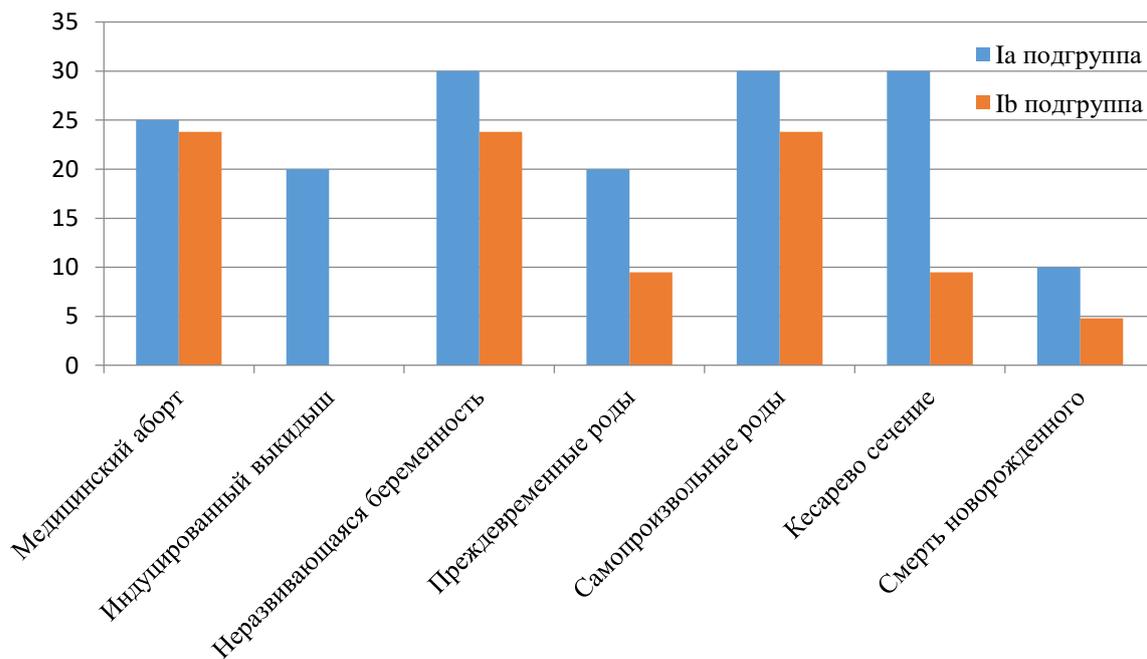


Рис. 5. Особенности предыдущих беременностей у пациенток в подгруппах (%).

Исходя из данных акушерского анамнеза при ранней ЗРП чаще встречались повторобеременные повторнородящие женщины с неразвивающейся беременностью, преждевременными родами, индуцированным выкидышем или летальным исходом у новорожденного в неонатальном периоде в анамнезе. Поздняя ЗРП чаще развивалась у первобеременных пациенток.

Глава 4

Результаты собственных исследований

4.1. Течение и исход настоящей беременности у обследованных женщин

Интерес представляло изучение течения настоящей беременности у пациенток исследуемых групп. Течение беременности в I триместре у пациенток основной группы чаще осложнялось ОРЗ: в 19,5% случаев (OR=0,2; CI=0,04-1,1), гипертермией – в 4,9% случаев, обострением хронического цистита – в 2,4% случаев, артериальной гипертензией – в 7,3% случаев (OR=0,3; CI=0,03-3,2). Из осложнений беременности чаще встречался ГСД – в 2,4% случаев.

Среди осложнений беременности в I триместре угроза прерывания беременности в основной группе регистрировалась значительно реже, чем в группе сравнения: 24,4% против 48,8% (OR=3,0; CI=1,2-7,6; p=0,039). В I триместре пациентки основной группы получали НМГ в 12,2% случаев, в то время как в группе сравнения НМГ в I триместре не применялись.

Во II триместре у пациенток основной группы чаще отмечались: артериальная гипертензия: в 12,1% случаев (OR=0,7; CI=0,2-3,4), обострение хронического цистита – в 2,4% случаев. В основной группе чаще применялись НМГ – в 24,4% против 7,3% в группе сравнения (OR=0,3; CI=0,1-0,9).

В III триместре беременности в основной группе чаще встречались: артериальная гипертензия – 39,0% против 2,4% (OR=0,1; CI=0,01-0,6; p=0,01), ОРЗ – в 5,1% случаев (OR=0,5; CI=0,04-5,5), обострение хронического пиелонефрита – 2,6% случаев, кольпит – в 10,3% (OR=0,7; CI=0,2-3,4). НМГ достоверно чаще применялись в I группе в 53,8% по сравнению с 12,5% случаев в группе сравнения (OR=0,1; CI=0,04-0,4; p<0,001). Особенности течения беременности в исследуемых группах представлены в таблице 15.

Таблица 15. Особенности течения настоящей беременности у пациенток в группах (n,%).

Особенности течения настоящей беременности	I группа n (%)	II группа n (%)
Рвота беременных I триместр	12(29,3)	17(41,5)
Анемия беременных I триместр II триместр III триместр	1(2,4) 4(9,8) 10(25,6)	1(2,4) 4(9,8) 12(30,0)
Гестационный сахарный диабет I триместр II триместр III триместр	1(2,4) 1(2,4) 3(7,7)	- 2(4,9) 4(10,0)
Артериальная гипертензия I триместр II триместр III триместр	3(7,3) 5(12,1) 16(39,0)*	1 (2,4) 2(4,9) 1(2,4)
Угроза прерывания беременности I триместр II триместр III триместр	10(24,4)* 17 (41,5) 12(30,8)	20(48,8) 20(48,8) 17(42,5)
Острые респираторные заболевания I триместр III триместр	8(19,5) 2(5,1)	2(4,9) 1(2,5)

Кольпит		
III триместр	4(10,3)	3(7,5)
Обострение хронического цистита		
I триместр	1(2,4)	-
II триместр	1(2,4)	-
Обострение хронического пиелонефрита		
III триместр	1(2,6)	-

**Достоверные различия с группой сравнения ($P \leq 0,05$)*

Изучение особенностей течения беременности включало также анализ результатов ультразвукового исследования плода в исследуемых группах.

Средний срок беременности, при котором проводилось УЗИ плода, составил: в I группе – $33,9 \pm 3,5$ недель, во II группе – $34,1 \pm 3,1$ недель. Средняя предполагаемая масса плода в I группе составила $1591,5 \pm 593,8$ г., во II группе – $2393,4 \pm 704,8$ г. Достоверно чаще в основной группе встречалось маловодие – у 63,4% пациенток из основной группы, в то время, как в группе сравнения маловодие наблюдалось в 26,8% (OR=5,1; CI=2,0-13,1; $p=0,001$). В основной группе чаще плацента располагалась на передней стенке – в 52,6% случаев против 39,0% случаев в группе сравнения (OR=1,8; CI=0,7-4,3). Тазовое предлежание плода по данным УЗИ регистрировалось чаще в основной группе по сравнению с группой сравнения: 20,5% против 12,2% (OR=0,5; CI=1,2-1,8). Достоверно чаще при этом тазовое предлежание плода встречалось в Ia подгруппе при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации: в 44,4% (OR=0,1; CI=0,03-0,8; $p=0,041$). Следует отметить, что диагноз задержки роста плода антенатально был поставлен в 80,5% случаев ($n=33$).

Особый интерес представлял анализ доплерометрии в системе «мать-плацента-плод» в исследуемых группах, так как нарушение показателей функционального состояния плода являются фоном для формирования ЗРП.

В основной группе наблюдались нарушения маточно-плацентарного кровотока (МПК) – 17,1%, фето-плацентарного кровотока (ФПК) – 14,6%, а также их сочетание – 51,2% ($p \leq 0,05$). При ранней ЗРП в 80,0% случаев отмечались сочетанные изменения МПК и ФПК, в 20,0% – нарушения ФПК. В то время как при поздней форме сочетанные нарушения выявлены в 23,9%, изолированные – в МПК в 33,3%, в ФПК – 9,5%. В 33,3% наблюдений изменений при доплерометрии выявлено не было ($p \leq 0,05$).

Данные проиллюстрированы на рисунке 6.

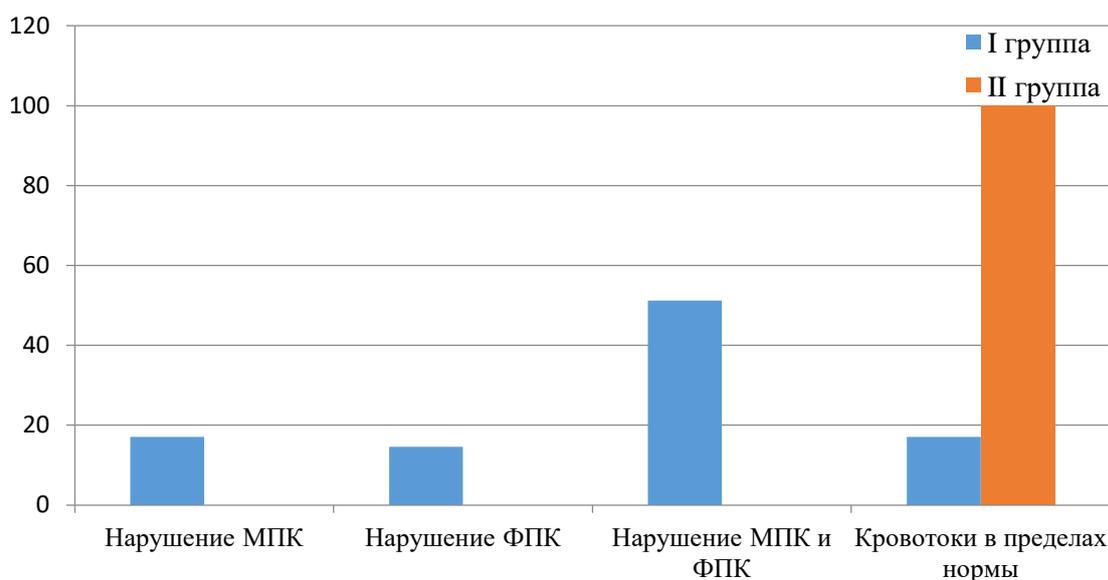


Рис. 6. Данные доплерометрии в системе «мать-плацента-плод» в исследуемых группах (%).

Средний ПИ в ПА в основной группе был значимо выше, чем в группе сравнения и составил: $1,52 \pm 0,57$ против $0,95 \pm 0,25$ ($p = 0,001$); в СМА достоверно ниже $1,51 \pm 0,39$ против $2,06 \pm 0,46$ ($p = 0,001$), левой маточной и правой маточной артериях значимо выше: $1,09 \pm 0,36$ против $0,81 \pm 0,20$ в группе сравнения ($p < 0,001$) и $1,13 \pm 0,56$ против $0,79 \pm 0,18$ в группе сравнения ($p < 0,001$), соответственно. Среднее ЦПС в основной группе было ниже и составило: $1,14 \pm 0,52$ против $2,19 \pm 0,27$ ($p = 0,001$).

При анализе результатов лабораторных методов исследования обращает на себя внимание более низкий средний уровень PLGF – $82,86 \pm 67,15$ пг/мл в основной группе против $599,60$ пг/мл в группе сравнения (референсные значения: 240-1555 пг/мл), более высокий средний уровень sFlt-1 в основной группе – $7842,1 \pm 4741,9$ пг/мл против 1385 пг/мл в группе сравнения (референсные значения: 950-6750 пг/мл), а также более высокие значения соотношения sFlt-1/PLGF в основной группе: $224,12 \pm 271,02$ в I группе против $2,3$ – в II группе (референсные значения: 1,1-8,3).

В I группе средний гестационный срок, на котором были родоразрешены пациентки, составил: $34,3 \pm 3,4$ недель. Тогда как в группе сравнения средний срок родоразрешения составил – $34,6 \pm 3,1$ недели, что обусловлено критериями включения по методу подбора пар. В основной группе статистически значимо чаще проводилось кесарево сечение – $90,2\%$ против $65,9\%$ в группе сравнения (OR=0,2; CI=0,1-0,7; p=0,02). Показания для проведения операции кесарева сечения в исследуемых группах часто были сочетанными; в основной группе чаще встречались такие показания, как: ЗРП – в $58,0\%$ случаев, ухудшение состояния плода по данным функциональных методов обследования – $74,5\%$. Показанием к операции кесарева сечения послужил рубец на матке в $10,8\%$ случаев (OR=5,7; CI=1,6-20,6; p=0,013) (реже чем в группе сравнения). Старший репродуктивный возраст, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (OR=0,4; CI=0,04-4,4), неготовность мягких родовых путей к родам (OR=2,0; CI=0,4-9,6) – в $8,1\%$. Тазовое предлежание плода – в $13,5\%$ случаев (OR=1,8; CI=0,5-6,8). Преждевременное излитие околоплодных вод (OR=8,8; CI=1,7-44,8; p=0,01) (реже чем в группе сравнения), послужили показанием в $5,4\%$. Обострение герпетической инфекции, отслойка плаценты (OR=2,9; CI=0,2-33,5), предлежание плаценты (OR=2,9; CI=0,2-33,5) явились показанием для кесарева сечения в $2,7\%$ случаев.

Данные представлены на рисунке 7.

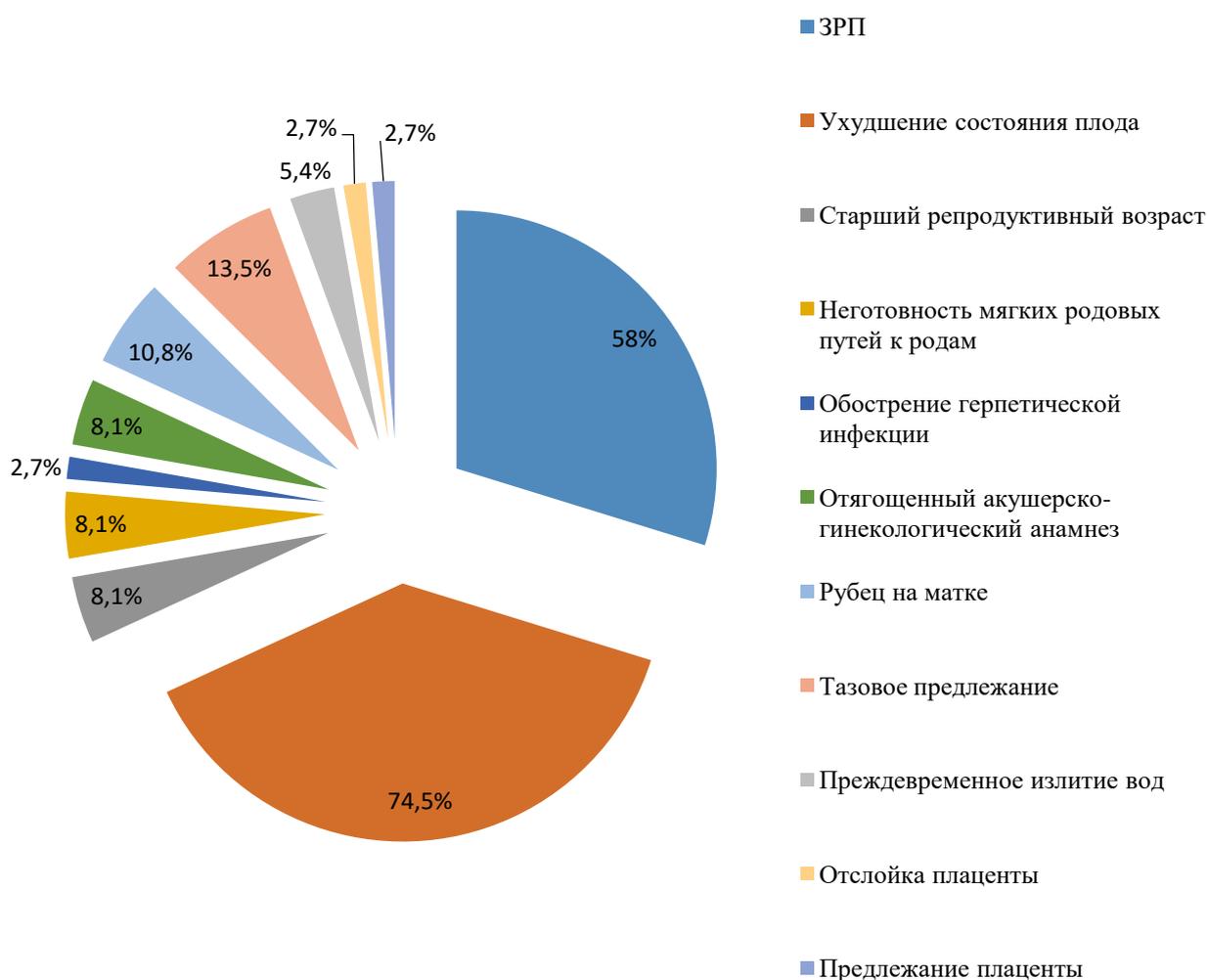


Рис. 7. Структура показаний к проведению операции кесарева сечения в основной группе.

Средняя кровопотеря при кесаревом сечении в основной группе была выше, чем в группе сравнения: $735,1 \pm 750,5$ мл против $653,7 \pm 318,3$ мл. Из особенностей операции в основной группе чаще встречались: placenta cesarea (OR=0,2; CI=0,02-1,7) и лейомиома матки, наблюдаемые в основной группе в 16,2% случаев.

В послеродовом периоде в основной группе достоверно чаще отмечалось повышение АД, требующее применения гипотензивной терапии, в основной группе в 34,1% случаев против 4,9% в группе сравнения (OR=0,1; CI=0,02-0,5; $p=0,002$), с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП (OR=0,1; CI=0,02-0,5; $p=0,007$). Средний уровень общего белка согласно данным

биохимического анализа крови в послеродовом периоде в основной группе был достоверно ниже и составил: $53,22 \pm 6,68$ г/л против $61,07 \pm 4,13$ г/л в группе сравнения ($p=0,03$), что вероятно связано с большой частотой проведения операции кесарева сечения, а также с большей кровопотерей в основной группе. В I группе в послеродовом периоде достоверно чаще применялись НМГ: в 53,7% против 12,2% случаев в группе сравнения ($OR=0,1$; $CI=0,04-0,4$; $p<0,001$). Послеродовый период у пациенток I группы осложнился анемией в 34,1% случаев против 19,5% случаев анемии в группе сравнения ($OR=0,5$; $CI=0,2-1,3$).

Течение и исход настоящей беременности у обследованных женщин в подгруппах

Ввиду различных патогенетических механизмов ранней и поздней ЗРП представлялось интересным изучить особенности течения беременности в подгруппах. В Ia подгруппе I триместр чаще осложнялся: артериальной гипертензией – 15,0%, анемией беременных – в 5,0 % случаев, при этом в Ib подгруппе в I триместре случаев артериальной гипертензии и анемии беременных не было зарегистрировано. Что касается осложнений беременности, рвота беременных в Ia подгруппе встречалась чаще, чем в Ib подгруппе: 40,0% против 19,0% ($OR=0,4$; $CI=0,1-1,4$).

В Ib подгруппе в I триместре чаще встречалось обострение хронического цистита, а беременность чаще осложнялась ГСД в 4,8% случаев. При этом в Ia подгруппе в I триместре данные нозологии не встречались. Доля случаев угрозы прерывания беременности в I триместре в подгруппах были сопоставимы и составили: 25,0% и 23,8%, соответственно ($OR=0,9$; $CI=0,2-3,9$). В Ia подгруппе чаще применялись НМГ: 20,0% против 4,8% ($OR=0,2$; $CI=0,02-2,0$).

Во II триместре в Ia подгруппе чаще применялись НМГ – в 40,0% случаев против 9,5% в подгруппе Ib ($OR=0,2$; $CI=0,03-0,9$). В Ib подгруппе во II триместре встречался хронический цистит – в 4,8% случаев. Что касается осложнений беременности в Ib подгруппе отмечался ГСД – в 4,8% случаев. В

Ia подгруппе в II триместре данные нозологии не были зарегистрированы. Угроза прерывания беременности чаще встречалась в Ia подгруппе: в 50,0% случаев против 33,3% случаев (OR=0,5; CI=0,1-1,8). Внутри подгрупп в III триместре в подгруппе ранней ЗРП чаще применялись НМГ – в 66,7% случаев против 42,9% в Ib подгруппе (OR=0,4; CI=0,1-1,4), чаще регистрировалась АГ – 60,0% против 19,0% (OR=0,3; CI=0,1-1,4). В Ib подгруппе преобладали случаи: обострения хронического пиелонефрита – 4,8%, при этом в Ia подгруппе хронический пиелонефрит не встречался; кольпита – 19,0%, при этом в подгруппе Ia кольпит не отмечался; беременность чаще осложнялась угрозой прерывания – в 38,1% против 22,2% случаев (OR=2,2; CI=0,5-8,9), маловодием 66,7% против 63,2% в Ia подгруппе (OR=0,8; CI=0,2-3,1), ГСД – 9,5% против 5,6% (OR=1,8; CI=0,1-21,5).

Таким образом, исходя из наших данных, при ранней ЗРП, чаще встречаются: анемия и рвота беременных – в I триместре; артериальная гипертензия, более частое применение НМГ на протяжении всей беременности; угроза прерывания беременности – во II триместре.

Для поздней ЗРП характерна большая частота: ГСД – на протяжении всей беременности; обострений хронического цистита – в I и II триместрах; ГАГ, кольпита, обострений хронического пиелонефрита, случаев угрозы прерывания беременности, маловодия – в III триместре.

Особенности течения беременности в исследуемых подгруппах представлены в таблице 16.

Таблица 16. Особенности течения настоящей беременности у пациенток в подгруппах (n,%).

Особенности течения настоящей беременности	Ia подгруппа n(%)	Ib подгруппа n(%)
Острые респираторные заболевания		
I триместр	4(20,0)	4(19,0)
III триместр	1(5,6)	1(4,8)
Обострение хронического цистита		
I триместр	-	1(4,8)
II триместр	-	1(4,8)
Обострение хронического пиелонефрита		
III триместр	-	1(4,8)
Кольпит		
III триместр	-	4(19,0)
Рвота беременных		
I триместр	8(40,0)	4(19,0)
Анемия беременных		
I триместр	1(5,0)	-
II триместр	3(15,0)	1(4,8)
III триместр	6(33,3)	4(19,0)

Гестационный сахарный диабет	-	1(4,8)
I триместр	-	1(4,8)
II триместр	1(5,6)	2(9,5)
III триместр		
Артериальная гипертензия		
I триместр	3(15)	-
II триместр	5(25)	-
III триместр	12(60)	4(19)
Угроза прерывания беременности		
I триместр	5(25,0)	5(23,8)
II триместр	10(50,0)	7(33,3)
III триместр	4(22,2)	8(38,1)

**Достоверные различия с соответствующей гестационному сроку группой сравнения ($P \leq 0,05$).*

***Достоверные различия между подгруппами ($P \leq 0,05$).*

Средний срок беременности при котором проводилось УЗИ плода в подгруппе Ia составил $30,7 \pm 2,1$ недель, в подгруппе Ib – $36,7 \pm 1,6$ недель. При анализе данных УЗИ плода внутри подгрупп обращает на себя внимание преобладание в Ib подгруппе: маловодия 66,7% против 63,2% в Ia подгруппе (OR=0,9; CI=0,2-3,1), расположения плаценты по передней стенке: в 57,9% против 47,4% случаев (OR=0,7; CI=0,2-2,4). Тазовое предлежание плода встречалось только в Ia подгруппе.

Исходя из полученных данных, следует отметить, что в подгруппе ранней ЗРП отмечались явления плацентарной недостаточности в виде нарушения фето-плацентарного кровотока: 20,0% против 9,5% в подгруппе поздней ЗРП (OR=2,4; CI=0,4-14,7) и сочетанного нарушения маточно-

плацентарного и фето-плацентарного кровотоков: 80,0% против 23,9% (OR=12,8; CI=2,9-56,6; p=0,001). В некоторых случаях кровоток достигал нулевых или реверсных значений в пупочной артерии: 20,0% против 4,8% в Ib подгруппе (OR=0,2; CI=0,02-2,0). Изолированного нарушения маточно-плацентарного кровотока в Ia подгруппе выявлено не было. Для Ib подгруппы было характерно преобладание нарушений маточно-плацентарного кровотока: в 33,3% случаев. Как видно из представленных данных, нарушение функционального состояния плода по данным доплерометрии при ранней форме ЗРП выявлялось чаще, чем при поздней.

Особый интерес представляет группа пациентов с поздней ЗРП, у которых показатели доплерометрии соответствовали нормативным значениям (n=7; 33,3%). В динамике при ультразвуковом исследовании в этой группе регистрировалось отставание плода в росте (ПМП в динамике по данным кривой роста плода отличалась более чем на 2 квантили), а также осложненное течение раннего неонатального периода. Ввиду того, что прогнозирование ЗРП у этой группы пациенток затруднительно, представляется актуальным поиск неинвазивных маркеров ЗРП. Данные проиллюстрированы на рисунке 8.

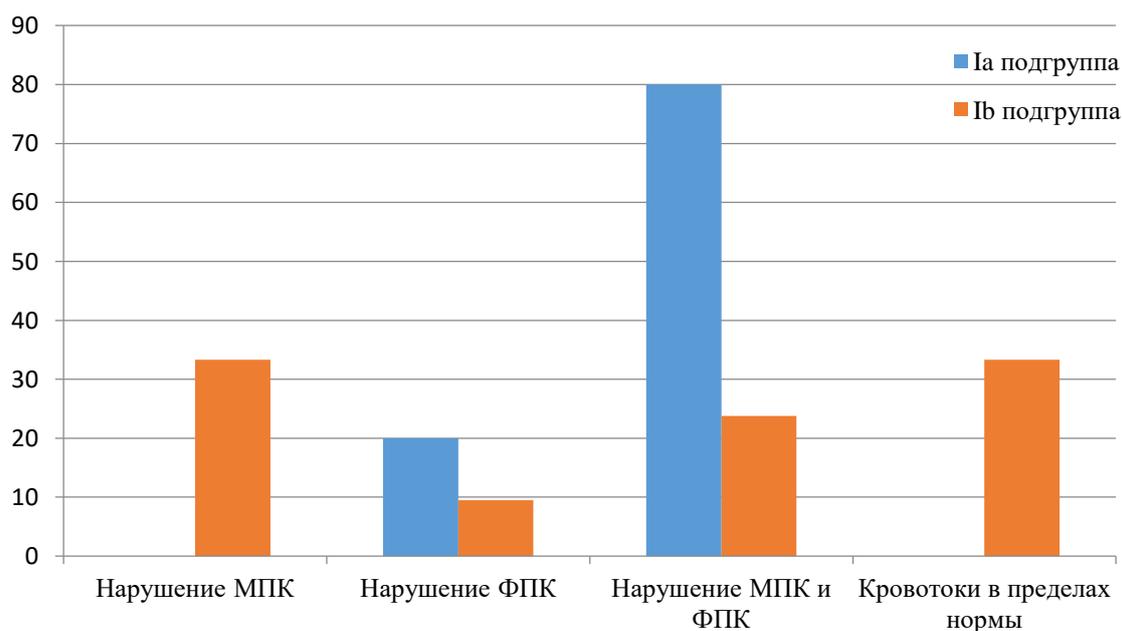


Рис. 8. Данные доплерометрии в системе «мать-плацента-плод» в подгруппах (%).

Средний ПИ в пупочной артерии в Ia подгруппе был значимо выше по сравнению с Ib подгруппой и составил: $2,0 \pm 0,4$ против $1,1 \pm 0,3$ ($p=0,001$); средние ПИ в СМА в подгруппах были сопоставимы $1,5 \pm 0,5$ против $1,5 \pm 0,3$. Средний ПИ в левой маточной артерии и правой маточной артериях в Ia подгруппе был несколько выше: $1,2 \pm 0,3$ против $1,0 \pm 0,4$ в Ib подгруппе и $1,3 \pm 0,7$ против $1,0 \pm 0,4$ в Ib подгруппе, соответственно. Среднее ЦПС в Ia подгруппе было достоверно ниже и составило: $0,8 \pm 0,2$ против $1,5 \pm 0,5$ ($p=0,001$).

При анализе результатов лабораторных методов исследования в Ia подгруппе отмечался более низкий средний уровень PLGF – $66,03 \pm 73,4$ пг/мл против $113,7 \pm 43,6$ пг/мл в Ib подгруппе (референсные значения: 240-1555 пг/мл), более высокий средний уровень sFlt-1 – $9566,5 \pm 4735,9$ пг/мл против $4680,8 \pm 2926,2$ в Ib подгруппе (референсные значения: 950-6750 пг/мл) ($p=0,02$), более высокое среднее значение sFlt-1 /PLGF: $308,1 \pm 301,4$ против $70,2 \pm 96,8$ – в Ib подгруппе (референсные значения: 1,1-8,3) ($p=0,03$).

В результате исследования с использованием критерия Пирсона (χ^2) были выделены факторы риска развития ЗРП, а для оценки силы взаимосвязи между номинальными переменными (ЗРП – факторы риска) был рассчитан критерий Крамера (V). Согласно полученным данным к анамнестическим факторам риска ЗРП относятся: медицинские аборт ($V=0,2$; $p \leq 0,05$) и преждевременные роды ($V=0,2$; $p \leq 0,05$). К клиническим факторам риска можно отнести: хроническую артериальную гипертензию ($V=0,3$; $p \leq 0,05$), миопию ($V=0,3$; $p \leq 0,05$), варикозное расширение вен нижних конечностей ($V=0,3$; $p=0,05$).

В Ia подгруппе средний срок беременности, на котором были родоразрешены пациентки, составил: $31,3 \pm 1,9$ недель, в Ib подгруппе – $37,1 \pm 1,4$ недель. В Ia подгруппе кесарево сечение проводилось всем пациенткам, вошедшим в исследование. В Ib подгруппе в 81,0% случаев имело место кесарево сечение (OR=1,2; CI=1,0-1,5), значимо чаще, чем в

группе сравнения соответствующего срока гестации (OR=0,2; CI=0,1-0,9; p=0,053), в 19,0% – самопроизвольные роды.

В структуре показаний для проведения кесарева сечения в Ia подгруппе чаще по сравнению с Ib подгруппой встречались такие показания, как: ЗРП: 70,0% против 52,9% (OR=0,5; CI=0,1-1,9); ухудшение состояния плода по данным функциональных методов исследования 74,5% против 64,7% (OR=0,6; CI=0,1-2,5), тазовое предлежание плода: 15,0% против 11,8% (OR=0,8; CI=0,1-5,1), отягощенный акушерско-гинекологический анамнез (ОАГА): 10,0% против 5,9% (OR=0,6; CI=0,2-2,5), обострение герпетической инфекции, отслойка плаценты, предлежание плаценты – 5,0% (были зарегистрированы только в Ia подгруппе).

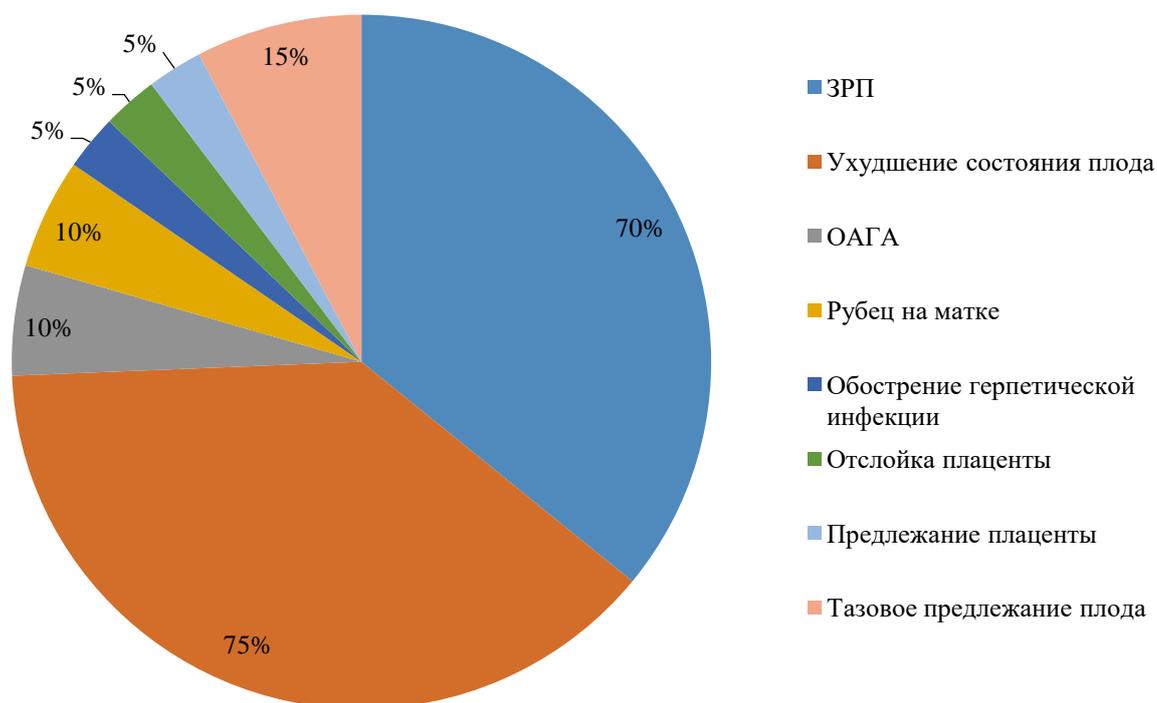


Рис. 9. Структура показаний для проведения кесарева сечения в Ia подгруппе (%).

В Ib подгруппе чаще встречались такие показания, как рубец на матке: 11,8% против 10,0% в Ia подгруппе (OR=1,2; CI=0,2-9,6); старший репродуктивный возраст, неготовность мягких родовых путей к родам: 17,6%, преждевременное излитие околоплодных вод: 11,8%, при этом в Ia подгруппе данных показаний не встречалось.

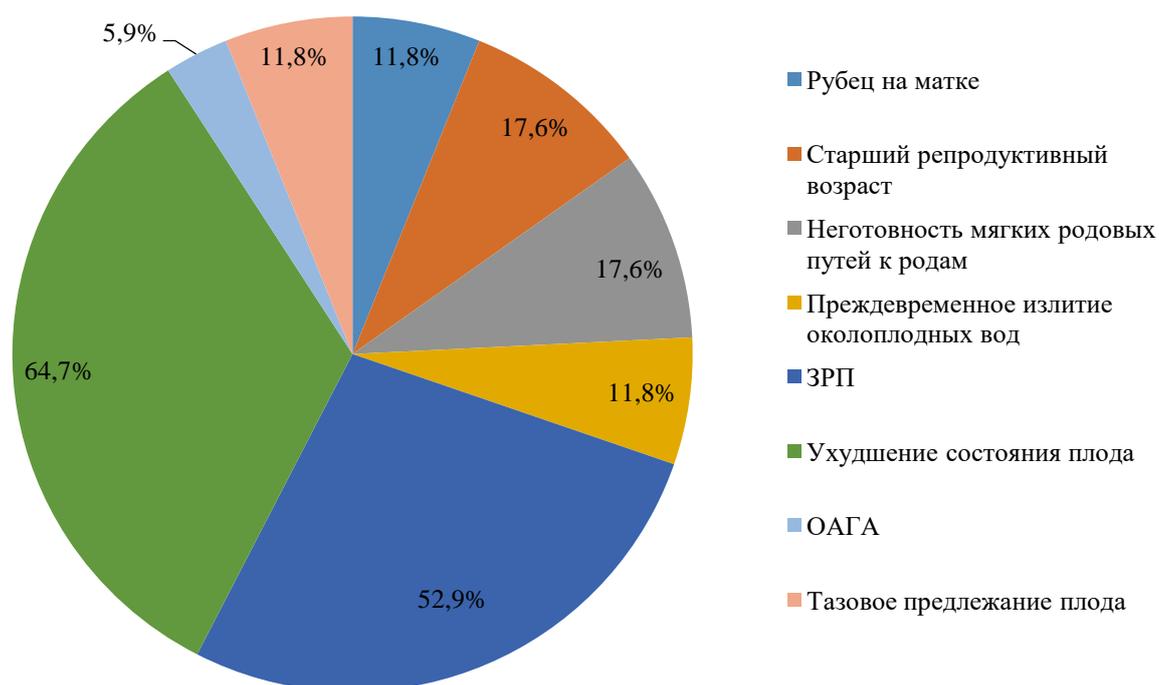


Рис. 10. Структура показаний для проведения кесарева сечения в Ib подгруппе (%).

Исходя из вышеизложенных данных при ранней ЗРП чаще встречаются: нарушения фето-плацентарного кровотока, а также сочетанное нарушение маточно-плацентарного и фето-плацентарного кровотоков; нулевой или реверсивный кровоток в пупочной артерии по данным доплерометрии.

В структуре показаний для проведения кесарева сечения в подгруппе ранней ЗРП более часто встречались такие показания, как ЗРП, ухудшение состояния плода по данным функциональных методов исследования,

отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, обострение герпетической инфекции, отслойка плаценты, предлежание плаценты, тазовое предлежание плода.

Для поздней ЗРП выявлены следующие закономерности: больший процент случаев маловодия, расположения плаценты по передней стенке; нарушение маточно-плацентарного кровотока по данным доплерометрии. Рубец на матке, старший репродуктивный возраст, неготовность мягких родовых путей к родам, преждевременное излитие околоплодных вод наиболее часто встречались в качестве показаний для проведения операции кесарева. При сравнении подгрупп обращает на себя внимание большая кровопотеря при проведении операции кесарева сечения в Ia подгруппе по сравнению с Ib подгруппой: 870 ± 1010 мл против 577 ± 81 мл. Среди особенностей операции кесарева сечения в Ia подгруппе привилегировала лейомиома матки 25,0% против 5,9% в Ib подгруппе ($OR=0,2$; $CI=0,02-1,8$). В послеродовом периоде в Ia подгруппе достоверно чаще отмечалось повышение АД, требующее применения гипотензивной терапии по сравнению с Ib подгруппой: 55,0% против 14,3% ($OR=0,1$; $CI=0,03-0,6$; $p=0,02$), чаще встречалась анемия: 45,0% против 23,8% ($OR=0,4$; $CI=0,1-1,5$). Также в Ia подгруппе в послеродовом периоде чаще требовалось применение НМГ: 70,0% против 38,1% случаев в Ib подгруппе ($OR=0,3$; $CI=0,1-1,0$).

4.2. Перинатальные исходы

Результаты изучения исхода родов установили, что у детей I группы средний вес при рождении составил $1557,2 \pm 607,1$ г. против $2416,3 \pm 649,1$ г. в II группе ($p=0,04$). Средний балл по шкале Апгар на первой минуте в основной группе был достоверно ниже и составил: $6,6 \pm 1,4$ баллов против $7,1 \pm 1,1$ баллов в группе сравнения ($p=0,032$), на пятой минуте в основной группе средняя оценка по шкале Апгар также была ниже: $7,8 \pm 0,9$ баллов против $8,0 \pm 1,0$ баллов в группе сравнения ($p=0,004$). В основной группе достоверно чаще встречались: врожденная пневмония в 56,1% случаев против 29,3% в группе сравнения ($OR=0,3$; $CI=0,1-0,8$; $p=0,03$); ДВС-синдром

в 19,5% случаев против 2,4% (OR=0,1; CI=0,01-0,9; p=0,03); ВЖК различной степени тяжести – в 39,0% случаев против 4,9% случаев в группе сравнения (OR=0,1; CI=0,02-0,4; p=0,001). ЭНМТ при рождении – в 26,8% случаев против 2,4% случаев (OR=0,1; CI=0,01-1,0; p=0,005). В основной группе встречались как ВЖК I степени, так и II степени, при этом в группе сравнения встречались только ВЖК I степени. НЭК различной степени тяжести наблюдался только в основной группе в 17,1% случаев (p=0,018), с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП (p=0,027). В основной группе чаще наблюдались: анемия у новорожденного – 43,9% против 26,8% (OR=0,5; CI=0,2-1,2); гипербилирубинемия – 39% против 26,8% (OR=0,6; CI=0,2-1,5); асфиксия различной степени тяжести – в 29,3% случаев против 26,8% (OR=1,1; CI=0,4-3,0), ретинопатия – в 12,2% против 2,4% случаев (OR=0,2; CI=0,02-1,6), ОНМТ при рождении – в 24,4% случаев против 7,3% в группе сравнения (OR=0,2; CI=0,1-1,0). Стоит отметить, что в основной группе превалировала асфиксия средней степени тяжести, встречались случаи тяжелой и легкой асфиксии, в то время, как в группе сравнения преобладали случаи легкой асфиксии и асфиксии средней степени тяжести. ДН, неонатальная пневмония, полицитемия – в 4,9% случаев против 2,4% (OR=0,5; CI=0,04-5,6). Сепсис новорожденного, легочная гипертензия новорожденных были диагностированы также в 4,9%, при этом в группе сравнения данных особенностей не отмечалось. Преходящая неонатальная тромбоцитопения, неуточненные отеки, специфичные для новорожденного встречались в основной группе с частотой – 2,4%, при этом в группе сравнения подобных случаев зарегистрировано не было. В основной группе сердечная недостаточность, бронхолегочная дисплазия II, срыгивание и руминация новорожденных встречались с частотой – 9,8% при этом в группе сравнения подобных случаев зарегистрировано не было. Нарушение мышечного тонуса новорожденного неуточненное также встречалось в основной группе в 9,8% случаев против 2,4% случаев в группе сравнения (OR=0,2; CI=0,03-2,2). Кровоизлияния в кожу в основной группе встречались

чаще, чем в группе сравнения, в 9,8% случаев против 4,9% (OR=0,5; CI=0,1-2,7). Церебральная депрессия у новорожденного регистрировалась в 9,8% случаев в основной группе против 2,4% в группе сравнения (OR=0,2; CI=0,03-2,2).

Структура нарушений состояния и заболеваний новорожденных представлена в таблице 17.

Таблица 17. Структура нарушений состояния и заболеваний новорожденных исследуемых групп, (n,%).

Осложнения раннего неонатального периода	I группа n(%)	II группа n(%)
ЭНМТ при рождении	11(26,8)*	1(2,4)
ОНМТ	10(24,4)	3(7,3)
Транзиторное тахипноэ	5(12,2)	-
Асфиксия различной степени тяжести	12(29,3)	11(26,8)
ДН, неонатальная пневмония, полицитемия	2 (4,9)	1(2,4)
Врожденная пневмония	23(56,1)*	12(29,3)
Сепсис новорожденного, легочная гипертензия новорожденных	2(4,9)	-
НЭК различной степени тяжести	7(17,1)*	-
Кровоизлияния в кожу	4(9,8)	2(4,9)
ВЖК различной степени тяжести	16(39,0)*	2(4,9)

ДВС-синдром	8(19,5)*	1(2,4)
Церебральная депрессия у новорожденного	4(9,8)	1(2,4)
Сердечная недостаточность, бронхолегочная дисплазия II, срыгивание и руминация новорожденного	4(9,8)	-
Преходящая неонатальная тромбоцитопения, неуточненные отеки, специфичные для новорожденного	1(2,4)	-
Ретинопатия	5(12,2)	1(2,4)
Гипербилирубинемия	16(39,0)	11(26,8)
Анемия	18(43,9)	11(26,8)
Нарушение мышечного тонуса новорожденного неуточненное	4(9,8)	1(2,4)

**Достоверные различия с группой сравнения ($P \leq 0,05$).*

По данным нейросонографии в основной группе чаще встречались следующие особенности: ВЖК различной степени тяжести были обнаружены в 39,0% против 4,9% в группе сравнения (OR=0,1; CI=0,02-0,4; $p=0,001$); кисты головного мозга – в 26,8% против 9,8% случаев (OR=0,3; CI=0,1-1,0); повышенная эхогенность перивентрикулярных зон в 34,1% против 7,3% случаев в группе сравнения (OR=0,15; CI=0,04-0,6; $p=0,006$). Перивентрикулярная ишемия встречалась в 14,6% случаев в отличие от группы сравнения, где перивентрикулярной ишемии зарегистрировано не было. Данные представлены на рисунке 11.

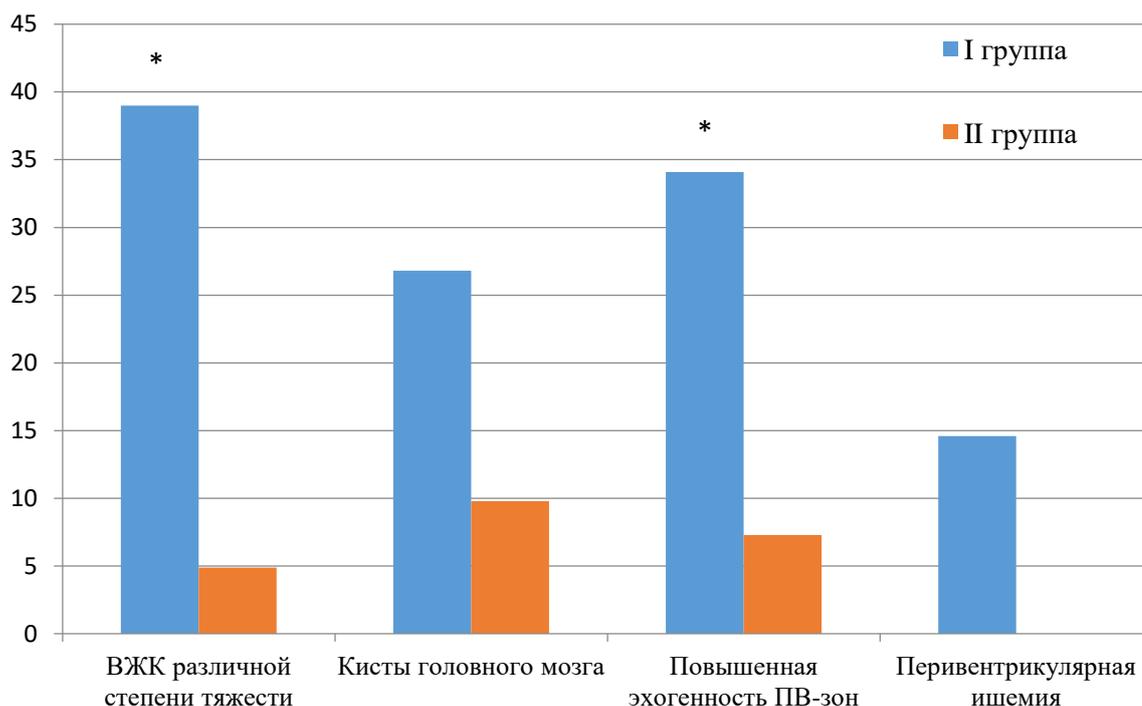


Рис. 11. Особенности нейросонографии новорожденных в исследуемых группах (%). *Достоверные различия с группой сравнения ($P \leq 0,05$).

Средний уровень рН пуповинной крови после рождения в основной группе и в группе сравнения были сопоставимы и составили $7,3 \pm 0,1$. Средняя концентрация лактата при рождении в основной группе была выше и составила: $4,4 \pm 3,3$ ммоль/л против $1,8 \pm 0,8$ ммоль/л в группе сравнения. Средний уровень рСО₂ был выше в основной группе: $45,9 \pm 10,9$ мм рт. ст. против $44,8 \pm 15,5$ мм рт. ст., в группе сравнения. Средний уровень рО₂ в основной группе был ниже, чем в группе сравнения: $34,0 \pm 17,9$ мм рт. ст. против $37,9 \pm 16,1$ мм рт. ст., соответственно. Однако статистической значимости в уровне рН, лактата, рСО₂ и рО₂ пуповинной крови на момент рождения выявлено не было.

4.2.1. Перинатальные исходы при ранней и поздней задержке роста плода

Средний вес при рождении в Ia подгруппе составил $1040,3 \pm 321,1$ г, в Ib подгруппе – $2049,4 \pm 342,9$ г ($p < 0,001$). Средний балл по шкале Апгар при сравнении подгрупп был достоверно ниже на первой и пятой минутах в Ia подгруппе: $5,5 \pm 1,2$ баллов – на первой, $7,1 \pm 0,8$ баллов – на пятой минуте

против $7,7 \pm 0,5$ баллов на первой ($p < 0,001$) и $8,4 \pm 0,5$ баллов – на пятой минуте в Ib подгруппе ($p < 0,001$). В Ia подгруппе при сравнении с Ib подгруппой чаще наблюдалась врожденная пневмония: 90,0% против 23,8% в Ib подгруппе ($OR=0,04$; $CI=0,01-0,2$; $p < 0,001$), ДВС-синдром: 35,0% против 4,8% ($OR=0,09$; $CI=0,01-0,9$; $p=0,04$), ВЖК различной степени тяжести: 65,0% против 14,3% ($OR=0,1$; $CI=0,02-0,4$; $p=0,003$), анемия у новорожденного 80,0% против 9,5% случаев ($OR=0,03$; $CI=0,004-0,2$; $p < 0,001$), асфиксия различной степени тяжести: 55,0% против 4,8% ($OR=24,4$; $CI=2,7-219,1$; $p=0,001$). В подгруппе Ia чаще отмечались: НЭК различной степени тяжести 30,0% против 4,8% ($OR=8,6$; $CI=0,9-79,3$), гипербилирубинемия: 55,0% против 23,8% ($OR=0,3$; $CI=0,1-1,0$), ОНМТ при рождении: 40,0% против 9,5% ($OR=0,3$; $CI=0,07-1,0$), церебральная депрессия у новорожденного – 15,0% против 4,8% ($OR=0,3$; $CI=0,03-3,0$). Только в Ia подгруппе наблюдались ЭНМТ при рождении в 55,0% случаев, ретинопатия I – 25,0%, ДН, неонатальная пневмония, сепсис новорожденного, легочная гипертензия новорожденных встречались в – 10,0%; тромбоцитопения, неуточненные отеки, специфичные для новорожденного – 5,0%; сердечная недостаточность, бронхолегочная дисплазия II, кровоизлияния в кожу – 20,0%. Только в Ib подгруппе встречались срыгивание и руминация новорожденного – в 19,0% случаев.

Таблица 18. Структура нарушений состояния и заболеваний новорожденных исследуемых подгрупп, (n,%).

Осложнения раннего неонатального периода	Ia подгруппа n(%)	Ib подгруппа n(%)
ЭНМТ	11(55,0)*,**	-
ОНМТ	8(40,0)	2(9,5)
Транзиторное тахипноэ	1(5,0)	4(19,0)

Асфиксия различной степени тяжести	11(55,0)**	1(4,8)
ВЖК различной степени тяжести	13(65,0)*,**	3(14,3)
ДВС-синдром	7(35,0)*,**	1(4,8)
Церебральная депрессия у новорожденного	3(15,0)	1(4,8)
НЭК различной степени тяжести	6(30,0)*	1(4,8)
Врожденная пневмония	18(90,0)**	5(23,8)*
Сепсис новорожденного, легочная гипертензия новорожденных, ДН, неонатальная пневмония	2(10,0)	-
Сердечная недостаточность у новорожденного, бронхолегочная дисплазия II, кровоизлияния в кожу	4(20,0)	-
Преходящая неонатальная тромбоцитопения, неуточненные отеки, специфичные для новорожденного	1(5,0)	-
Полицитемия	1(5,0)	1(4,8)
Гипербилирубинемия	11(55,0)	5(23,8)
Анемия	16(80,0)**	2(9,5)
Ретинопатия	5(25,0)**	-
Срыгивание и руминация новорожденного	-	4(19,0)
Нарушение мышечного тонуса новорожденного неуточненное	2(10,0)	2(9,5)

*Достоверные различия с соответствующей гестационному сроку группой сравнения ($P \leq 0,05$).

**Достоверные различия между подгруппами ($P \leq 0,05$).

По данным нейросонографии при сравнении подгрупп в Ia подгруппе достоверно чаще встречались ВЖК различной степени тяжести: 65,0% против 14,3% (OR=0,1; CI=0,02-0,4; $p=0,003$); повышенная эхогенность перивентрикулярных зон 65,0% против 4,8% в Ib подгруппе (OR=0,03; CI=0,003-0,3; $p<0,001$). Только в Ia подгруппе встречалась: перивентрикулярная ишемия – 30,0%. Несколько чаще в Ib подгруппе встречались кисты головного мозга – 28,6% против 25,0% (OR=1,2; CI=0,3-4,8).

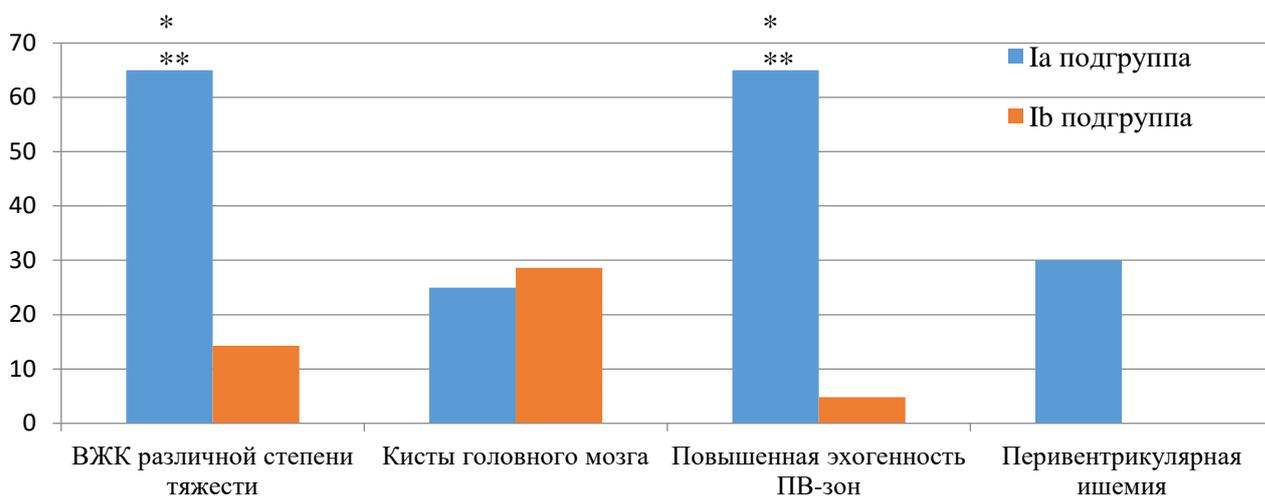


Рис. 12. Особенности нейросонографии новорожденных в исследуемых подгруппах (%).

*Достоверные различия с соответствующей гестационному сроку группой сравнения ($P \leq 0,05$).

**Достоверные различия между подгруппами ($P \leq 0,05$).

Средний уровень рН пуповинной крови после рождения в подгруппах составил $7,3 \pm 0,1$. Средняя концентрация лактата при рождении в Ia подгруппе была выше – $4,8 \pm 3,6$ ммоль/л по сравнению с Ib подгруппой, где концентрация лактата была $2,8 \pm 1,6$ ммоль/л. Средний уровень рСО₂ в Ia подгруппе составил – $44 \pm 9,3$ мм рт. ст., Ib – $49,3 \pm 13$ мм рт. ст. Средний уровень рО₂ в Ib подгруппе был ниже, чем в Ia подгруппе: $26,6 \pm 17,1$ мм рт. ст. против $38 \pm 17,4$ мм рт. ст.

В ходе нашего исследования нами был проведен анализ результатов бактериологического исследования мазков из зева, кала и крови. Данные представлены на рисунках 13-15.

Было показано, что микрофлора, полученная из зева, кала и крови в исследуемых группах была представлена условно-патогенными микроорганизмами. По-видимому, выделенные микроорганизмы не играют роли в генезе ЗРП. Инфекционные осложнения неонатального периода у новорожденных с ЗРП по всей видимости связаны с незрелостью иммунной системы, сопутствующей ЗРП согласно данным литературы [200]. Следует отметить, что посеvy крови, а также отсеvy с венозного катетера новорожденных показали большее разнообразие микроорганизмов в подгруппе ранней ЗРП при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации (группа сравнения 1). Вероятно, данные изменения обусловлены более выраженным нарушением иммунных механизмов защиты у новорожденных с ранней формой ЗРП и склонностью к генерализации инфекции, соответственно. Данные представлены на рисунках 15, 16. Отмечались выраженные воспалительные явления у новорожденных в основной группе с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП. Средний показатель С-реактивного белка в основной группе составил: $10,9 \pm 13,1$ мг/л против $1,1 \pm 1,2$ мг/л в группе сравнения ($p < 0,001$); в подгруппе ранней ЗРП также наблюдался несколько больший средний уровень С-реактивного белка по сравнению с подгруппой поздней ЗРП – $13,8 \pm 15,2$ мг/л против $5,4 \pm 4,9$ мг/л ($p > 0,05$). Приведенные данные коррелируют с большей частотой врожденной и неонатальной пневмонии, а также сепсиса у новорожденных с ЗРП.

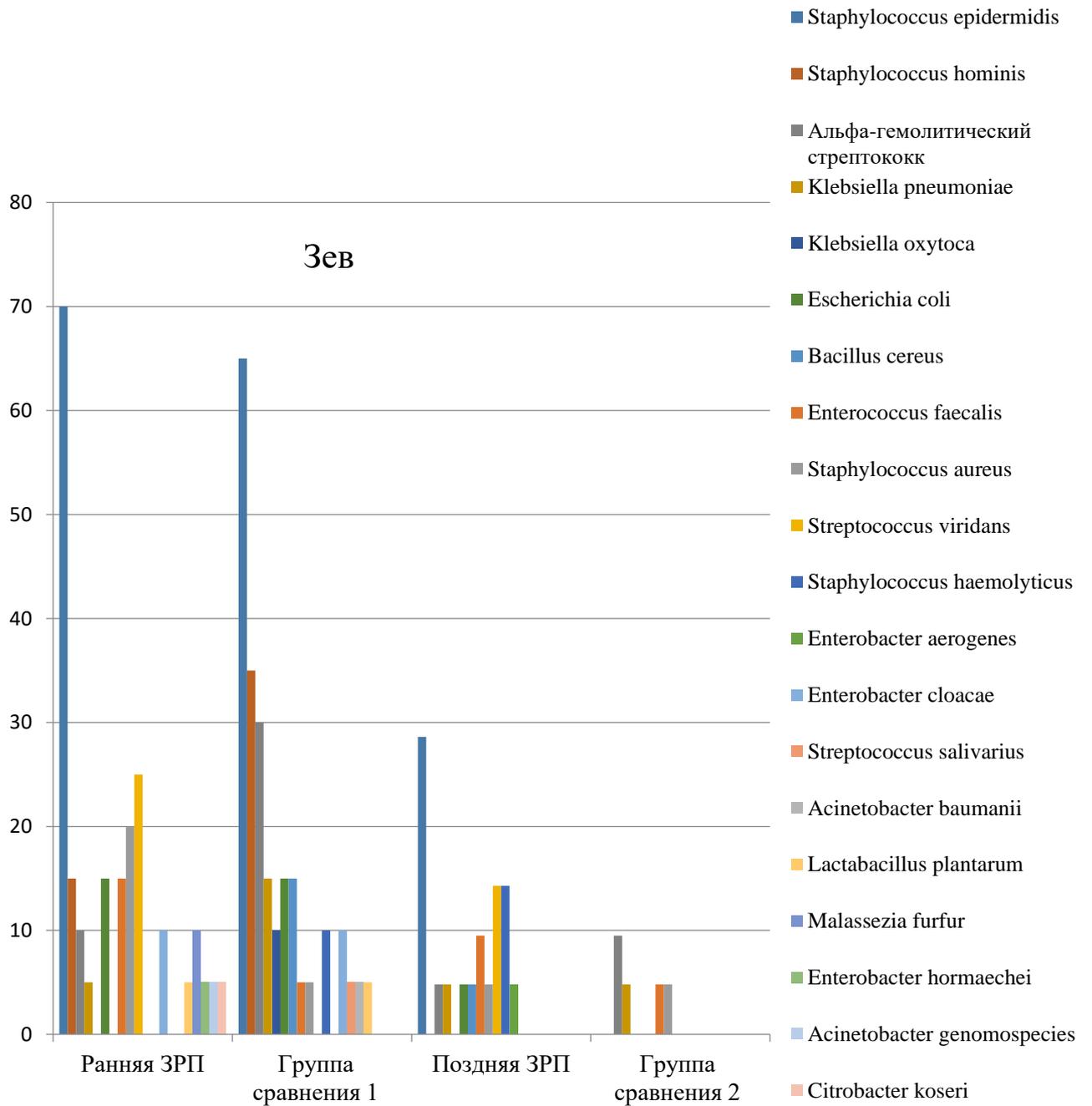


Рис. 13. Микроорганизмы, выделенные из зева новорожденных исследуемых групп (%). Группа сравнения 1 – дети без ЗРП, родившиеся до 34 недель. Группа сравнения 2 – дети без ЗРП, родившиеся после 34 недель.

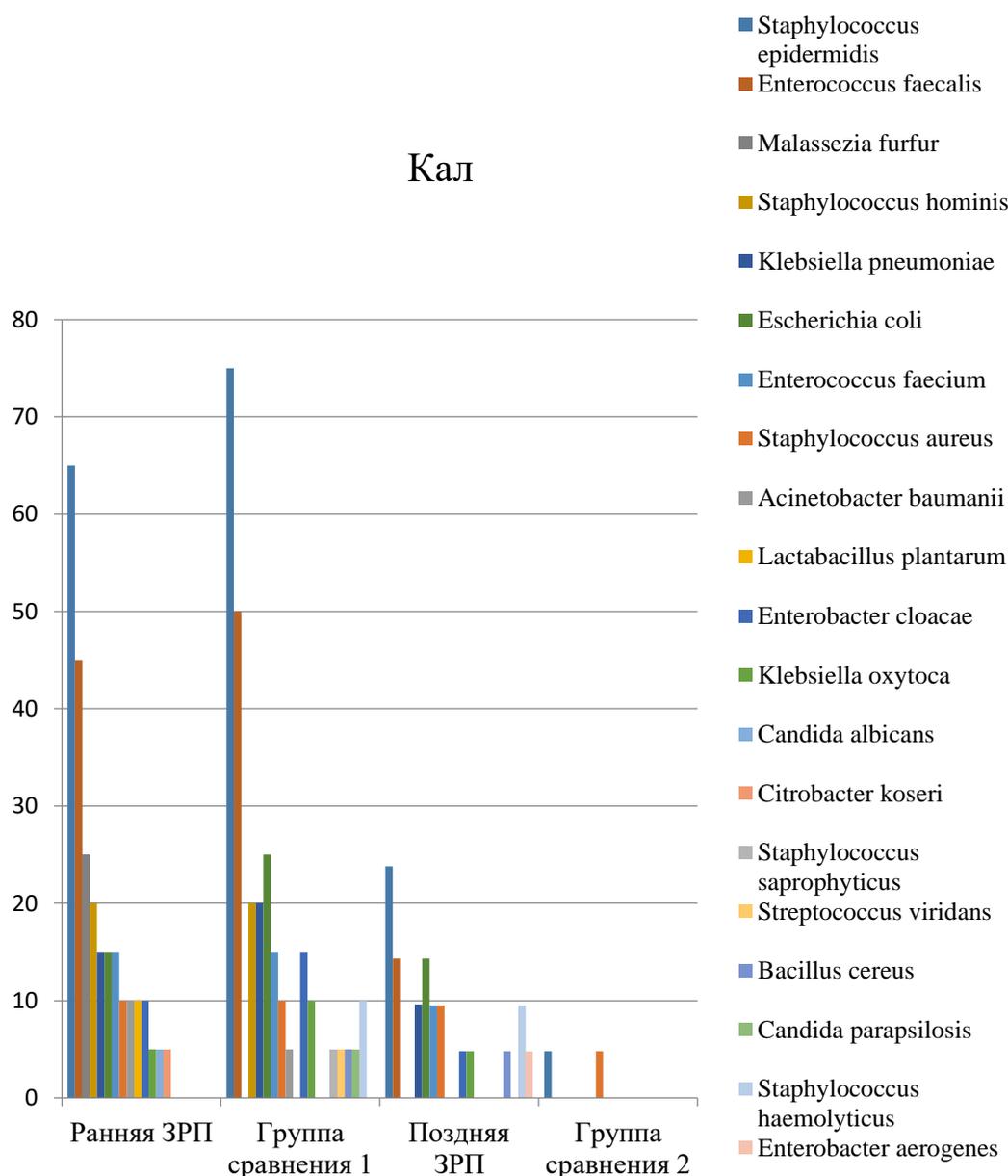


Рис. 14. Микроорганизмы, выделенные из кала новорожденных исследуемых групп (%). Группа сравнения 1 – дети без ЗРП, родившиеся до 34 недель. Группа сравнения 2 – дети без ЗРП, родившиеся после 34 недель.



Рис. 15. Микроорганизмы, выделенные из крови новорожденных исследуемых групп (%). Группа сравнения 1 – дети без ЗРП, родившиеся до 34 недель. Группа сравнения 2 – дети без ЗРП, родившиеся после 34 недель.



Рис.16. Микроорганизмы, выделенные из венозного катетера новорожденных исследуемых групп (%). Группа сравнения 1 – дети без ЗРП, родившиеся до 34 недель. Группа сравнения 2 – дети без ЗРП, родившиеся после 34 недель.

При анализе молока с использованием метода ПЦР, у матерей с ранней формой ЗРП чаще выделялся цитомегаловирус при сопоставлении с группой сравнения 1. Данные представлены на рисунке 17.

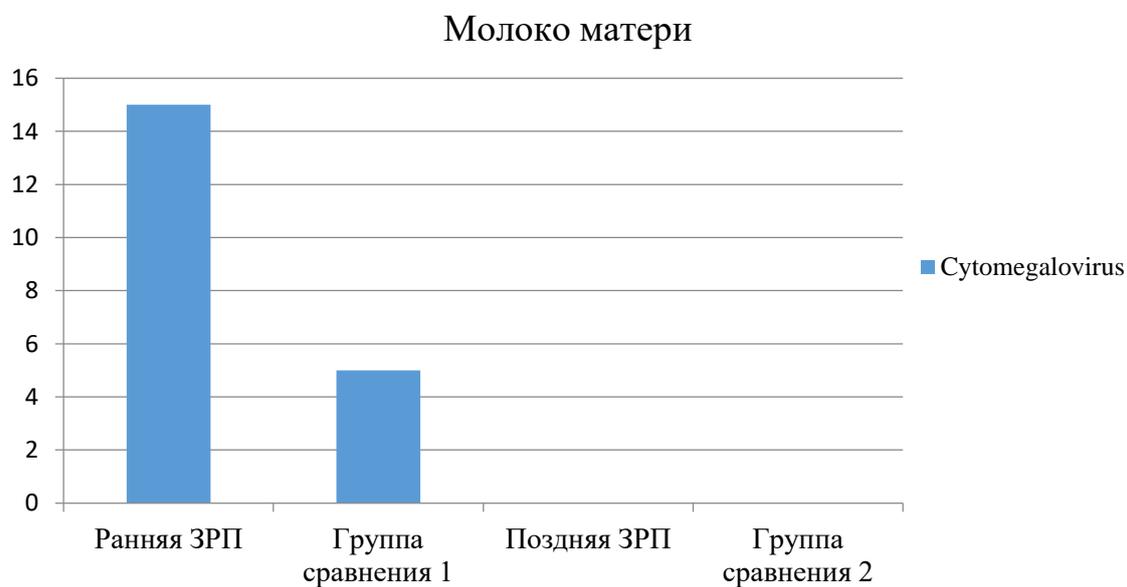


Рис. 17. Микроорганизмы, выделенные из молока матерей исследуемых групп (%). Группа сравнения 1 – дети без ЗРП, родившиеся до 34 недель. Группа сравнения 2 – дети без ЗРП, родившиеся после 34 недель.

При этом у новорожденных с ранней формой ЗРП цитомегаловирус обнаруживался лишь в 5,0% случаев (в моче). Что касается исходов для

новорожденных женщин исследуемых групп 7,3% (Ia – 15,0%) детей в основной группе умерли по причине сепсиса, легочного кровотечения, ДВС-синдрома, легочно-сердечной недостаточности, НЭК IIIБ стадии. В группе сравнения все дети выжили и были выписаны. Средний срок пребывания в стационаре для основной группы был значимо выше и составил: $27,1 \pm 22,8$ дней (Ia – $40,5 \pm 24,8$ дней, Ib – $14,4 \pm 10,2$ дней) против $16,5 \pm 13,2$ дней в группе сравнения ($p=0,029$). Перевод в другие отделения чаще осуществлялся в основной группе: в 73,2% случаев (Ia – 85,0% , Ib – 61,9%) против 51,2% в группе сравнения, с статистически значимым преобладанием в подгруппе поздней ЗРП при сопоставлении с соответствующей гестационному сроку группой сравнения (Ib – $n=13$; 61,9%, группа сравнения 2 - $n=1$; 4,8%) ($p<0,001$).

4.3. Корреляционный анализ параметров клинико-лабораторного исследования матерей и новорожденных с задержкой роста плода

В результате корреляционного анализа были найдены 140 корреляционных связей между показателями состояния плода, новорожденного, а также состояния здоровья беременных с ЗРП. В корреляционный анализ были включены: клинические параметры матери и новорожденного, показатели УЗИ, доплерометрии, КТГ, нейросонографии новорожденного, показатели анализов крови матери: клинического, биохимического анализов крови, гемостазиограммы, анализов крови новорожденного: клинического и биохимического анализов крови. Корреляционные связи, представляющие наибольший интерес, выявленные при ранней и поздней ЗРП, представлены в таблицах 19 и 20.

Ранняя ЗРП может сопровождаться такими нарушениями показателей доплерометрии, как повышение ПИ в пупочных артериях, ПИ в маточных артериях, снижение ПИ в СМА и снижение ЦПС. Согласно полученным данным ранняя ЗРП имеет прямую корреляционную связь с ПИ в ПА ($r=0,66$, $p=0,0103$), ПИ в МА ($r=0,75$, $p=0,0022$), обратную корреляционную связь с ПИ в СМА ($r=-0,73$, $p=0,0032$) и ЦПС ($r=-0,87$, $p=0,0001$). ПИ в ПА имеет

прямую корреляционную связь с нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод» по данным доплерометрии ($r=0,78$, $p=0,0009$) и ПИ в МА ($r=0,8$, $p=0,0005$), соответственно. Чем выше ПИ в ПА, тем меньше вес новорожденного ($r=-0,75$, $p=0,0021$) и меньше ЦПС ($r=-0,82$, $p=0,0004$). ЦПС, в свою очередь коррелирует с весом новорожденного ($r=0,7$, $p=0,0049$). Чем выше ПИ в МА, тем меньше ЦПС ($r=-0,8$, $p=0,0006$) и меньше вес новорожденного ($r=-0,76$, $p=0,0017$). Корреляционные связи показателей кровотока в системе «мать-плацента-плод» подробно представлены в таблице 19.

Представляет интерес связь показателей гемограммы матерей и показателей состояния плода и новорожденного. Чем выше гемоглобин матери, тем ниже: предполагаемая масса плода (ПМП) по данным УЗИ ($r=-0,74$, $p=0,0027$), вес новорожденного ($r=-0,78$, $p=0,0011$), ПИ в СМА ($r=-0,55$, $p=0,0092$), ЦПС ($r=-0,65$, $p=0,0115$). Найдена прямая корреляционная связь гемоглобина матери с нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод» ($r=0,72$, $p=0,0035$), ПИ в ПА ($r=0,6$, $p=0,0246$), ПИ в МА ($r=0,57$, $p=0,0334$). Полученные результаты согласуются с данными О.А.Amburgey и соавт., описавшими обратную зависимость концентрации гемоглобина матери и размеров плода у пациенток с ПЭ и ЗРП, что ученые связывают со снижением объема плазмы и гемоконцентрацией у матерей, что ведет к нарушению перфузии матки и ЗРП [201]. Повышенная концентрация гемоглобина матери также выступала в качестве прогностического маркера ЗРП в ряде исследований [202–207]. Naeye и соавт. обнаружили корреляцию между частотой обширных инфарктов плаценты и повышением уровня гемоглобина матери [208]. Что касается показателей гемостазиограммы, представляет интерес обратная корреляционная связь протромбина по Квику с ПИ в СМА ($r=-0,56$, $p=0,0366$) и ЦПС ($r=-0,66$, $p=0,0108$), прямая корреляционная связь протромбина по Квику с ранней ЗРП ($r=0,58$, $p=0,0281$), ПИ в ПА ($r=0,55$, $p=0,0405$) и нарушением кровотоков ($r=0,66$, $p=0,0107$). Гиперкоагуляция в организме матери может вести к нарушению

кровоотоков в системе «мать-плацента-плод». Изменения гемостаза матери в сторону гиперкоагуляции может вести к нарушению имплантации бластоцисты и снижению в дальнейшем перфузии плаценты. Повреждение клеток трофобласта и тромбозы плаценты ведут к нарушению роста плода, маловодию и нарушению кровоотоков в системе «мать-плацента-плод» [209].

Что касается выявленных корреляционных связей других показателей гемостазиограммы и кровоотоков в системе «мать-плацента-плод», полученные результаты отражают влияние НМГ на показатели гемостазиограммы и отсутствие клинического эффекта от их назначения. Данные корреляционные связи представлены в таблице 19. Действительно, НМГ оказывают влияние на гемостаз на этапе превращения протромбина в тромбин, удлиняя и снижая уровень фибриногена [210]. Однако при этом показатели, отражающие нарушения кровоотока в системе «мать-плацента-плод» остаются неизменными. Известно, что ЗРП оказывает неблагоприятное влияние на состояние новорожденного на протяжении всей его жизни [102, 105].

Нарушения кровоотоков в системе «мать-плацента-плод» ведут к отклонениям показателей клиничко-лабораторных данных на этапе новорожденности. Была обнаружена обратная корреляционная связь между ПИ в СМА и анемией новорожденных ($r=-0,76$, $p=0,03$) и ПИ в СМА и K^+ крови новорожденных ($r=-0,88$, $p=0,0072$), что свидетельствует о том, что централизация кровообращения при ранней ЗРП связана с анемией и, возможно, перемещением внутриклеточного калия в межклеточное пространство в следствие повышения проницаемости клеточной мембраны в условиях гипоксии и ацидоза в организме новорожденного при ранней ЗРП. Имеется обратная корреляция эритроцитов новорожденного с ПИ в ПА ($r= -0,45$, $p=0,039$) и с ПИ в МА ($r=-0,56$, $p=0,0088$), что также указывает в пользу анемии у новорожденных с ранней ЗРП при нарушении кровоотоков в системе «мать-плацента-плод». Известно, что ЦПС – чувствительный показатель внутриутробного состояния плода, что подтверждают данные проведенного анализа. Нами обнаружена прямая корреляционная связь ЦПС с

гематокритом новорожденного ($r=0,79$, $p=0,0279$), обратная корреляционная связь между ЦПС и pCO_2 ($r=-0,88$, $p=0,0072$). Имеется обратная корреляционная связь уровня глюкозы крови матери и ПСП по данным КТГ ($r= - 0,49$, $p=0,0235$) и прямая корреляционная связь уровня глюкозы крови матери с ПИ в СМА ($r=0,45$, $p=0,0426$) и с ЦПС ($r=0,45$, $p=0,0408$). Данные, касающиеся влияния уровня гликемии матери на доплерометрические показатели состояние плода противоречивы. Имеются данные, согласно которым кровоток плода подвержен не только влиянию концентрации кислорода, но и влиянию метаболических изменений, происходящих в организме матери. Согласно некоторым данным у здоровых беременных женщин после проведения глюкозотолерантного теста гипергликемия матери ведет к вазоконстрикции СМА у плода и сопровождается подъемом С-пептида в пуповинной крови [211]. Согласно же данным G.L. Orheim и соавт. у здоровых беременных женщин после приема пищи ПИ в СМА и ЦПС снижаются, что авторы связывают с вазодилатацией вследствие индуцированного инсулином синтеза NO в условиях повышения уровня глюкозы крови. Авторы подчеркивают, что результаты подобного эксперимента могут отличаться у плодов с явлениями централизации кровообращения, с так называемым “brain-sparing” эффектом, имеющих сниженный показатель ПИ в СМА. D. Senoh и соавт. не обнаружили снижения ПИ в СМА у «плодов, малых к сроку гестации» после приема глюкозы матерью [212]. Вес при рождении – фактор, влияющий на состояние новорожденного. Вес новорожденного имел прямую корреляционную связь с Апгар на 5-ой минуте ($r=0,76$, $p=0,03$), обратную корреляционную связь с ПСП ($r=-0,64$, $p=0,0017$) и ПИ в МА ($r=-0,63$, $p=0,0021$). Показатель ПМП по данным УЗИ имел прямую корреляционную связь с ЦПС ($r= 0,61$, $p=0,0211$), Апгар на 1-ой минуте ($r= 0,44$, $p=0,0465$) и на 5-ой минуте ($r= 0,56$, $p=0,0086$) и обратную корреляционную связь с ПИ в ПА ($r=-0,63$, $p=0,0158$), ПИ в МА ($r=-0,63$, $p=0,015$) и нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод» ($r=-0,64$, $p=0,0141$), а также с ПСП ($r=-0,58$, $p=0,0055$).

Известно, что во время беременности наблюдается физиологическое повышение уровня лейкоцитов, начиная со II триместра беременности, и их уровень коррелирует с раскрытием шейки матки во время родов и развитием регулярной родовой деятельности [213]. Представляет интерес найденная прямая корреляционная связь лейкоцитов крови матери с глюкозой крови матери ($r=0,65$, $p=0,0014$), ПИ в СМА ($r=0,45$, $p=0,0402$), ЦПС ($r=0,47$, $p=0,0325$), обратная корреляционная связь лейкоцитов крови матери с ПИ в МА ($r=-0,44$, $p=0,047$), ПСП ($r=-0,43$, $p=0,0538$). Мы можем предположить, что назначение глюкокортикостероидов для профилактики РДС плода в случае ранней ЗРП может способствовать повышению уровня лейкоцитов и глюкозы, чем объясняются выявленные корреляционные связи. Дексаметазон, используемый для профилактики РДС плода, может способствовать выходу маргинального пула нейтрофилов (прикрепленных к эндотелию сосудов), отсроченной миграции нейтрофилов к тканям, отсроченному апоптозу, а также увеличению выхода нейтрофилов из костного мозга, способствуя повышению уровня лейкоцитов [214]. Связи лейкоцитов с кровотоками в системе «мать-плацента-плод» возможно связана с тем, что кровотоки на момент проведения профилактики РДС были не критично нарушены и у клиницистов было время для профилактики РДС плода. Также интересна, но не вполне ясна имеющаяся обратная корреляционная связь креатинина крови матери и ЦПС ($r=-0,51$, $p=0,0189$). Имеется прямая корреляционная связь эритроцитов крови матери и креатинина ($r=0,58$, $p=0,0059$), креатинина и мочевины ($r=0,45$, $p=0,0394$). Таким образом повышение уровня креатинина, согласно нашим данным, ведет к нарушению кровотоков в системе «мать-плацента-плод» и повышению количества эритроцитов у матерей, а значит и гемоконцентрации, которая, согласно некоторым данным связана с ЗРП [205]. Мочевина и креатинин являются продуктами белкового обмена в организме. Мочевина – конечный продукт метаболизма белков, синтезируемый в печени при обезвреживании аммиака. Повышение уровня

мочевины в плазме крови может наблюдаться при снижении выделительной функции почек в случае почечной патологии, при нарушении почечной гемодинамики в случае сердечной недостаточности; кровотечения; шока; кишечной непроходимости; ожогов; нарушения оттока мочи; дегидратации. Кроме того, может наблюдаться избыточное поступление мочевины в кровь при усиленном катаболизме белков; в случае диеты с повышенным содержанием белка. Повышение уровня креатинина в плазме может наблюдаться при почечной недостаточности; акромегалии и гигантизме; при приеме нефротоксических препаратов; при повреждении мышечной ткани. Повышение креатинина также возможно при: диете с повышенным содержанием белка; дегидратации; гипертиреозе; а также при увеличении содержания в крови некоторых эндогенных метаболитов, таких как глюкоза, фруктоза, кетоновые тела, мочевина, некоторых препаратов: цефазолина, аскорбиновой кислоты, ибупрофена, леводопы, резерпина, нитрофуразона, цефаклора [215–217]. Креатинин и мочевина, обнаруживаемые в плазме крови, отражают функцию почек. Согласно некоторым данным риск развития ЗРП у женщин с ХБП выше в 5 раз [218]. Суммируя все вышесказанное можно также предположить, что выявленные корреляционные связи креатинина и мочевины с показателями доплерометрии могут быть связаны с возможным усиленным катаболизмом белка и дегидратацией.

ЗРП может сопровождаться явлениями системного воспалительного ответа и окислительного стресса, соответственно [219]. Согласно некоторым данным в организме матери и новорожденного при ЗРП наблюдается усиление окислительного стресса. Окислительный стресс ведет к повреждению белков и повышенной подверженности белков протеолизу [38]. Согласно некоторым данным высокие дозы белка в диете пациенток с ЗРП снижали темпы роста плода при ЗРП, повышая риски преждевременных родов и перинатальной смертности [220]. Так как механизмы этого явления неизвестны, мы можем лишь предполагать генез выявленных

корреляционных связей. Таким же образом креатинин и мочевины, будучи продуктами белкового обмена, негативно сказываются на состоянии плода и новорожденного, согласно выявленным связям. Более подробно выявленные корреляционные связи параметров при ранней ЗРП представлены в таблице 19.

Таблица 19. Корреляционные связи клинико-лабораторных параметров в подгруппе Ia (ЗРП до 34 недель).

Клинико-лабораторные параметры		r	p-value
Ранняя ЗРП	Гемоглобин	0,62	0,0172
	Протромбин по Квику	0,58	0,0281
	ПИ в ПА	0,66	0,0103
	ПИ в МА	0,75	0,0022
	ПИ в СМА	-0,73	0,0032
	ЦПС	-0,87	0,0001
Гемоглобин	ПМП по данным УЗИ	-0,74	0,0027
	ПИ в ПА	0,6	0,0246
	ПИ в МА	0,57	0,0334
	ЦПС	-0,65	0,0115
	Нарушение кровотоков	0,72	0,0035

	Вес при рождении	-0,78	0,0011
АЧТВ	Фибриноген	-0,59	0,0289
	ПИ в СМА	-0,67	0,0091
	ЦПС	-0,59	0,0249
	Нарушение кровотоков	0,6	0,0227
Фибриноген	ПМП по данным УЗИ	0,58	0,0334
	ПИ в МА	-0,58	0,0309
	ЦПС	0,57	0,0315
	Нарушение кровотоков	-0,68	0,0071
	Вес при рождении	0,64	0,0163
Протромбин по Квику	ПИ в ПА	0,55	0,0405
	ПИ в СМА	-0,56	0,0366
	ЦПС	-0,66	0,0108
	Нарушение кровотоков	0,66	0,0107
ПМП по данным УЗИ	ПИ в ПА	-0,63	0,0158
	ПИ в МА	-0,63	0,015
	ЦПС	0,61	0,0211
	Нарушение		

	кровоотоков	-0,64	0,0141
	ПСП	-0,58	0,0055
ПИ в ПА	ПИ в МА	0,8	0,0005
	Вес при рождении	-0,75	0,0021
ПИ в МА	ЦПС	-0,8	0,0006
	Вес при рождении	-0,76	0,0017
ПИ в СМА	Анемия новорожденных	-0,76	0,03
	K ⁺ крови новорожденного	-0,88	0,0072
	Гемоглобин	-0,55	0,0092
ЦПС	ПИ в ПА	-0,82	0,0004
	Вес при рождении	0,7	0,0049
	Гематокрит новорожденного	0,79	0,0279
	pCO ₂	-0,88	0,0072
	Креатинин	-0,51	0,0189
Лейкоциты	Глюкоза	0,65	0,0014
	ПСП	-0,43	0,0538
	ПИ в МА	-0,44	0,047
	ПИ в СМА	0,45	0,0402

	ЦПС	0,47	0,0325
Креатинин	Эритроциты	0,58	0,0059
	Мочевина	0,45	0,0394
Глюкоза	ПСП	-0,49	0,0235
	ПИ в СМА	0,45	0,0426
	ЦПС	0,45	0,0408
Вес при рождении	Нарушение кровотоков	-0,74	0,0022
	ПСП	-0,64	0,0017
	ПИ в МА	-0,63	0,0021
	Апгар на 5-ой минуте	0,76	0,03
Апгар на 1-ой минуте	ПМП по данным УЗИ	0,44	0,0465
Апгар на 5-ой минуте	ПМП по данным УЗИ	0,56	0,0086
Эритроциты новорожденного	ПИ в ПА	-0,45	0,039
	ПИ в МА	-0,56	0,0088

Поздняя задержка роста плода имеет обратную корреляционную связь с весом новорожденного ($r=-0,66$, $p=0,004$), оценкой по шкале Апгар на пятой минуте ($r=-0,53$, $p=0,0275$), а также прямую корреляционную связь с таким показателем доплерометрического исследования, как ПИ в ПА ($r=0,54$, $p=0,0246$) и нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод» ($r=0,57$, $p=0,0179$). ПИ в ПА, в свою очередь, имеет прямую корреляционную связь с

ОНМТ при рождении ($r=0,61$, $p=0,0155$), гипербилирубинемией новорожденных ($r=0,62$, $p=0,0135$) и обратную корреляционную связь с общим билирубином плазмы крови матери ($r=-0,37$, $p=0,0528$), весом новорожденного ($r=-0,67$, $p=0,0001$), уровнем тромбоцитов крови новорожденного ($r=-0,39$, $p=0,0384$). ПИ в МА имеет обратную корреляционную связь с весом новорожденного ($r=-0,52$, $p=0,0328$) и оценкой по шкале Апгар на пятой минуте ($r=-0,54$, $p=0,0242$), уровнем тромбоцитов крови новорожденного ($r=-0,38$, $p=0,048$), прямую корреляционную связь с ПИ в ПА ($r=0,61$, $p=0,0099$). ПИ в СМА имеет прямую корреляционную связь с уровнем тромбоцитов крови новорожденного ($r=0,39$, $p=0,0427$). ЦПС имеет обратную корреляционную связь с ОНМТ при рождении ($r=-0,66$, $p=0,0073$), гипербилирубинемией новорожденных ($r=-0,62$, $p=0,0131$), кистами головного мозга плода по данным нейросонографии ($r=-0,51$, $p=0,0501$), прямую корреляционную связь с весом новорожденного ($r=0,5$, $p=0,0065$). Все вышеизложенное подчеркивает важность доплерометрии для оценки состояния плода и связи ее показателей с состоянием новорожденного.

Что касается показателей гемограммы матери и показателей состояния плода и новорожденного при поздней ЗРП обнаружена обратная корреляционная связь уровня гемоглобина крови матери с ЦПС ($r=-0,43$, $p=0,0215$), что может быть связано с гемоконцентрацией в организме матери, как указывалось выше [201]. При поздней ЗРП показатели доплерометрии ПА могут быть в пределах нормы, чаще при этом имеются отклонения показателей ПИ в СМА и ЦПС, отражающие процесс адаптации плода к гипоксии [221]. Общий белок крови матери связан с ПМП по данным УЗИ ($r=0,51$, $p=0,0057$). Имеются сведения, что недостаточное питание матери во время беременности повышает частоту ЗРП [111]. В условиях плацентарной недостаточности наблюдается снижение поступления питательных веществ через плаценту к плоду, в особенности аминокислот. Аминокислоты – необходимы не только для синтеза белка, но и для регуляции метаболических

путей, участвующих в формировании и развитии плода и плаценты. Системы активного транспорта аминокислот через плаценту обеспечивают потребность плода в аминокислотах, возрастающую с увеличением срока беременности. Данные некоторых исследований свидетельствуют о том, что ЗРП связана со снижением способности транспортных систем плаценты переносить аминокислоты к плоду. До настоящего времени не разработано эффективного лечения ЗРП. Однако попытки улучшить транспорт аминокислот через плаценту и их биодоступность для плода путем увеличения концентрации аминокислот в рационе беременной или непосредственно в материнской плазме предпринимаются и по сей день [222]. Согласно некоторым данным именно нарушение транспорта аминокислот играет основную роль в развитии ЗРП [223]. Рост тканей матери во время беременности, развитие плаценты, рост плода – процессы, требующие достаточного поступления аминокислот. Мать и плод «конкурируют» в отношении получения аминокислот для построения молекул белка. Известно, что тяжесть ЗРП коррелирует со степенью нарушений транспорта аминокислот [224]. Возможно, именно нарушением в работе транспортных систем переноса аминокислот при плацентарной недостаточности можно объяснить отсутствие эффекта от приема высоких доз белка беременными с ЗРП. Более того, высокие дозы белка в питании таких пациенток снижают темпы роста плода при ЗРП, повышают риски преждевременных родов и перинатальной смертности. Механизмы этого феномена до настоящего момента не известны и требуют дальнейшего изучения [220]. Нами была выявлена прямая корреляционная связь общего билирубина плазмы крови матери и предполагаемой массы плода по данным УЗИ ($r=0,42$, $p=0,0252$), а также веса новорожденного ($r=0,53$, $p=0,0017$). Как упоминалось выше, также обнаружена обратная корреляция между общим билирубином и ПИ в ПА ($r=-0,37$, $p=0,0528$). Билирубин – продукт катаболизма гема, образующийся в результате разрушения эритроцитов. Интересен тот факт, что билирубин является эндогенным антиоксидантом.

Получены данные, согласно которым небольшое увеличение уровня билирубина (доброкачественная гипербилирубинемия) связано со снижением частоты атеросклероза сонных артерий и ИБС [225]. Т. Perlstein и соавт. опубликовали исследование, в котором приняли участие более 7 тысяч человек, и пришли к выводу, что повышение уровня билирубина плазмы крови на каждые 0,1 мг/дл (1,7 ммоль/л) ассоциировано с снижением вероятности развития атеросклероза периферических сосудов на 6 %. Кроме того, автор исследования выявил меньшую частоту инсульта и лучшие исходы у пациентов после инсульта при увеличении концентрации общего билирубина в плазме крови [226]. Согласно некоторым данным у пациентов с болезнью Фабри, сопровождаемой поражением сосудов и сердца, отмечается значимое повышение уровня маркеров окислительного стресса и снижение уровня билирубина плазмы крови. Интересен факт, что заместительная терапия ферментами при болезни Фабри нормализовала как уровни билирубина плазмы крови, так и антиоксидантный потенциал плазмы крови, что свидетельствует о том, что низкий уровень билирубина плазмы крови в данном случае явился следствием усиления окислительного стресса и увеличенного расхода эндогенных антиоксидантов [227]. Можно предположить, что выявленная нами корреляционная связь отражает косвенные признаки окислительного стресса в условиях плацентарной недостаточности. Повышение ПИ в ПА, характерное для плацентарной недостаточности, сопровождается гипоксией плода и окислительным стрессом. Руководствуясь данными упомянутых исследований, логичными представляются корреляционные связи перечисленных параметров и уровня такого эндогенного антиоксиданта, как общий билирубин плазмы крови матери. Как и в случае ранней ЗРП, обнаружены корреляционные связи показателей гемостазиограммы и клинических параметров, а именно: прямая корреляционная связь протромбина по Квику с ПИ в ПА ($r=0,55$, $p=0,0025$), обратная корреляционная связь протромбина по Квику и общего билирубина плазмы крови матери ($r=-0,42$, $p=0,0254$), протромбина по Квику и ПМП по

данным УЗИ ($r=-0,5$, $p=0,0068$), протромбина по Квику и веса при рождении ($r=-0,48$, $p=0,01$). Выявленные связи подчеркивают влияние гиперкоагуляции в организме матери на кровоток в системе «мать-плацента-плод» и массу плода. Билирубин, как упоминалось ранее, является эндогенным антиоксидантом. Можно предположить, что его снижение при повышении уровня протромбина по Квику связано с окислительным стрессом, сопровождаемым гиперкоагуляцией. Известно, что свободные радикалы, в частности АФК и соединения азота, ведут к окислительному стрессу, к гиперактивации тромбоцитов и гиперкоагуляции [228]. Интересны, однако не совсем ясны, выявленные связи следующих параметров: прямая корреляционная связь мочевины плазмы крови матери и ПИ в ПА ($r=0,47$, $p=0,0116$), обратная корреляционная связь мочевины плазмы крови матери и ПИ в СМА ($r=-0,58$, $p=0,0014$), ЦПС ($r=-0,47$, $p=0,0117$), мочевины плазмы крови матери и веса новорожденного ($r=-0,38$, $p=0,0435$). Также выявлена прямая корреляционная связь креатинина плазмы крови матери и ПИ в ПА ($r=0,52$, $p=0,0044$), протромбина по Квику ($r=0,4$, $p=0,0327$), обратная корреляционная связь креатинина и ПМП по данным УЗИ ($r=-0,53$, $p=0,0039$), веса новорожденного ($r=-0,65$, $p=0,0002$), ПИ в СМА ($r=-0,37$, $p=0,0511$), ЦПС ($r=-0,4$, $p=0,0337$), тромбоцитов новорожденного ($r=-0,43$, $p=0,0222$). В свою очередь креатинин положительно коррелирует с мочевиной ($r=0,54$, $p=0,0032$). Выявленная обратная корреляция гемоглобина крови матери и ЦПС ($r=-0,43$, $p=0,0215$) может отражать снижение объема плазмы крови и гемоконцентрацию у женщин при ЗРП, и соответственно, нарушение кровотока в системе «мать-плацента-плод», что согласуется с данными литературы [201, 229]. Как упоминалось ранее, нами была выявлена прямая корреляционная связь общего белка крови матери и ПМП по данным УЗИ ($r=0,51$, $p=0,0057$), общего белка крови матери и веса новорожденного ($r=0,57$, $p=0,0017$). Гипопротеинемия также может являться следствием недостаточного поступления белка с пищей, что согласуется с данными литературы, свидетельствующими о связи ЗРП и недостаточного питания

матери во время беременности [111]. Что касается состояния новорожденного при поздней ЗРП, выявлена зависимость различных параметров состояния новорожденного и их связь с показателями состояния матери. Оценка состояния по шкале Апгар на первой минуте коррелирует с: ПМП данным УЗИ ($r=0,6$, $p=0,0008$); весом при рождении ($r=0,62$, $p=0,0133$); Апгар на пятой минуте ($r=0,63$, $p=0,0124$); уровнем гемоглобина новорожденного ($r=0,56$, $p=0,0312$); рН пуповинной крови ($r=0,69$, $p=0,0044$); концентрацией CO_2 в пуповинной крови при рождении ($r=-0,62$, $p=0,0135$). Оценка состояния по шкале Апгар на пятой минуте коррелирует с ПМП по данным УЗИ ($r=0,68$, $p=0,0001$), весом новорожденного ($r=0,56$, $p=0,0194$) и гемоглобином новорожденного ($r=0,6$, $p=0,0186$). Перечисленные параметры оказывают непосредственное влияние на состояние новорожденного. Повышение гемоглобина крови новорожденного при поздней ЗРП можно рассматривать как адаптационный механизм к условиям гипоксии. Что касается данных нейросонографии головного мозга новорожденного, выявленные корреляционные связи параметров нейросонограмм с клинико-лабораторными данными состояния новорожденных представлены в таблице 20. Таким образом, согласно нашим данным, кисты головного мозга, субэпендимальные кровоизлияния, перивентрикулярная ишемия, повышенная эхогенность паравентрикулярных зон, герминолиз сопутствуют гипоксии плода при поздней ЗРП. А связь данных показателей с ОНМТ и ЭНМТ, а также биохимическими параметрами состояния новорожденного свидетельствует о гипоксии в группе детей родившихся с малой массой тела. Перечень выявленных корреляционных связей в подгруппе поздней ЗРП представлен в таблице 20.

Таблица 20. Корреляционные связи клинико-лабораторных параметров в подгруппе Ib (ЗРП после 34 недель).

Наименование коррелирующих параметров		r*	p-value
Гемоглобин	ЦПС	-0,43	0,0215
Общий белок	ПМП по данным УЗИ	0,51	0,0057
Мочевина	Креатинин	0,54	0,0032
	ПИ в ПА	0,47	0,0116
	ПИ в СМА	-0,58	0,0014
	ЦПС	-0,47	0,0117
Креатинин	Протромбин по Квику	0,4	0,0327
	ПМП по данным УЗИ	-0,53	0,0039
	ПИ в ПА	0,52	0,0044
	ПИ в СМА	-0,37	0,0511
	ЦПС	-0,4	0,0337
Общий билирубин	Протромбин по Квику	-0,42	0,0254
	ПМП по данным УЗИ	0,42	0,0252
Протромбин по Квику	ПМП по данным УЗИ	-0,5	0,0068
	ПИ в ПА	0,55	0,0025
ПИ в ПА	Общий билирубин	-0,37	0,0528
	ОНМТ	0,61	0,0155

	Гипербилирубинемия новорожденных	0,62	0,0135
ЦПС	ОНМТ	-0,66	0,0073
	Гипербилирубинемия новорожденных	-0,62	0,0131
	Кисты головного мозга (нейросонография)	-0,51	0,0501
Вес при рождении	Общий белок	0,57	0,0017
	Мочевина	-0,38	0,0435
	Креатинин	-0,65	0,0002
	Билирубин общий	0,53	0,0038
	Протромбин по Квику	-0,48	0,01
	ПСП	-0,48	0,0106
	ПИ в ПА	-0,67	0,0001
	ЦПС	0,5	0,0065
Апгар на 1-ой минуте	ПМП по данным УЗИ	0,6	0,0008
	Вес при рождении	0,62	0,0133
	Апгар на 5-ой минуте	0,63	0,0124
	Гемоглобин новорожденного	0,56	0,0312
	рН пуповинной крови	0,69	0,0044
	рСО ₂ в пуповинной	-0,62	0,0135

	крови		
Апгар на 5-ой минуте	ПМП по данным УЗИ	0,68	0,0001
	Гемоглобин новорожденного	0,6	0,0186
	Вес при рождении	0,56	0,0194
рН пуповинной крови	Кисты головного мозга (нейросонография)	-0,56	0,0312
рСО ₂	Кисты головного мозга (нейросонография)	0,73	0,0021
Тромбоциты новорожденного	Креатинин	-0,43	0,0222
	ПИ в ПА	-0,39	0,0384
	ПИ в МА	-0,38	0,048
	ПИ в СМА	0,39	0,0427
Поздняя ЗРП	ПИ в ПА	0,54	0,0246
	Нарушение кровотоков	0,57	0,0179
	Вес при рождении	-0,66	0,004
	Апгар на 5-ой минуте	-0,53	0,0275
ПИ в ПА	ПИ в МА	0,61	0,0099
ПИ в МА	Вес при рождении	-0,52	0,0328
	Апгар на 5-ой минуте	-0,54	0,0242
РДС	Гематокрит новорожденного	0,82	0,0002

ОНМТ	Субэпендимальное кровоизлияние (нейросонография)	0,76	0,001
	Повышенная эхогенность перивентрикулярных зон (нейросонография)	0,54	0,0359
	Перивентрикулярная ишемия (нейросонография)	0,54	0,0359
ЭНМТ	Субэпендимальное кровоизлияние (нейросонография)	0,75	0,0014
Асфиксия	Гематокрит новорожденного	0,55	0,0339
Гематокрит новорожденного	Повышенная эхогенность перивентрикулярных зон (нейросонография)	0,85	0,0001
	Перивентрикулярная ишемия (нейросонография)	0,85	0,0001
	Субэпендимальное кровоизлияние (нейросонография)	0,55	0,0339
К ⁺ крови	Повышенная	0,53	0,0416

новорожденного	эхогенность перивентрикулярных зон (нейросонография)		
	Перивентрикулярная ишемия (нейросонография)	0,53	0,0416

Таким образом, данные проведенного корреляционного анализа указывают на то, что как при ранней, так и при поздней ЗРП наибольшей диагностической ценностью обладают изменения кровотока в системе «мать-плацента-плод», в том числе с формированием «brain-sparing» эффекта (снижение ЦПС), а также увеличение такого показателя, как гемоглобин крови матери. В проведенных ранее работах описывалась взаимосвязь между увеличением гемоглобина крови матери и ЗРП, что авторы связывают с снижением объема плазмы крови матери и гемоконцентрацией, а также нарушением кровотока в системе «мать-плацента-плод», соответственно [202–204, 206, 207]. Полученные нами данные, свидетельствующие о значимости доплерометрии в диагностике ЗРП и связи показателей доплерометрии с исходами для новорожденного, требуют проведения дальнейших исследований, направленных на поиск специфических маркеров, повышающих диагностическую ценность доплерометрии в системе «мать-плацента-плод».

4.4. Оценка профиля экспрессии тканевых мкРНК при ранней и поздней формах задержки роста плода

Известно, что в основе поздней ЗРП лежит плацентарная недостаточность, обусловленная метаболическими и гемодинамическими расстройствами в функциональной системе «мать-плацента-плод», в то время, как ранняя ЗРП сопровождается нарушением ремоделирования спиральных артерий и эндотелиальной дисфункцией, обусловленной

несбалансированной работой про- и антиоксидантной систем [230]. Сердечно-сосудистые заболевания характеризуются гемодинамическими нарушениями и гипоксией, а в основе ряда из них, в том числе хронической артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, атеросклероза, лежит эндотелиальная дисфункция [231]. В этой связи нами были отобраны мкРНК, участвующие в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний и ассоциированные с окислительным стрессом по данным литературы [69–71] – для оценки уровня их экспрессии при ЗРП. Акцент был сделан на следующих мкРНК: miR-16-5p, miR-26b-5p, miR-100-5p, miR-125b-5p, miR-146a-5p, miR-182-5p, miR-199a-5p, miR-221-3p, miR-451a и miR-574-3p.

Анализ дифференциальной экспрессии показал, что в ткани плаценты в группе беременных с ранней ЗРП ($P < 34$) уровни экспрессии miR-221-3p и miR-451a относительно группы сравнения ($N < 34$) были достоверно снижены ($p < 0,03$), а экспрессия miR-125b-5p и miR-574-3p, напротив, значимо повышалась ($p < 0,03$) (рис.18).

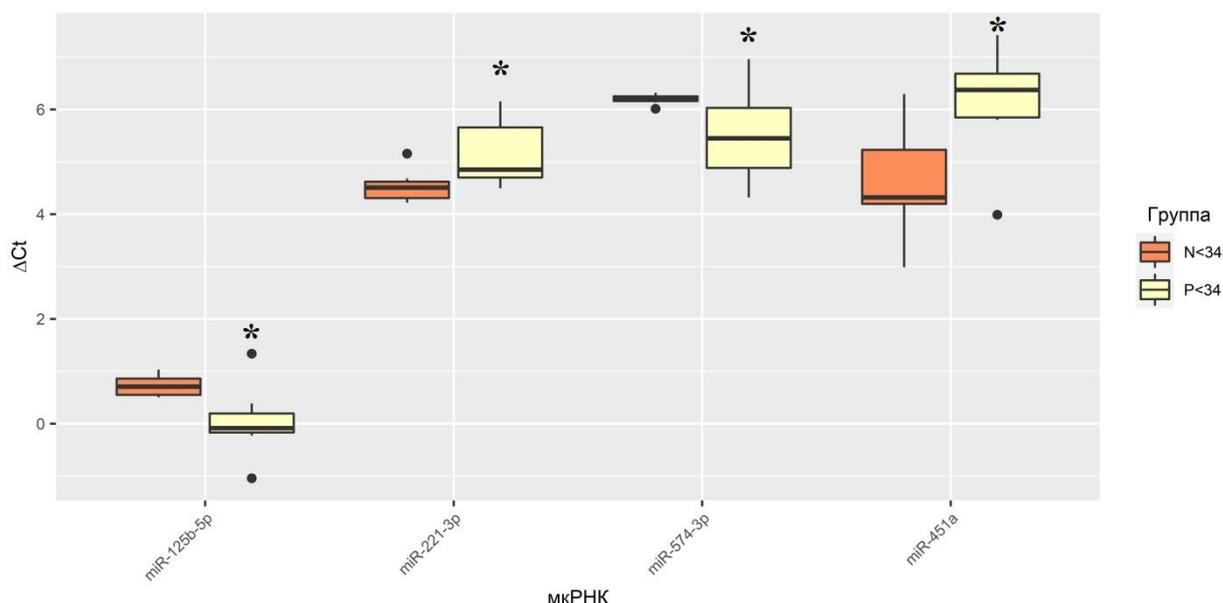


Рис. 18. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-574-3p и miR-451a в образцах ткани плаценты в группе беременных с ранней ЗРП при сопоставлении с группой сравнения. На диаграмме указаны медианы значений ΔC_t , первый и третий квартили, границы статистически значимой выборки, выбросы обозначены точками. * – уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации.

В группе беременных с поздней ЗРП ($P>34$) только для двух мкРНК – miR-574-3p и miR-451a наблюдаются достоверные отличия относительно группы сравнения (рис.19). При этом их экспрессия также, как и в группе с ранней ЗРП, изменялась разнонаправленно: значимое повышение уровня экспрессии miR-574-3p ($p<0,04$) и понижение miR-451a ($p<0,006$) относительно группы сравнения ($N>34$).

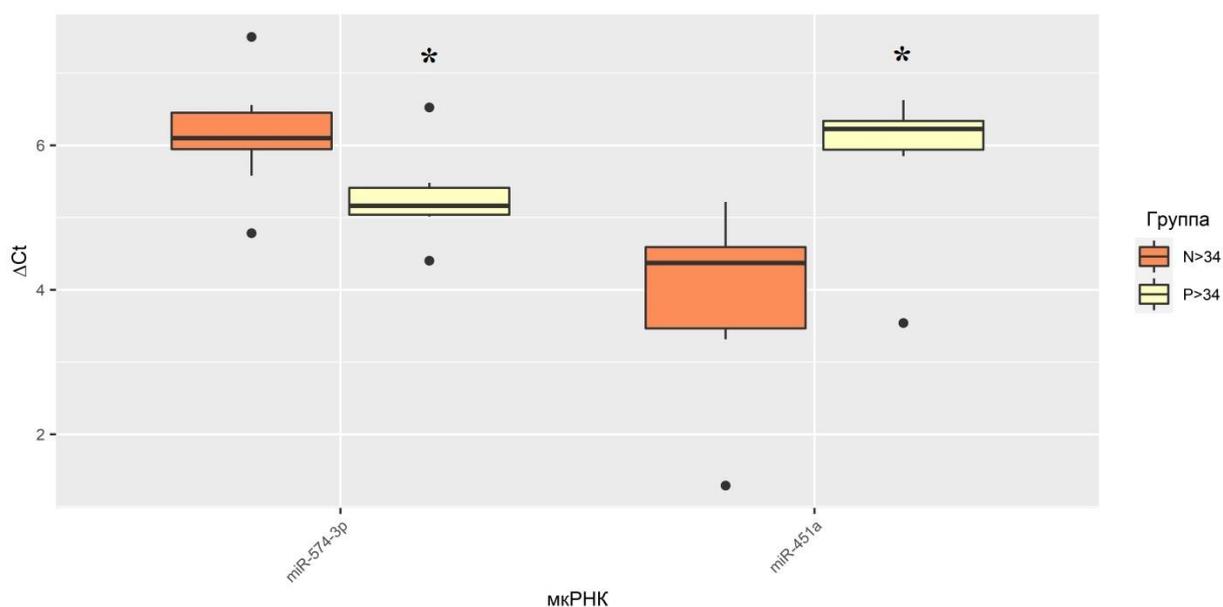


Рис. 19. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-574-3p и miR-451a в образцах ткани плаценты в группе беременных с поздней ЗРП при сопоставлении с группой сравнения. На диаграмме указаны медианы значений ΔC_t , первый и третий квартили, границы статистически значимой выборки, выбросы обозначены точками. * – уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации.

Интересно отметить, что miR-125b-5p и miR-221-3p дифференциально экспрессировались только при ранней ЗРП. Однако, специфичность их экспрессии, характерной только для ранней формы ЗРП, требует проверки на более многочисленной выборке беременных с ЗРП.

Проведенный анализ баз данных (MiRTarBase4.5, DAVID6.8, PANTHER14.1) позволил определить прогнозируемые мишени miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-451a и miR-574-3p, которые связаны с различными осложнениями беременности, в том числе ЗРП, и детерминированы в качестве важных участников в регуляции ряда биологических путей, представленных на рисунке 20.

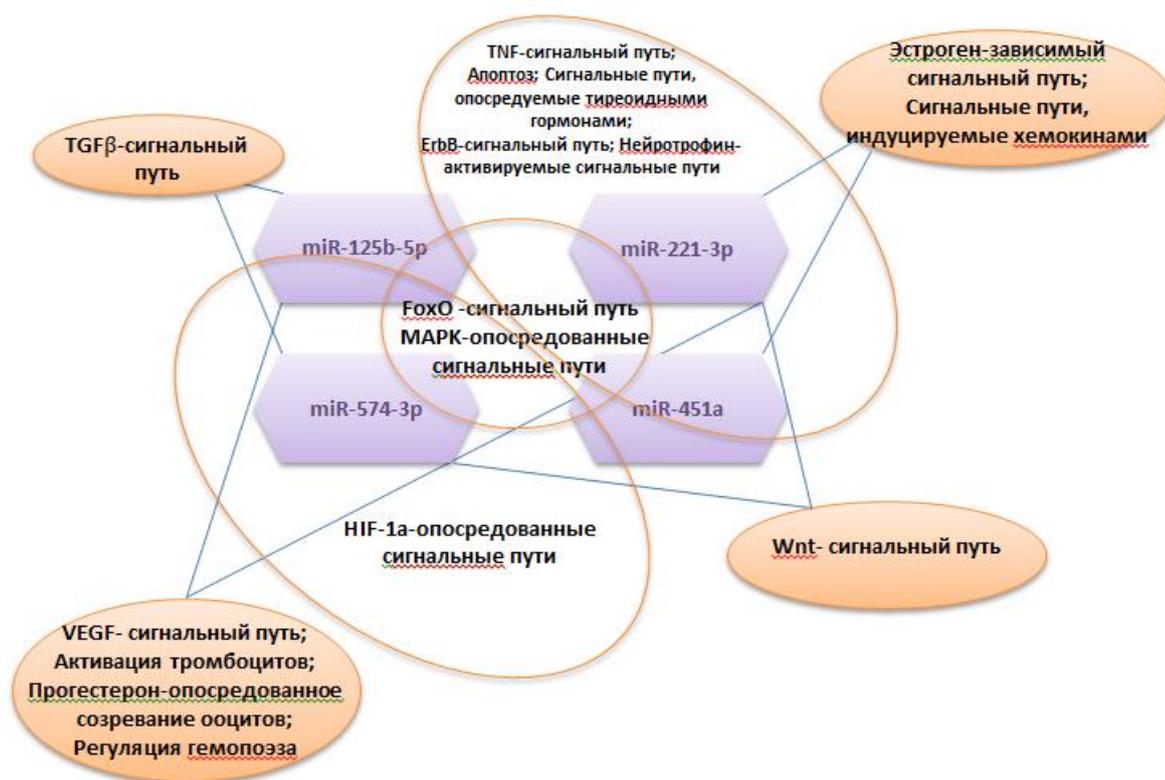


Рис. 20. Участие исследуемых мкРНК в регуляции сигнальных путей. МкРНК, принимающие участие в одинаковых сигнальных путях, объединены овалами. Прямыми линиями указана связь мкРНК с определенными сигнальными путями.

4.4.1. Корреляционный анализ уровня экспрессии мкРНК в плаценте с клиническими показателями беременных и новорожденных с задержкой роста плода

С использованием непараметрического метода ранговой корреляции по Спирмену проведен корреляционный анализ и установлена связь клинических параметров с уровнем экспрессии исследуемых мкРНК в плаценте при ЗРП (Таблица 21).

При ранней ЗРП выявлена прямая корреляционная связь между ΔCt miR-125b-5p, ЦПС ($r=0,73$; $p=0,003$) и ПИ в СМА ($r=0,79$; $p=0,0007$), предполагаемой массой плода по данным УЗИ ($r=0,54$; $p=0,05$) и весом новорожденного ($r=0,56$; $p=0,04$). Установлена положительная корреляционная связь значения ΔCt miR-451a с показателями ПИ в МА ($r=0,62$; $p=0,01$). Значение ΔCt miR-574-3p, по аналогии с ΔCt miR-125b-5p, положительно коррелирует с ПМП по данным УЗИ ($r=0,63$; $p=0,01$) и ЦПС

($r=0,55$; $p=0,04$), а с ПИ в МА установлена отрицательная корреляция ($r=-0,53$; $p=0,05$).

Таблица 21. Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии мкРНК в ткани плаценты с данными доплерометрии и клиническими показателями беременных с ЗРП и новорожденных

Параметры		ЗРП<34 недель	
мкРНК (ΔCt)	Клинические параметры	r^*	p^{**}
miR-125b-5p	ПМП по данным УЗИ	0,54	0,05
	ПИ в СМА	0,79	0,0007
	ЦПС	0,73	0,003
	Вес новорожденного	0,56	0,04
miR-451a	ПИ в МА	0,62	0,01
	Оценка по шкале Апгар на первой минуте	-	-
miR-574-3p	ПМП по данным УЗИ	0,63	0,01
	ПИ в МА	-0,53	0,05
	ЦПС	0,55	0,04

**r - коэффициент ранговой корреляции по Спирмену;*

***p- статистическая значимость корреляции.*

Таким образом, нарушение кровотоков в системе «мать-плацента-плод» ассоциировано с повышением экспрессии miR-574-3p, miR-125b-5p и снижением экспрессии miR-451a в плаценте при ранней ЗРП. При поздней ЗРП значимых корреляций не выявлено.

4.5. Оценка профиля экспрессии циркулирующих мкРНК в плазме пуповинной крови у новорожденных с ранней и поздней задержкой роста плода

Идентификация профилей экспрессии дифференциально-экспрессирующихся мкРНК в пуповинной крови новорожденного, отражающих его состояние, и их сопоставление с профилем экспрессии плацентарных мкРНК может служить основой для поиска прогностических и диагностических маркеров. На основании выявленных достоверных изменений уровней экспрессии мкРНК (miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-451a и miR-574-3p) в плаценте при ранней и поздней ЗРП, нами была оценена экспрессия вышеуказанных мкРНК в плазме пуповинной крови новорожденных от матерей с ЗРП, родоразрешение которых осуществляли до и после 34 недель гестации, а также в группе сравнения соответствующего срока беременности. Кроме этого, был оценен уровень экспрессии miR-30b-5p, которая регулирует фермент антиоксидантной системы каталазу (САТ) и miR-27a-3p, являющейся регулятором ядерного транскрипционного фактора NRF2 - инициатора транскрипции генов антиоксидантных белков.

Анализ дифференциальной экспрессии показал, что в образцах плазмы пуповинной крови в группе беременных с ранней ЗРП ($P < 34$) различия уровней экспрессии исследуемых мкРНК при сопоставлении с соответствующей группой сравнения были статистически не значимы, а в группе беременных с поздней ЗРП ($P > 34$) отмечалось повышение уровня экспрессии miR-451a ($p < 0,001$) относительно группы сравнения (рис.21 а и б).

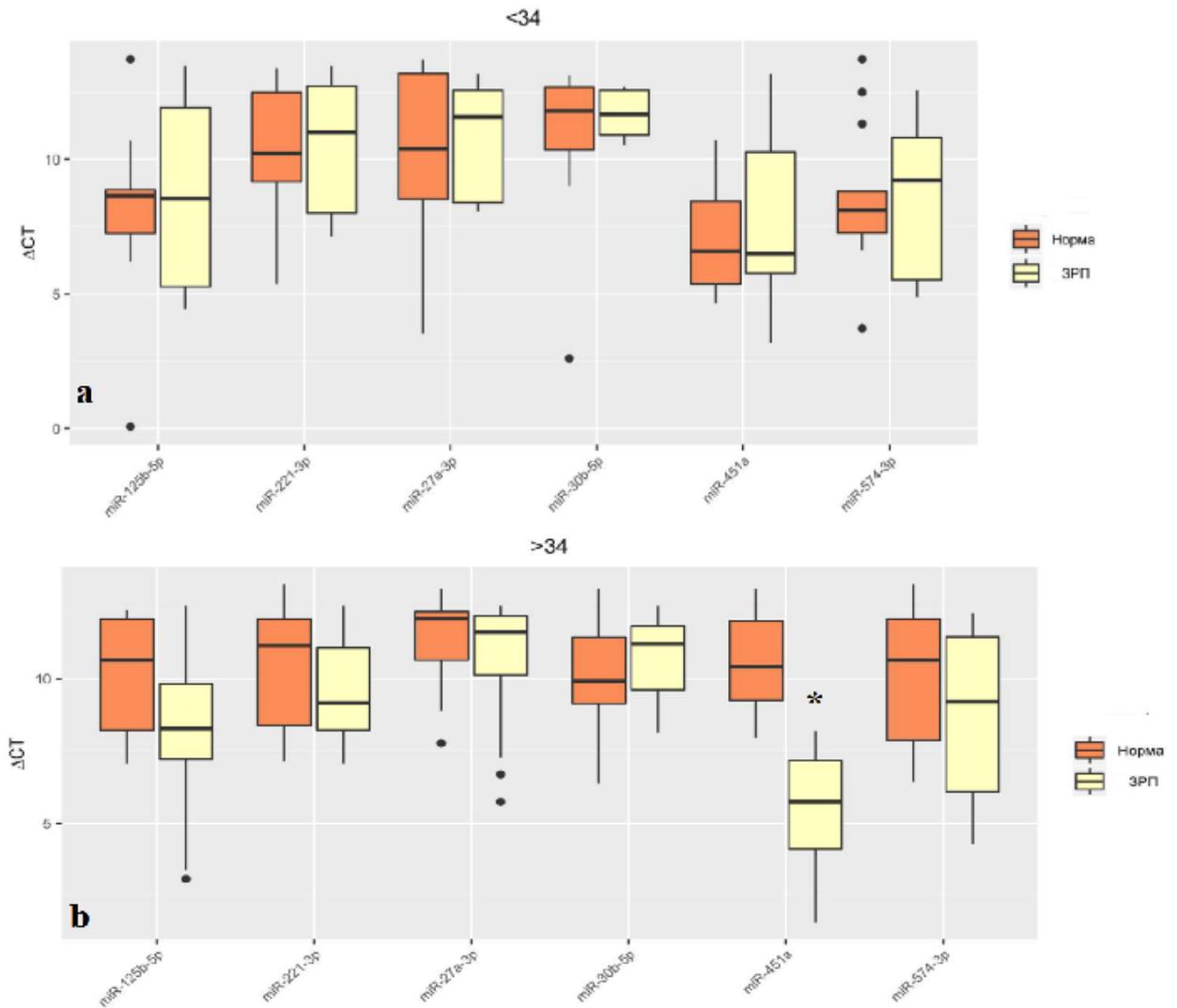


Рис.21. Сравнительный анализ уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-27a-3p, miR-30b-5p, miR-451a и miR-574-3p в образцах плазмы пуповинной крови в группе беременных с ранней (а) и поздней (б) ЗРП. На диаграмме указаны медианы значений ΔCt , первый и третий квартили, границы статистически значимой выборки, выбросы обозначены точками. * – уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации.

4.5.1. Корреляционный анализ уровня экспрессии мкРНК в пуповинной крови с клиническими показателями беременных и новорожденных с задержкой роста плода

Поскольку, одним из важных этапов развития плаценты является формирование адекватной сосудистой системы, изменения, происходящие в плацентарной микроциркуляции, могут отражать взаимосвязь между экспрессией мкРНК в сосудах пуповины, данными доплерометрии маточно-плацентарного комплекса и клиническими параметрами при ЗРП. В связи с чем, был проведен корреляционный анализ с использованием

непараметрического метода ранговой корреляции по Спирмену в группе беременных с ранней и поздней манифестацией ЗРП и новорожденных (таблица 22).

Таблица 22. Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии мкРНК в пуповинной крови с данными доплерометрии, клиническими показателями беременных с ЗРП и новорожденных

Параметры		ЗРП < 34 недель		ЗРП > 34 недель	
мкРНК (ΔCt)	Клинические параметры	r^*	p^{**}	r^*	p^{**}
miR-125b-5p	Уровень тромбоцитов беременной	-	-	-0,51	0,005
	Уровень мочевины беременной	-	-	-0,38	0,04
	ПИ в ПА	-	-	-0,54	0,03
	Вес новорожденного	-	-	0,41	0,03
	ВЖК (нейросонография)	-0,78	0,02	-	-
miR-451a	Протромбин по Квику беременной	-	-	-0,46	0,01
	ПСП (КТГ)	-	-	-0,38	0,04
	ПИ в ПА	-	-	-0,59	0,001
	ЦПС	-	-	0,48	0,009
	ВЖК (нейросонография)	-	-	0,52	0,04

* r - коэффициент ранговой корреляции по Спирмену;

** p - статистическая значимость корреляции.

В группе беременных с ранней ЗРП установлена высокая отрицательная корреляция между значением ΔCt miR-125b-5p в плазме пуповинной крови и наличием ВЖК у новорождённых ($r=-0,78$, $p=0,02$). При оценке корреляционных связей в группе беременных с поздней ЗРП выявлены отрицательные корреляции между значением ΔCt miR-125b-5p, уровнем тромбоцитов беременной ($r=-0,51$, $p=0,005$), а также ПИ в ПА ($r=-0,54$, $p=0,03$). Как было показано ранее, повышение ПИ в ПА может быть обусловлено увеличением периферического сопротивления плаценты за счет уменьшения васкуляризации терминальных ворсин и, таким образом, напрямую связано с неблагоприятными перинатальными исходами [232]. В нашем исследовании среднее значение ПИ в ПА в группе беременных с ЗРП составило $1,52\pm 0,57$, а в группе сравнения - $0,95\pm 0,25$ ($p=0,001$), соответственно. Со значением ΔCt miR-125b-5p в данной группе положительно коррелировал ($r=0,41$, $p=0,03$) параметр веса ребенка при рождении. Показатели веса в группе ЗРП составили: $1557,2\pm 607,1$ гр., в группе сравнения - $2416,3\pm 649,1$ гр. ($p=0,04$), соответственно.

Значимые корреляции ΔCt miR-451a с клиническими параметрами и данными доплерометрии выявлены при поздней ЗРП: показателем свертывающей системы крови (протромбин по Квику - $r=-0,46$, $p=0,01$), с ПСП ($r=-0,38$, $p=0,04$) и так же, как miR-125b-5p, с ПИ в ПА ($r=-0,59$, $p=0,001$). Чем меньше значение ΔCt , тем выше уровень экспрессии исследуемой мкРНК. Следовательно, повышение уровня экспрессии miR-451a может способствовать увеличению ПСП и ПИ в ПА. При этом, ΔCt miR-451a положительно коррелирует с параметром ЦПС ($r=0,48$, $p=0,009$): средние значения ЦПС в группе с поздней ЗРП и группе сравнения составили: $1,5\pm 0,5$ и $2,1\pm 0,2$ ($p=0,01$), соответственно (параметр ЦПС в пределах нормы > 1). При оценке корреляционных связей с параметрами оценки состояния новорожденного выявлена положительная корреляция между значением ΔCt miR-451a и наличием ВЖК по данным нейросонографии ($r=0,52$, $p=0,04$). В дополнение, проведен анализ

взаимосвязей между значением ΔCt исследуемых мкРНК, параметрами КОС и газового состава пуповинной крови у новорожденных. Однако, значимых различий не обнаружено.

Принимая во внимание установленные корреляции между уровнем экспрессии miR-125b-5p, miR-451a, данными по оценке микроциркуляции сосудистой системы плаценты, церебральной гемодинамики плода и перинатальных исходов, нам представилось интересным оценить участие указанных мкРНК в сигнальных путях посредством регуляции целевых генов. С использованием биоинформатических баз данных (MiRTarBase4.5, DAVID6.8, PANTHER14.1) был проведен поиск генов-мишеней и определен ряд путей, представленных на рисунке 22.

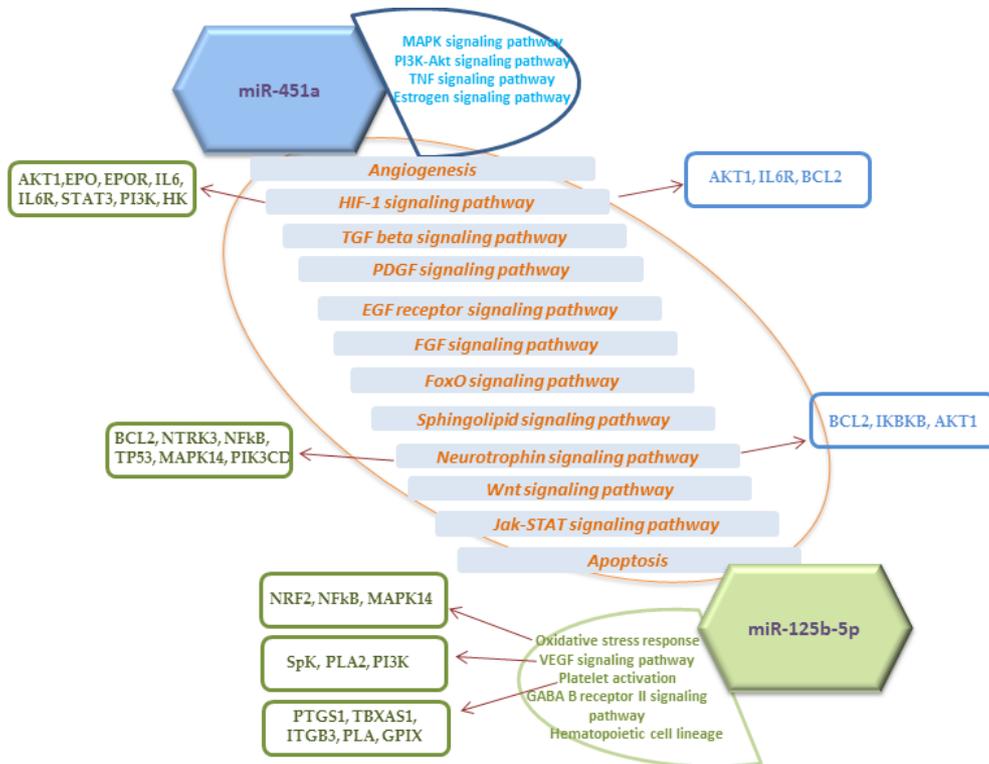


Рис. 22. Участие miR-125b-5p и miR-451a в регуляции сигнальных путей, опосредованных окислительным стрессом ($p \leq 0.05$). Пути, объединённые овалом, являются общими для miR-125b-5p и miR-451a. В полуовалах указаны сигнальные пути, специфичные для определенной мкРНК. В блоках со стрелками указаны целевые гены, регулируемые указанными мкРНК, и принимающие участие в соответствующих сигнальных путях. Цветовое обозначение блоков соответствует цветовому обозначению фигуры с названием мкРНК.

Сигнальные пути: путь ответа на гипоксию через HIF (HIF-1 signaling pathway), трансформирующего фактора роста β (TGF- β signaling pathway), тромбоцитарного фактора роста (PDGF signaling pathway), рецептора эпидермального фактора роста (EGF receptor signaling pathway), фактора роста фибробластов (FGF signaling pathway), транскрипционного фактора FoxO (FoxO signaling pathway), с участием сфинголипидов (Sphingolipid signaling pathway), регулируемый нейротрофинами (Neurotrophin signaling pathway), Wnt - сигнальный путь (Wnt signaling pathway), путь янус-киназы/переносчиков сигнала и активаторов транскрипции (Jak-STAT signaling pathway).

Названия генов, потенциально регулируемых исследуемыми мкРНК: серин/треонин киназа (AKT1), эритропоэтин (EPO) и рецептор эритропоэтина (EPOR), интерлейкин-6 (IL6) и рецептор интерлейкина-6 (IL6R), переносчик сигнала и активатор транскрипции-3 (STAT3), фосфоинозитид-3-киназа (PI3K), гексокиназа (HK), регулятор апоптоза (BCL2), нейротрофического рецептора тирозинкиназы типа 3 (NTRK3), ядерный транскрипционный фактор каппа В (NF κ B) В, опухолевый протеин P53 (TP53), митоген активированная протеинкиназа 14 (MAPK14), каталитическая субъединица дельта фосфатидилинозитол-4,5-бифосфонат-3-киназы (PIK3CD), (IKK β) ингибитор киназы ядерного фактора каппа В субъединица бета, ядерный транскрипционный эритроид2-связанный фактор 2 (NRF2), сфингозинкиназа (SpK), (PTGS1) is a простагландин-эндопероксид синтаза 1, тромбоксан-А синтаза 1 (TBXAS1, интегрин субъединица бета-3 (ITGB3), гликопротеин IIIa тромбоцитов (Platelet Glycoprotein IIIa), активатор плазминогена (PLA), гликопротеин IX тромбоцитов (GPIX).

Было отмечено значительное число общих ключевых сигнальных путей для исследуемых мкРНК, среди которых акцентируют внимание связанные с ангиогенезом, ответом на гипоксию (HIF-1 signaling pathway), различными факторами роста (PDGF signaling pathway, EGF receptor signaling pathway, FGF signaling pathway, TGF- β signaling pathway), дифференцировкой и

выживанием нейронов (Neurotrophin signaling pathway) с вовлеченными в них генами.

При этом, среди путей, специфичных для miR-125b-5p, определены пути, связанные с ответом на окислительный стресс, с регуляцией васкулогенеза и ангиогенеза (VEGF signaling pathway), активацией тромбоцитов, ингибированием и высвобождением нейротрансмиттеров (GABA B receptor II signaling), и гемопоэзом (Hematopoietic cell lineage). А для miR-451a – один из ключевых путей, при участии которого активируется пролиферация эндотелиальных клеток в ангиогенезе и регулируется синаптическая пластичность нейронов (MAPK signaling pathway), а также путь, связанный с ОС (PI3K-Akt signaling pathway (phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) and Protein Kinase B (Akt)), и регуляцией иммунных клеток (TNF signaling pathway).

4.5.2. Оценка прогностической значимости исследуемых мкРНК в плазме пуповинной крови в отношении риска развития ВЖК у новорожденных с ранней и поздней задержкой роста плода

Учитывая превалирование ВЖК у новорожденных в основной группе и в связи с установленными корреляциями значений экспрессии miR-125b-5p и miR-451a с данной патологией были разработаны модели логистической регрессии для оценки прогностической значимости исследуемых мкРНК в отношении риска развития ВЖК у новорожденных с ранней и поздней ЗРП.

ROC-анализ продемонстрировал, что определение уровня экспрессии miR-125b-5p в плазме пуповинной крови новорожденных с ранней ЗРП и использование модели логистической регрессии позволяет с чувствительностью (67%) и специфичностью (100%) (AUC=0,9) предсказывать вероятность развития ВЖК у новорожденных с ранней формой ЗРП. При этом пороговым значением (D) следует считать равное 0,72 (рис.23).

$$D = \frac{1}{1 + e^{-i - k_{miR125b} * \Delta Ct_{miR125b}}},$$

где i – свободный член ($i=3,67$),

$k_{miR125b-5p}$ – коэффициент для мкРНК ($k=-0,52$),

$\Delta Ct_{miR125b-5p}$ – ΔCt соответствующей мкРНК.

ΔCt	Пороговое значение (D)	Чувствительность	Специфичность	AUC
mir125b-5p	0,72	0,67	1	0,9

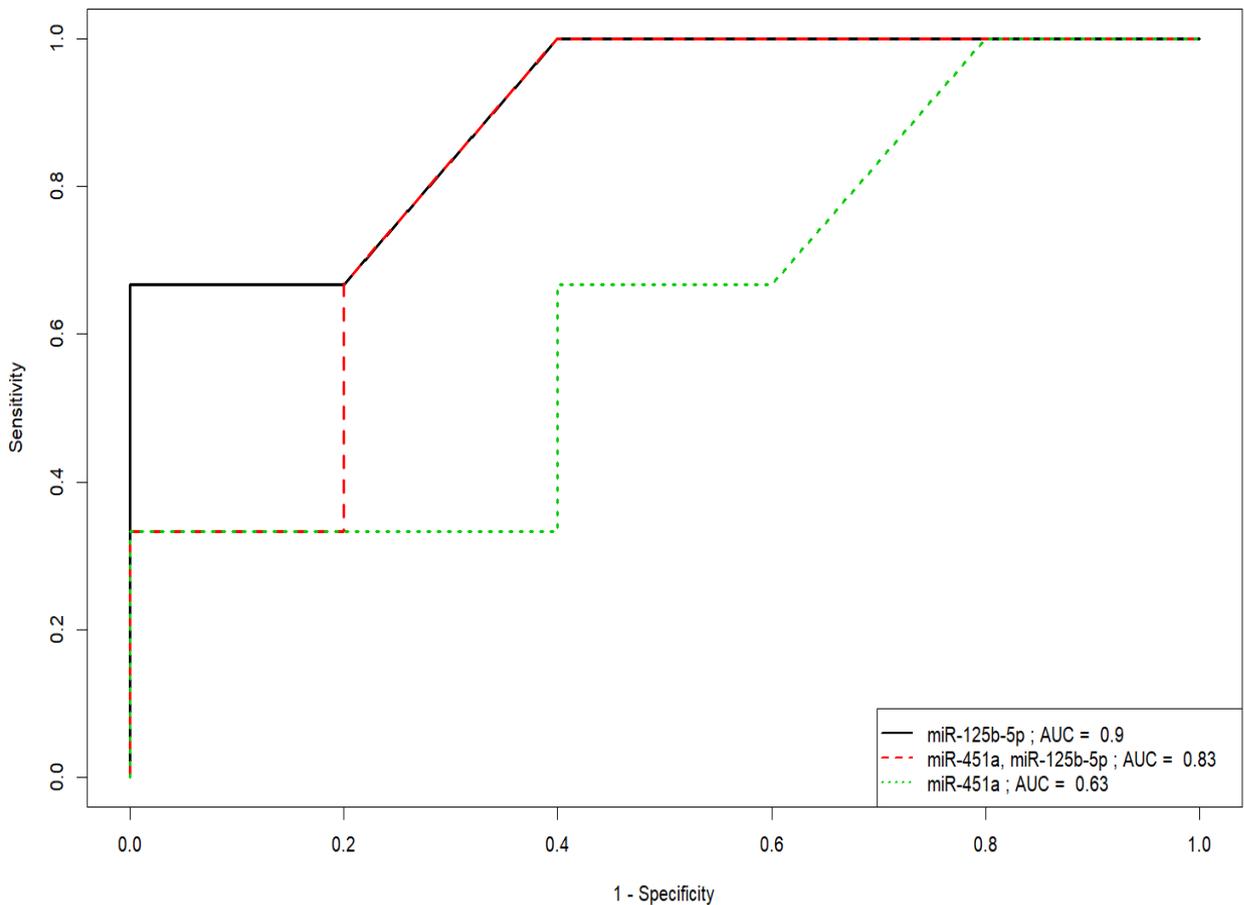


Рисунок 23. ROC-кривая модели логистической регрессии для уровня экспрессии miR-125b-5p в плазме пуповинной крови новорожденных с ранней формой ЗРП. На графике указано значение AUC.

$$D = \frac{1}{1 + e^{-i - k_{miR125b} * \Delta Ct_{miR125b} - k_{miR451a} * \Delta Ct_{miR451a} - k_{miR30b} * \Delta Ct_{miR30b} - k_{miR27a} * \Delta Ct_{miR27a}}},$$

где i – свободный член ($i = -11318,24$),

k – коэффициент для соответствующей мкРНК: $k_{miR125b-5p}$ ($k = 918,98$), $k_{miR-451a}$ ($k = 529,81$), $k_{miR-30b-5p}$ ($k = 958,81$), $k_{miR-27a-3p}$ ($k = 1405,39$).

$\Delta Ct_{miR125b-5p}$, $\Delta Ct_{miR-451a}$, $\Delta Ct_{miR-30b-5p}$, $\Delta Ct_{miR-27a-3p}$ – ΔCt соответствующей мкРНК.

ΔCt	Пороговое значение (D)	Чувствительность	Специфичность	AUC
miR125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p	0,25	1	0,91	0,98

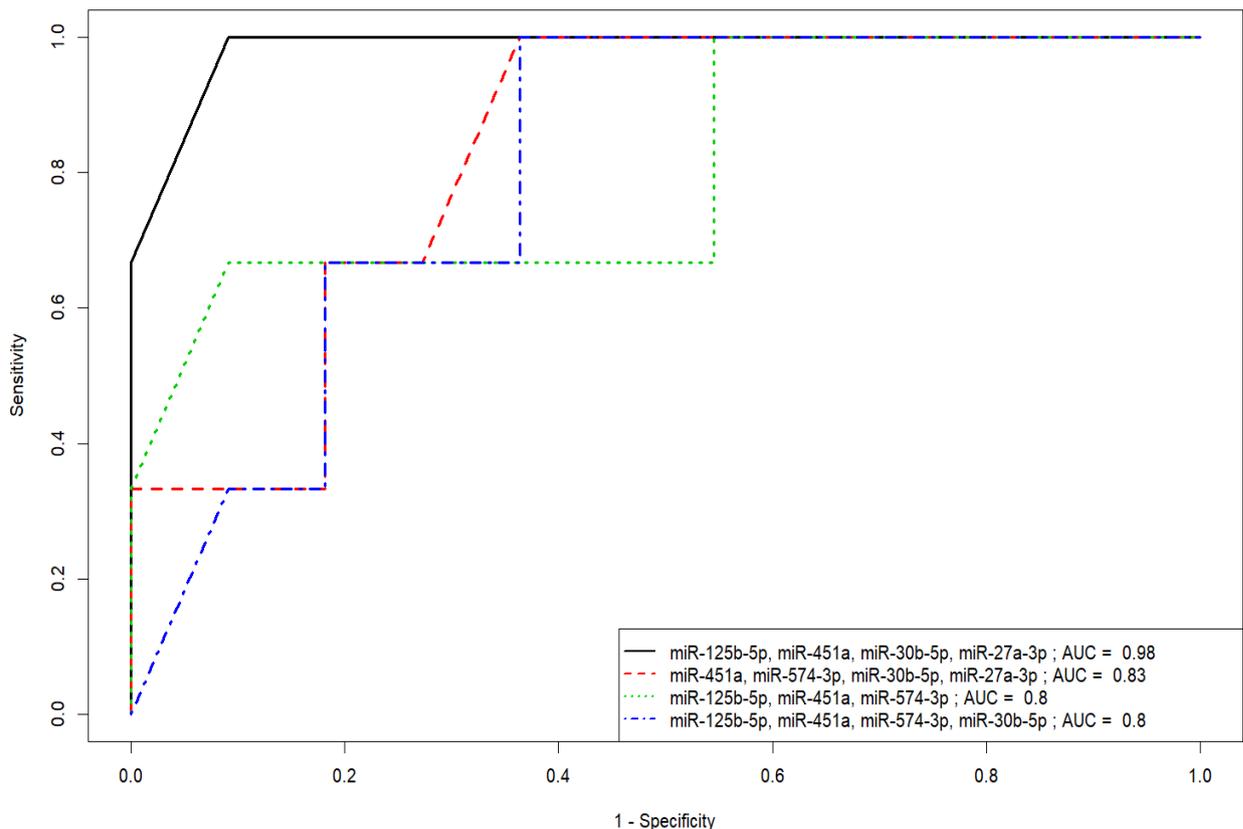


Рисунок 24. ROC-кривая модели логистической регрессии для уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p в плазме пуповинной крови новорожденных с поздней формой ЗП. На графике указано значение AUC.

Следует отметить, что в модель для поздней ЗРП были включены мкРНК – miR-27a-3p и miR-30b-5p, регулирующие экспрессию антиоксидантных генов (рис.24).

Проведенный ROC-анализ показал, что определение уровня экспрессии miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p в плазме пуповинной крови новорожденных с поздней ЗРП и использование разработанной модели логистической регрессии позволяет с высокой чувствительностью (100%) и специфичностью (91%) ($AUC=0,98$) предсказывать вероятность развития ВЖК у новорожденных с поздней формой ЗРП. При этом пороговым значением (D) следует считать равное 0,25.

4.6. Функциональное состояние про- и антиоксидантных систем матери и плода

Поскольку активные формы кислорода являются важнейшими сигнальными молекулами, контролирующими практически все аспекты жизни клетки, их регулируемая продукция является неотъемлемым компонентом физиологической беременности [134]. Дисбаланс продукции и утилизации АФК, выражающийся в изменении стационара скоростей противоположно ориентированных процессов (свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты) способствует запуску патологических реакций, приводящих к гестационным осложнениям [121]. В результате этого дисбаланса происходит формирование и установление патологического цикла событий: «аномальная плацентация – снижение маточно-плацентарного кровотока – гипоксия/реоксигенация – неконтролируемый окислительный стресс на фоне снижения антиоксидантной защиты – дисфункция плаценты», приводящего, в конечном итоге, к задержке роста плода.

Несмотря на множество выполненных в этой области исследований [36–39], данные по выявлению маркеров тканевых окислительных повреждений при ранней и поздней ЗРП ограничены и зачастую

противоречивы. Ввиду чего в нашей работе было изучено функциональное состояние про- и антиоксидантной систем матери и плода на основе определения продуктов ПОЛ (МДА и 4-ГН), неферментных (глутатион) и ферментных (каталаза, СОД, ГП) антиоксидантных систем в ткани плаценты, плазме пуповинной крови плода и в плазме периферической крови матери. Принимая во внимание различный патогенез ранней и поздней ЗРП, оценка проводилась с учетом ее форм.

4.6.1. Окислительный статус тканей плаценты беременных исследуемых групп

В ходе исследования проведено определение уровня окислительного стресса в группах сравнения, которые составили беременные, не имевшие ЗРП, родоразрешенные до (группа сравнения 1) и после 34 недель гестации (группа сравнения 2). Сравнительный анализ выявил повышенный уровень МДА и 4-ГН в плаценте беременных группы сравнения 2 относительно группы сравнения 1: МДА – $30,0 \pm 4,7$ нмоль/мг и $21,0 \pm 4,4$ нмоль/мг ($p < 0,001$); 4-ГН – $19,3 \pm 5,0$ нмоль/мг и $11,6 \pm 2,0$ нмоль/мг ($p < 0,001$), соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о нарастании окислительного стресса с увеличением срока физиологически протекающей беременности, что согласуется с данными литературы [233, 234]. Сравнительные характеристики представлены на рисунке 25 и в таблице 23.

Определение МДА и 4-ГН в тканях плаценты у беременных с ранней и поздней ЗРП продемонстрировало достоверные различия в их содержании (рис. 25, табл. 23).

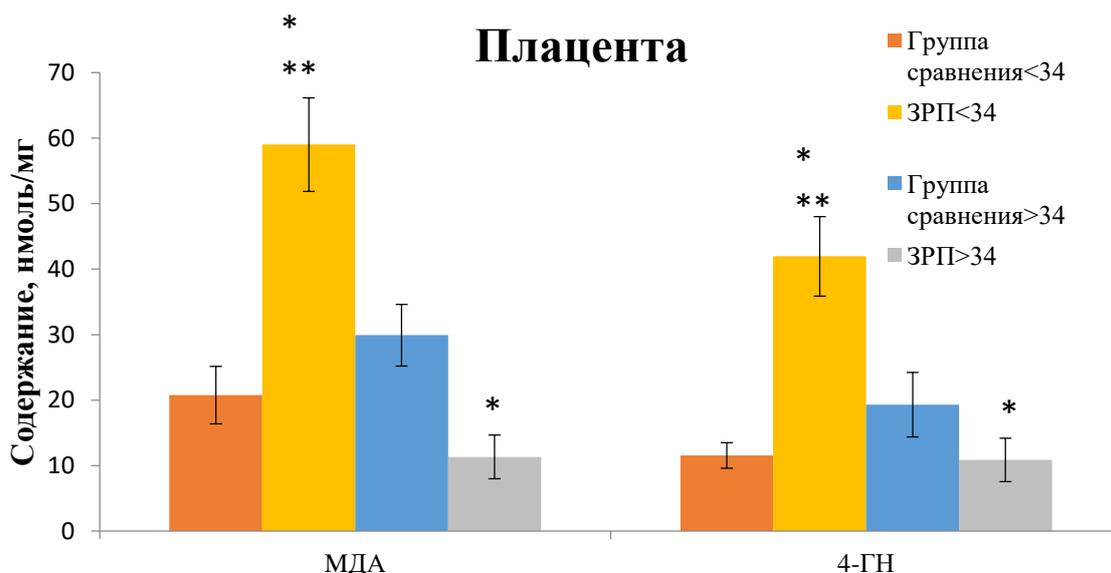


Рис. 25. Содержание МДА и 4-ГН в тканях плаценты беременных в исследуемых группах. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 23. Показатели уровня МДА и 4-ГН в тканях плаценты беременных исследуемых групп.

Исследуемые группы	МДА, нмоль/мг	4-ГН, нмоль/мг
рЗРП	59,0 \pm 7,1***	42,0 \pm 6,0***
пЗРП	11,3 \pm 3,3*	11,0 \pm 3,3*
Группа сравнения 1	21,0 \pm 4,4	11,6 \pm 2,0
Группа сравнения 2	30,0 \pm 4,7	19,3 \pm 5,0

Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Следует отметить, что при ранней ЗРП уровень ПОЛ в плацентарной ткани практически в три раза выше показателей группы сравнения 1. Однако, при поздней ЗРП, содержание МДА и 4-ГН достоверно ниже, чем в группе сравнения 2: МДА – 11,3 \pm 3,3 нмоль/мг и 30,0 \pm 4,7 нмоль/мг ($p < 0,001$); 4-ГН - 11,0 \pm 3,3 нмоль/мг и 19,3 \pm 5,0 нмоль/мг ($p < 0,001$), соответственно. При сопоставлении показателей для ранней и поздней ЗРП, уровни МДА и 4-ГН были значимо выше в плаценте беременных с ранней ЗРП относительно

поздней ЗРП: МДА - $59,0 \pm 7,1$ нмоль/мг и $11,3 \pm 3,3$ нмоль/мг ($p < 0,001$); 4-ГН - $42,0 \pm 6,0$ нмоль/мг и $11,0 \pm 3,3$ нмоль/мг ($p < 0,001$), соответственно.

Для оценки антиоксидантного статуса в экстрактах ткани плаценты определяли активность и содержание ферментов: каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и активность глутатионпероксидазы (ГП). Данные представлены на рисунках 26,27 и в таблице 24.

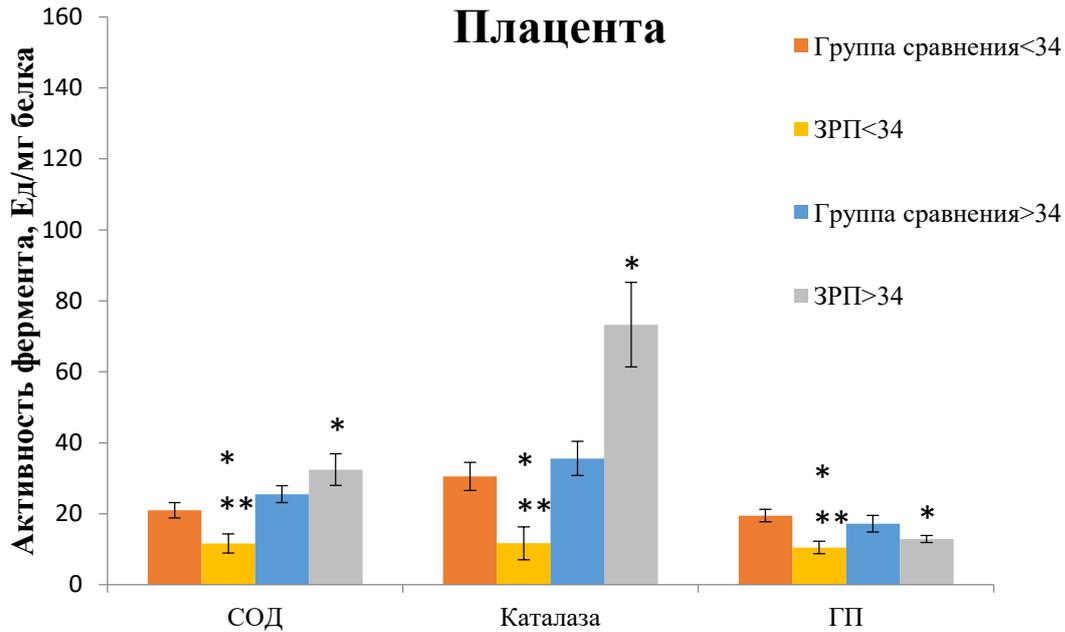


Рис. 26. Ферментативная активность СОД, каталазы и ГП в тканях плаценты беременных исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

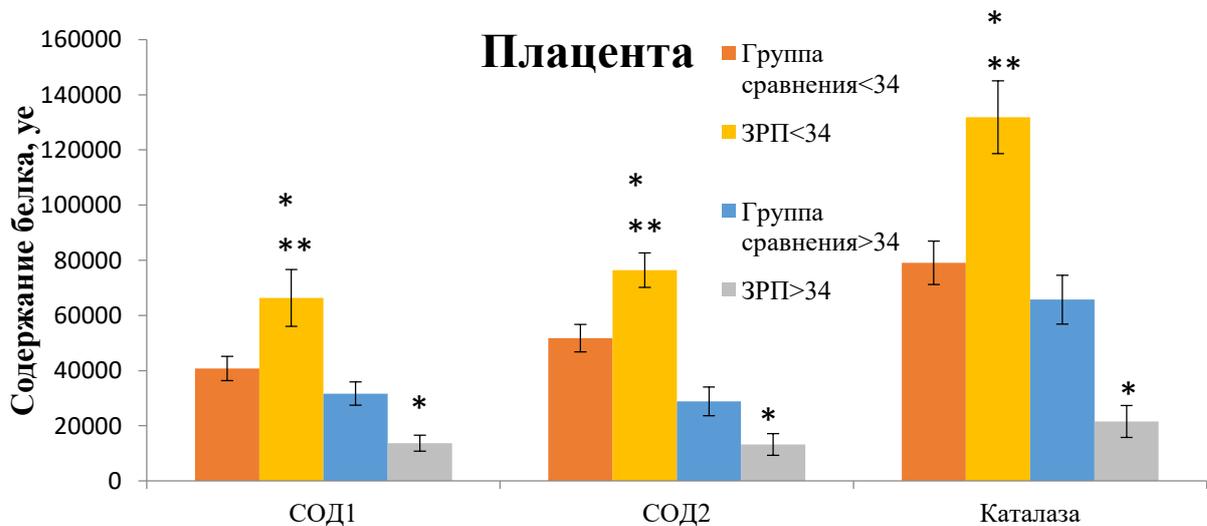


Рис. 27. Содержание каталазы, СОД1 и СОД2 в тканях плаценты беременных исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение.

отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 24. Показатели активности СОД, каталазы, ГП и содержания СОД1, СОД2, каталазы в экстрактах ткани плаценты беременных исследуемых групп.

Параметры	рЗРП	пЗРП	Группа сравнения 1	Группа сравнения 2
Активность СОД, Ед/мг белка	11,6±2,7***	32,4±4,4*	21,0±2,2	25,5±2,4
Активность каталазы, Ед/мг белка	11,7± 4,6***	73,3±11,9*	30,5±4,0	35,6±4,7
Активность ГП, Ед/мг белка	10,5±1,7***	12,9±1,0*	19,5±1,7	17,2±2,4
Содержание СОД1, у.е.	66352±10277***	13698±2848*	40762±4435	31664±4192
Содержание СОД2, у.е.	76409±6256***	13266±3936*	51757±5023	28845± 5189
Содержание каталазы, у.е.	131883±13206***	21523±5808*	79070±7881	65739±8875

Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Сравнительный анализ выявил значимое снижение активности антиоксидантных ферментов в группе ранней ЗРП относительно группы сравнения 1, а также поздней ЗРП: СОД, Ед/мг белка (11,6±2,7; 21,0±2,2; 32,4±4,4, соответственно), каталазы, Ед/мг белка (11,7± 4,6; 30,5±4,0;

73,3±11,9, соответственно), ГП, Ед/мг белка (10,5±1,7; 19,5±1,7; 12,9±1,0, соответственно).

Интересно отметить, что при поздней ЗРП активность тканевых СОД и каталазы была выше, чем для группы сравнения 2 ($p<0,001$): СОД, Ед/мг белка (32,4±4,4 и 25,5±2,4, соответственно); каталаза, Ед/мг (73,3±11,9 и 35,6±4,7, соответственно). А активность ГП при сопоставлении с группой сравнения 2 - снижена: 12,9±1,0 и 17,2±2,4 Ед/мг, соответственно. Проанализировано содержание каталазы, а также изоформ супероксиддисмутазы (цитоплазматической СОД1 и митохондриальной СОД2). Данные представлены на рисунке 27 и таблице 24.

При ранней ЗРП отмечали повышенное содержание вышеуказанных ферментов относительно группы сравнения 1: СОД1 – 66352±10277 и 40762±4435 у.е.; СОД2 – 76409±6256 и 51757±5023; каталаза – 131883±13206 и 79070±7881. При поздней ЗРП содержание данных ферментов было достоверно снижено ($p<0,001$) относительно группы сравнения 2: СОД1 – 13698±2848 и 31664±4192 у.е.; СОД2 – 13266±3936 и 28845± 5189 у.е.; каталаза – 21523±5808 и 65739±8875 у.е., соответственно.

Одним из неферментных биоантиоксидантов, входящих в систему антиоксидантной защиты, является глутатион. Его общее содержание (Глут_{общ.}) отражает антиоксидантный и детоксификационный потенциал клетки, в то время, как соотношение восстановленной (Глут_{восст.}) и окисленной (Глут_{ок.}) форм характеризует эффективность неферментативной антиоксидантной защиты. Результаты измерения содержания глутатиона в тканях плаценты представлены на рисунках 28, 29 и в таблице 25.

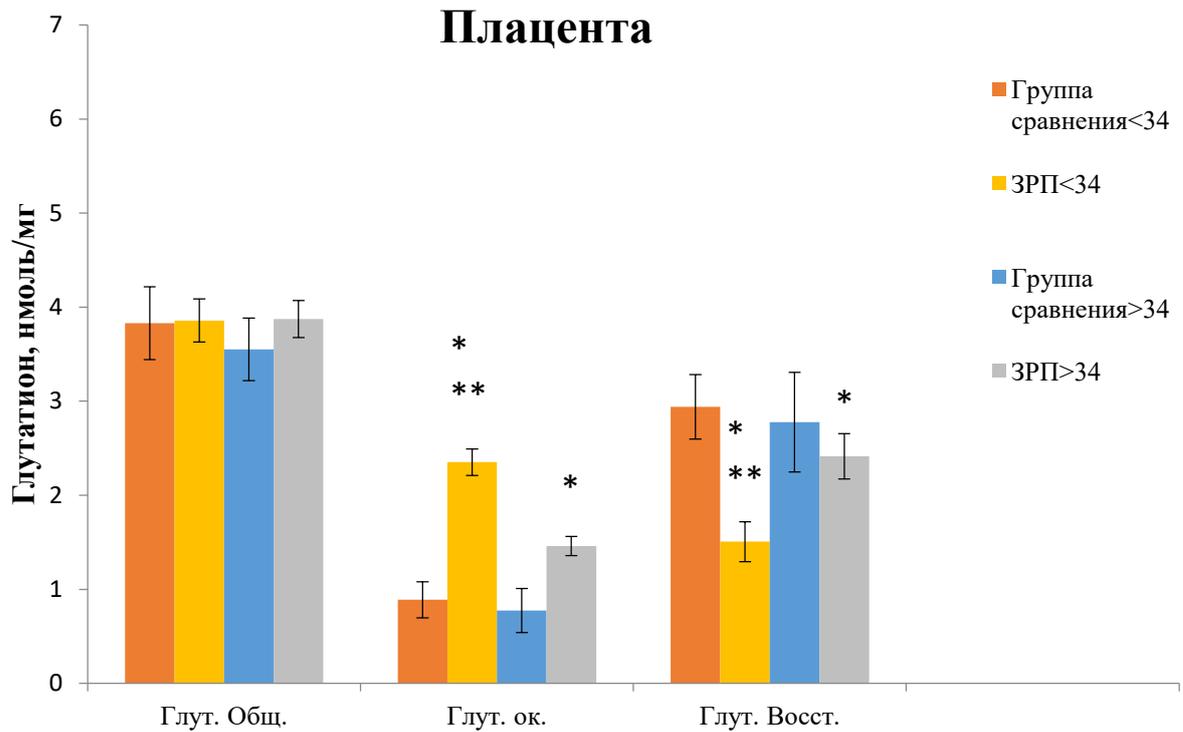


Рис. 28. Содержание глутатиона в тканях плаценты исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

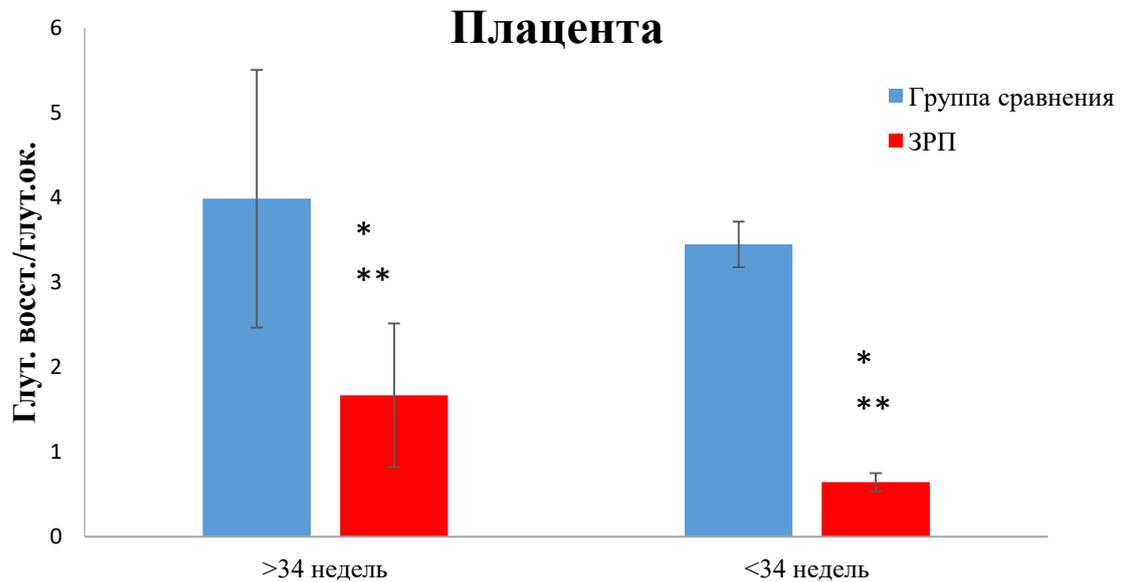


Рис. 29. Соотношение глутатиона восстановленного к глутатиону окисленному в тканях плаценты исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 25. Показатели содержания общего глутатиона, соотношения его восстановленной и окисленной форм в тканях плаценты исследуемых групп.

Исследуемые группы	Глут _{общ.} нмоль/мг	Глут _{восст.} нмоль/мг	Глут _{ок.} нмоль/мг	Глут _{восст.} /Глут _{ок.}
рЗРП	3,9±0,2	1,5±0,2***	2,4±0,1***	0,6±0,1***
Группа сравнения 1	3,8±0,4	2,9±0,3	0,9±0,2	3,4±0,8
пЗРП	3,8±0,2	2,4±0,3*	1,5±0,1*	1,7±0,3*
Группа сравнения 2	3,6±0,3	2,8±0,5	0,8±0,2	4,0±1,5

Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

При анализе содержания общего глутатиона между группами с ЗРП и соответствующими группами сравнения не было выявлено статистически значимых различий. Уровень Глут_{восст.} достоверно выше ($p < 0,001$) в группе поздней ЗРП (2,4±0,3 нмоль/мг), чем при ранней ЗРП (1,5±0,2 нмоль/мг), в то время как, содержание Глут_{ок.}, напротив, было повышено при ранней ЗРП относительно группы сравнения 1 и поздней ЗРП (2,4±0,1; 0,9±0,2; 1,5±0,1 нмоль/мг, соответственно). Соотношение Глут_{восст.}/Глут_{ок.} при ранней и поздней ЗРП было снижено относительно групп сравнения 1 и 2 ($p < 0,001$): 0,6±0,1 и 3,4±0,8; 1,7±0,3 и 4,0±1,5, соответственно.

4.6.2. Окислительный статус плазмы пуповинной крови исследуемых групп

Дисбаланс про- и антиоксидантной систем рассматривается в качестве одного из важных факторов в этиопатогенезе перинатальной гипоксии. У новорожденных, родившихся ранее 34 недель гестации, отмечается повышенная генерация АФК и окисление липидов плазмы крови сразу после

рождения [235]. Ввиду чего, в нашей работе была оценена активность антиоксидантных ферментов и уровень маркеров окислительных повреждений у новорожденных с ЗРП. Данные представлены на рисунках 30-34 и в таблице 26.

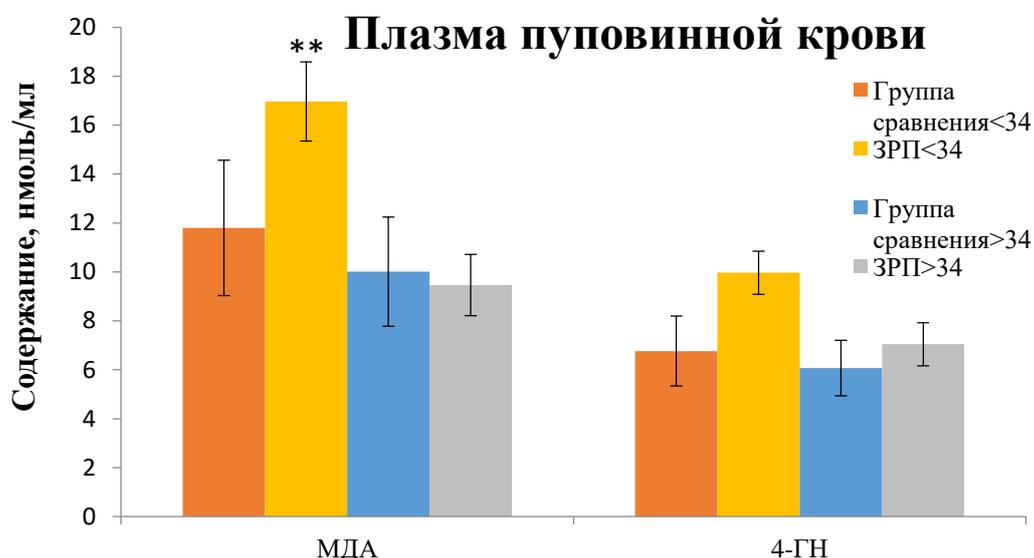


Рис. 30. Содержание МДА и 4-ГН в плазме пуповинной крови. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 26. Показатели содержания МДА и 4-ГН в плазме пуповинной крови новорожденных исследуемых групп.

Исследуемые группы	МДА, нмоль/мл	4-ГН, нмоль/мл
рЗРП	17,0 \pm 2,2**	10,0 \pm 1,1
пЗРП	9,5 \pm 1,3	7,0 \pm 0,9
Группа сравнения 1	11,8 \pm 2,8	6,8 \pm 1,4
Группа сравнения 2	10,0 \pm 1,6	6,1 \pm 0,9

Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Достоверные отличия по уровню маркеров окислительного стресса в плазме пуповинной крови наблюдали между группами ранней и поздней ЗРП только для МДА: 17,0 \pm 2,2 и 9,5 \pm 1,3 нмоль/мл, соответственно.

Данные об оценке функционального состояния антиоксидантной системы новорожденных представлены на рисунках 31-34 и в таблице 27.

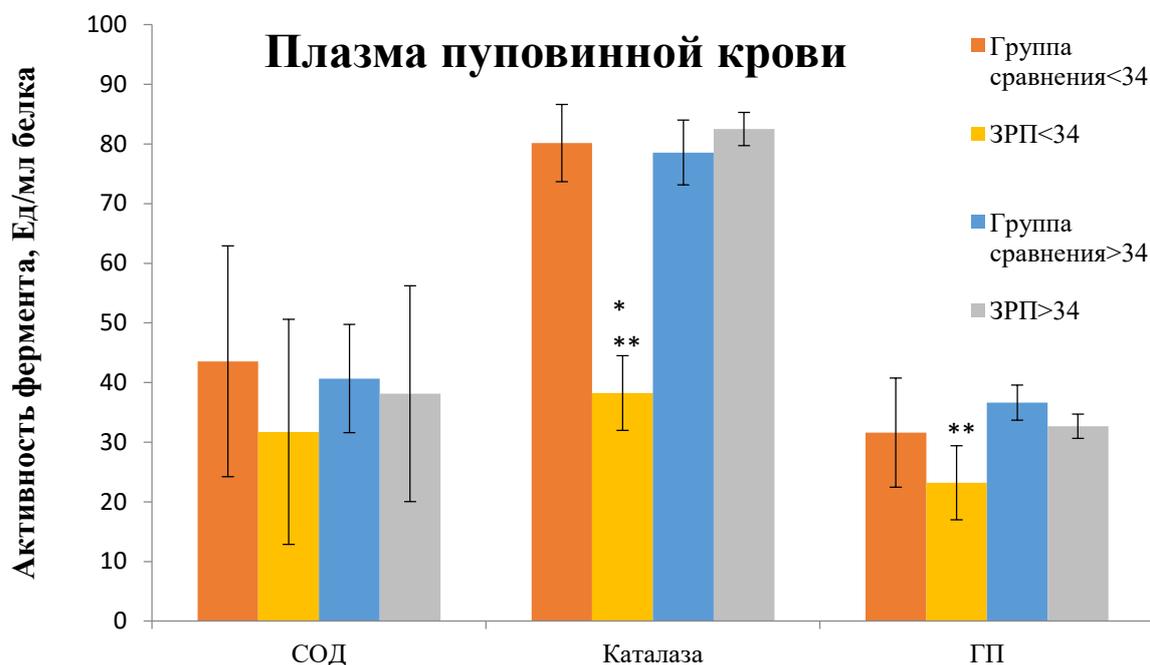


Рис.31. Активность СОД, каталазы, ГП в плазме пуповинной крови в исследуемых группах. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

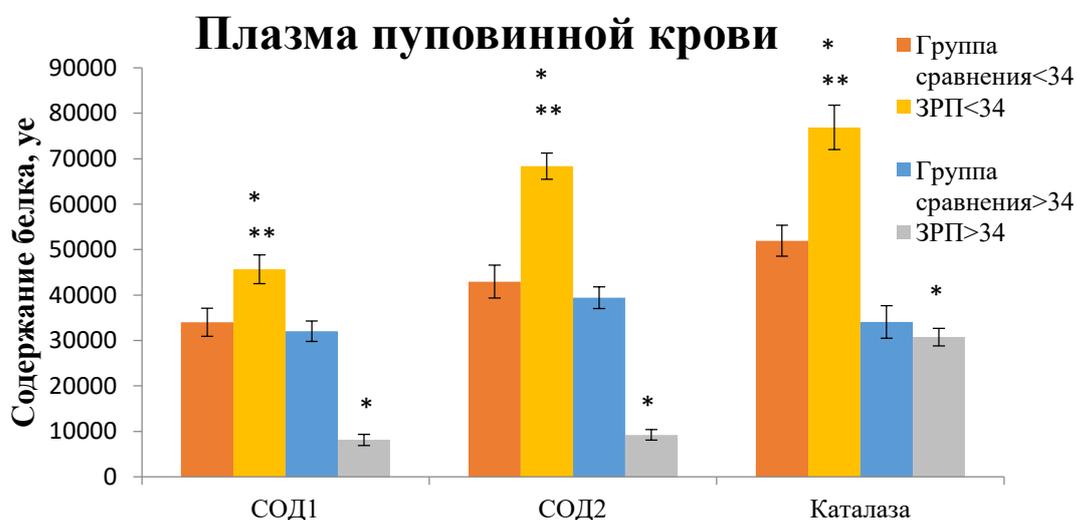


Рис. 32. Содержание каталазы, СОД1 и СОД2 в плазме пуповинной крови новорожденных исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 27. Активность СОД, каталазы, ГП и содержание СОД1, СОД2, каталазы в плазме пуповинной крови новорожденных исследуемых групп.

Параметры	рЗРП	пЗРП	Группа сравнения 1	Группа сравнения 2
Активность СОД, Ед/мл белка	31,7± 2,9	38,1±2,1	43,6±9,1	40,7± 6,2
Активность каталазы, Ед/мл белка	38,2±9,0***	82,5±18,0	80,2±19,3	78,6±18,9
Активность ГП, Ед/мл белка	23,2±5,4**	32,7±2,8	31,6±6,5	36,6±6,2
Содержание СОД1, у.е.	45644±3148***	8122±1218*	33970±3084	32030±2271
Содержание СОД2, у.е.	68353±2886***	9226±1145*	42936±3610	39398±2377
Содержание каталазы, у.е.	76886±4878***	30729±1924*	51932±3409	34057±3598

Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

При проведении сравнительного анализа была отмечена сниженная активность каталазы (38,2±9,0 Ед/мл белка) на фоне увеличения ее содержания (76886±4878 у.е.), а также увеличение содержания СОД1 (45644±3148 у.е.) и СОД2 (68353±2886 у.е.) при ранней ЗРП. Активность ГП также была достоверно снижена ($p < 0,02$) в группе ранней ЗРП (23,2±5,4 Ед/мл) относительно поздней ЗРП (32,7±2,8 Ед/мл). Следует отметить, что

при поздней ЗРП были выявлены значимые отличия ($p < 0,001$) только по снижению содержания СОД1 (8122 ± 1218 у.е.), СОД2 (9226 ± 1145 у.е.) и каталазы (30729 ± 1924 у.е.) относительно группы сравнения 2.

Для оценки эффективности неферментативной антиоксидантной защиты было определено содержание глутатиона, его восстановленной и окисленной форм, а также рассчитано их соотношение. Данные представлены на рисунках 33-34 и в таблице 28.

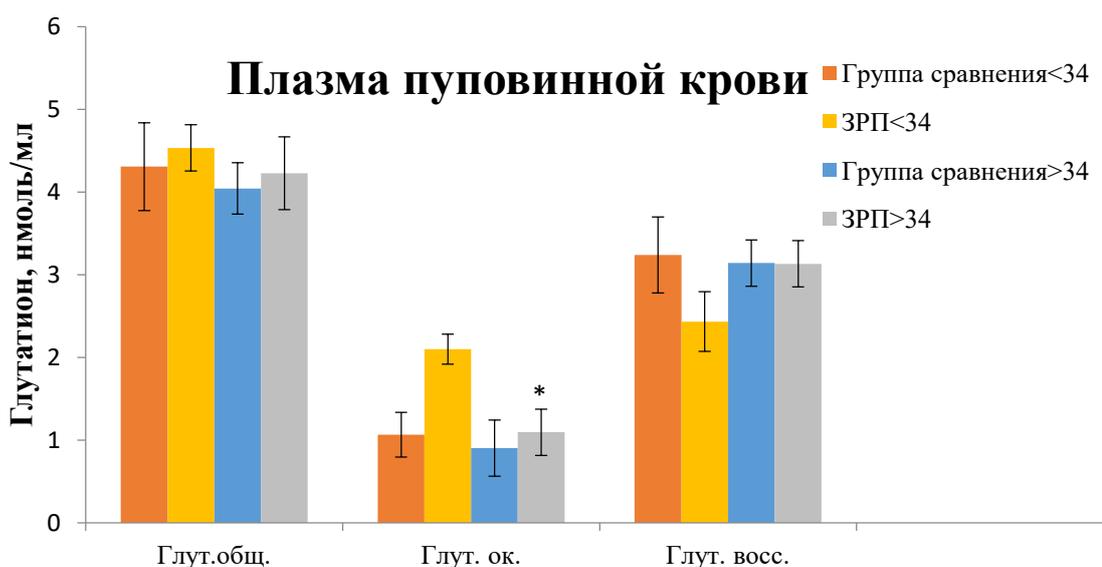


Рис. 33. Содержание глутатиона в плазме пуповинной крови новорожденных исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

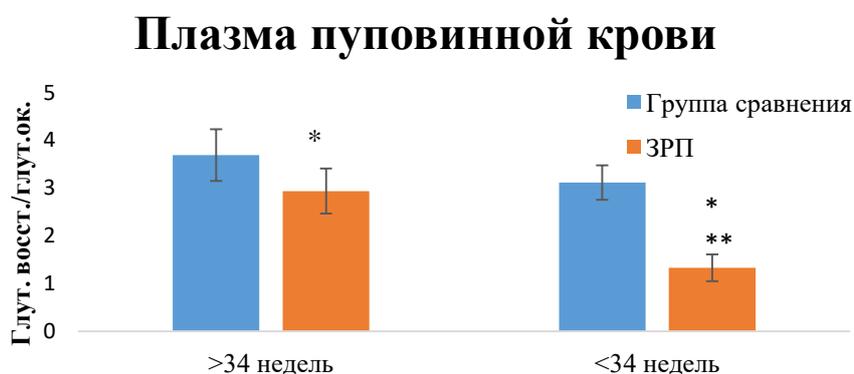


Рис. 34. Соотношение Глут_{восст.}/Глут_{ок.} в плазме пуповинной крови новорожденных исследуемых групп. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 28. Показатели содержания Глут_{общ}, Глут_{восст.}/Глут_{ок.} в плазме пуповинной крови новорожденных в исследуемых группах.

Исследуемые группы	Глут _{общ} , нмоль/мл	Глут _{восст.} , нмоль/мл	Глут _{ок.} , нмоль/мл	Глут _{восст.} /Глут _{ок.}
рЗРП	4,5±0,3	2,4±0,3	2,1±0,3	1,3±0,3***
Группа сравнения 1	4,3±0,5	3,2±0,5	1,1±0,3	3,1±0,5
пЗРП	4,2±0,4	3,1±0,3	1,1±0,3*	2,9±0,4*
Группа сравнения 2	4,0±0,3	3,1±0,4	0,9±0,2	3,7±0,5

Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение;

* - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Определение вышеуказанных показателей в плазме пуповинной крови выявило достоверные отличия для соотношения Глут_{восст.}/Глут_{ок.} при ранней ЗРП (1,3±0,3) относительно группы сравнения 1 (3,1±0,5) и поздней ЗРП (2,9±0,4). При поздней ЗРП наблюдали увеличение содержания Глут_{ок.} (1,1±0,3 нмоль/мл) и снижение соотношения Глут_{восст.}/Глут_{ок.} (2,9±0,4) относительно группы сравнения 2 (0,9±0,2 нмоль/мл; 3,7±0,5, соответственно).

4.6.3. Окислительный статус плазмы крови беременных исследуемых групп

Для характеристики функционального состояния про- и антиоксидантной систем беременной при ранней и поздней форме ЗРП были определены соответствующие показатели плазмы крови пациенток, включенных в исследование, данные представлены на рисунках 35-39 и в таблицах 29-31.

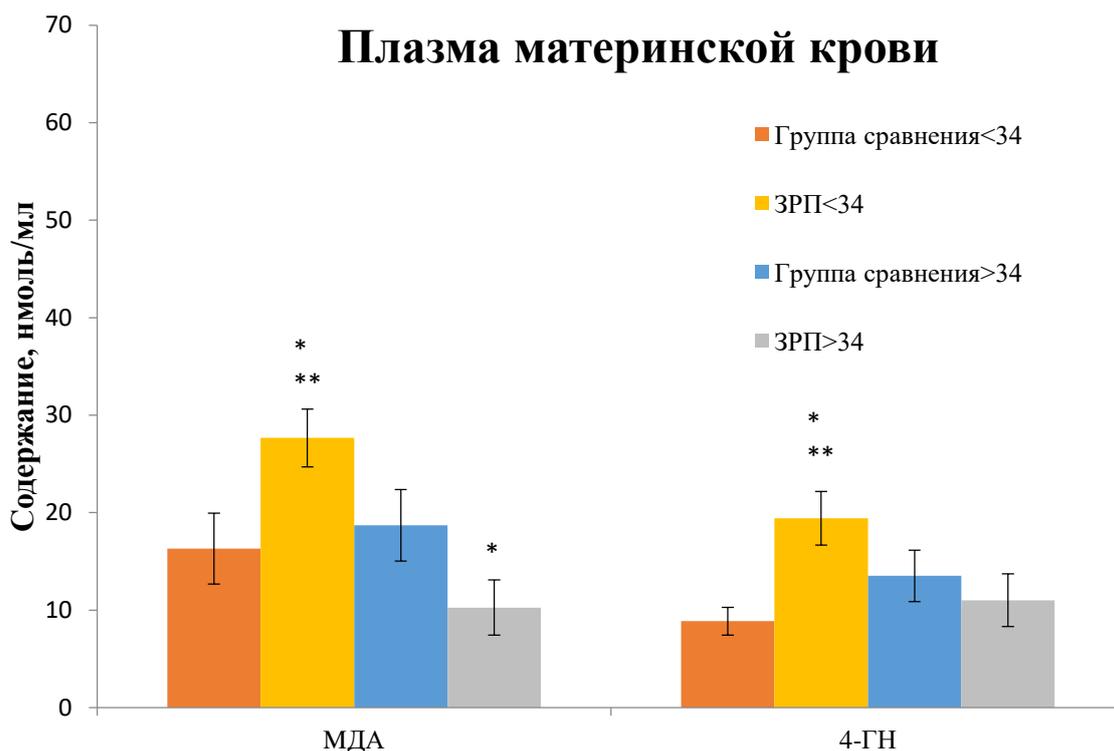


Рис. 35. Содержание МДА и 4-ГН в плазме крови беременных исследуемых групп до родоразрешения; * – уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** – уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 29. Уровни содержания МДА и 4-ГН в плазме крови беременных исследуемых групп до родоразрешения.

Исследуемые группы	МДА, нмоль/мл	4-ГН, нмоль/мл
рЗРП	$28 \pm 3,0^{***}$	$19,4 \pm 2,8^{***}$
пЗРП	$10,3 \pm 2,8^*$	$11,0 \pm 2,7$
Группа сравнения 1	$16,3 \pm 3,6$	$8,9 \pm 1,4$
Группа сравнения 2	$19,0 \pm 4,0$	$14,0 \pm 2,6$

Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Сравнительный анализ установил повышенные уровни МДА и 4-ГН в плазме крови беременных с ранней ЗРП относительно групп сравнения 1 и поздней ЗРП ($p < 0,001$): МДА, нмоль/мл ($28 \pm 3,0$; $16,3 \pm 3,6$; $10,3 \pm 2,8$, соответственно); 4-ГН, нмоль/мл ($19,4 \pm 2,8$; $8,9 \pm 1,4$; $11,0 \pm 2,7$, соответственно). При поздней ЗРП определено достоверное снижение

($p < 0,001$) уровня содержания МДА относительно группы сравнения 2: $10,3 \pm 2,8$ и $19,0 \pm 4,0$ нмоль/мл, соответственно. Данные, использованные для сравнительной оценки активности ферментов антиоксидантной защиты, представлены на рисунке 35 и в таблице 30.

Плазма материнской крови

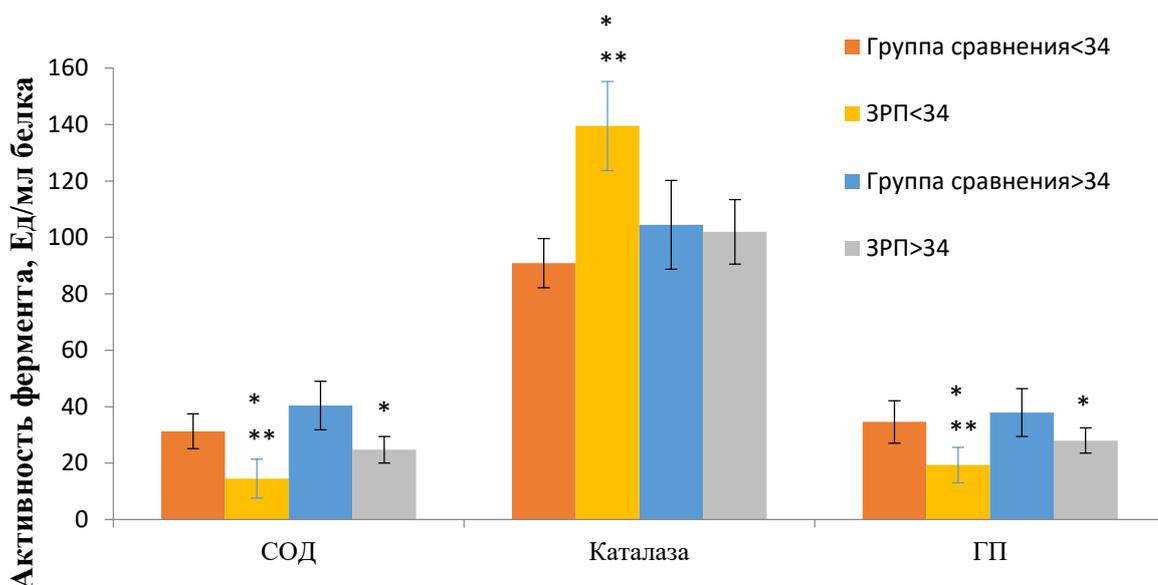


Рис. 36. Активность СОД, каталазы и ГП в плазме крови беременных исследуемых групп; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 30. Активность СОД, каталазы, ГП и содержание СОД1, СОД2, каталазы в плазме крови беременных исследуемых групп.

Параметры	рЗРП	пЗРП	Группа сравнения 1	Группа сравнения 2
Активность СОД, Ед/мл белка	$15,0 \pm 7,0^{***}$	$25,0 \pm 5,0^*$	$31,3 \pm 6,2$	$40,4 \pm 8,6$
Активность каталазы, Ед/мл белка	$140,0 \pm 16,0^{***}$	$102,0 \pm 11,5$	$91,0 \pm 9,0$	$104,4 \pm 15,7$

Активность ГП, Ед/мл белка	19,3±6,3***	28,0±4,4*	35,0±7,5	38,0±8,5
Содержание СОД1, у.е.	6065±1765*	5800±1498*	19849±2131	13229±1730
Содержание СОД2, у.е.	7100±1139***	6036±1099*	16961±1921	10525±1175
Содержание каталазы, у.е.	30474±4022**	14306±2601*	27768±2945	22135±1824

Данные представлены в виде средних значений ± стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

В плазме крови беременных при ранней ЗРП наблюдали сниженную активность СОД и ГП относительно группы сравнения 1 ($15,0 \pm 7,0$ и $31,3 \pm 6,2$ Ед/мл белка; $19,3 \pm 6,3$ и $35,0 \pm 7,5$ Ед/мл белка, соответственно), а активность каталазы, напротив, была повышена – $140,0 \pm 16,0$ и $91,0 \pm 9,0$, Ед/мл белка. При сопоставлении с поздней ЗРП наблюдали аналогичную картину по уровню активности указанных ферментов. Важно отметить, что, несмотря на снижение активности СОД и ГП при ранней форме ЗРП, содержание СОД1 и СОД2 было также снижено относительно группы сравнения 1: СОД1 (6065 ± 1765 у.е. и 19849 ± 2131 у.е.) и СОД2 (7100 ± 1139 у.е. и 16961 ± 1921 у.е., соответственно) (рис. 37). При поздней ЗРП отметили низкую активность СОД и ГП: СОД, Ед/мл белка ($25,0 \pm 5,0$ и $40,4 \pm 8,6$, соответственно); ГП, Ед/мл белка ($28,0 \pm 4,4$ и $38,0 \pm 8,5$, соответственно). При этом, наблюдали аналогичную картину, как при ранней ЗРП, в отношении содержания СОД1, СОД2. Содержание каталазы при поздней ЗРП было также достоверно снижено относительно группы сравнения 2: 14306 ± 2601 у.е. и 22135 ± 1824 у.е., соответственно.

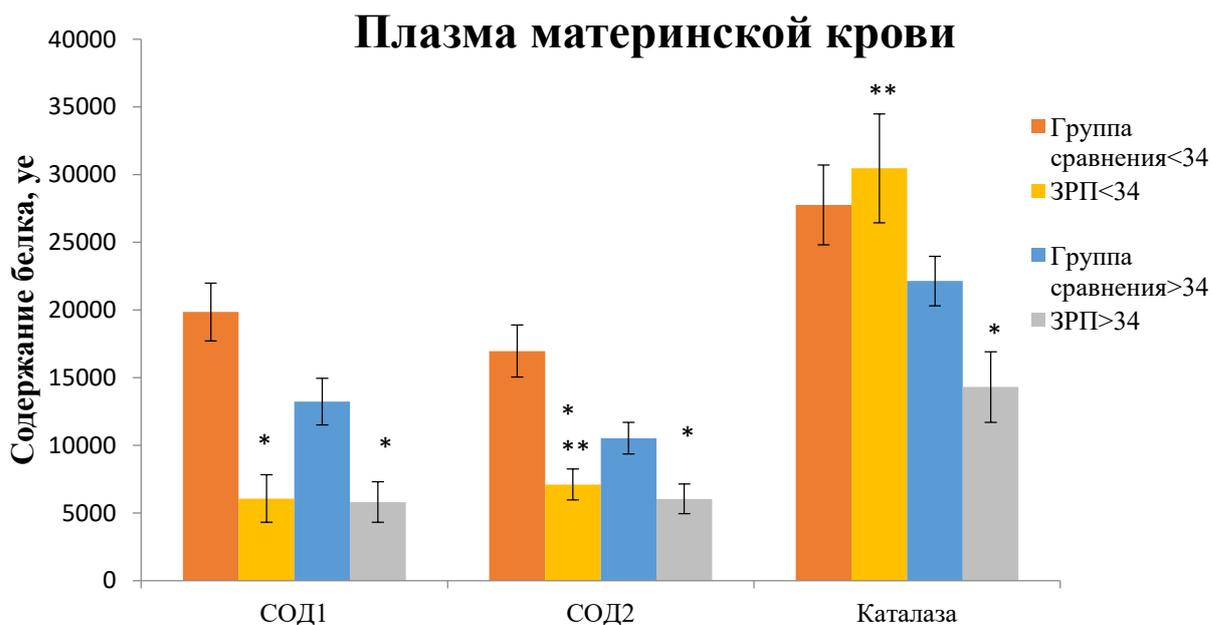


Рис. 37. Содержание антиоксидантных ферментов каталазы, СОД1 и СОД2 в плазме крови беременных в исследуемых группах. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Оценка содержания глутатиона и его форм представлена на рисунках 38, 39 и в таблице 31.

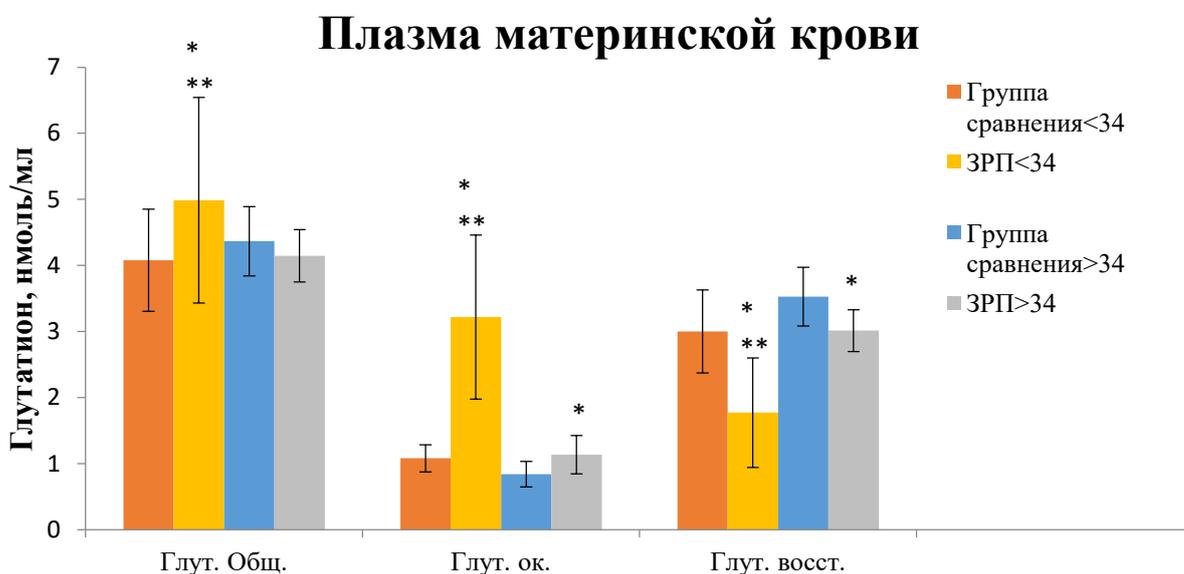


Рис. 38. Содержание глутатиона в плазме крови беременных в исследуемых группах. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Плазма материнской крови

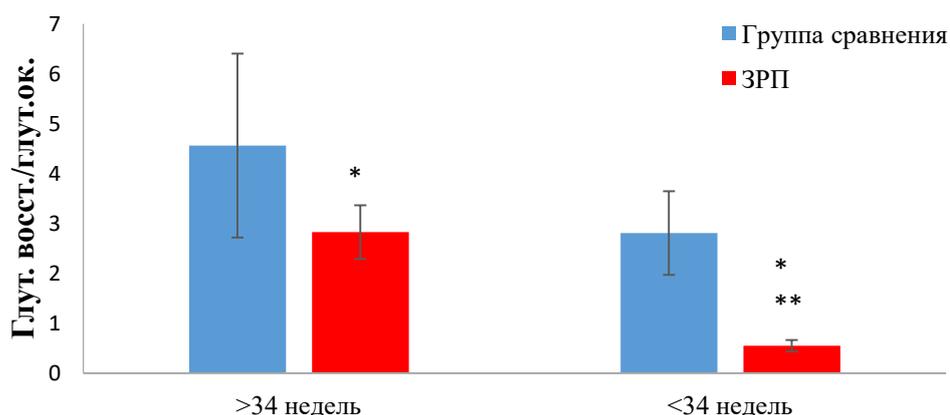


Рис. 39. Соотношение $\text{ГлуT}_{\text{восст.}}/\text{ГлуT}_{\text{ок}}$ в плазме крови беременных в исследуемых группах. Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

Таблица 31. Содержание глутатиона в плазме крови беременных в исследуемых группах.

Исследуемые группы	$\text{ГлуT}_{\text{общ.}}$, нмоль/мл	$\text{ГлуT}_{\text{восст.}}$, нмоль/мл	$\text{ГлуT}_{\text{ок.}}$, нмоль/мл	$\text{ГлуT}_{\text{восст.}}/\text{ГлуT}_{\text{ок}}$
рЗРП	$5,0 \pm 1,6^{***}$	$1,8 \pm 0,88^{***}$	$3,2 \pm 1,2^{***}$	$0,6 \pm 0,1^{***}$
Группа сравнения 1	$4,1 \pm 0,8$	$3,0 \pm 0,6$	$1,1 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,5$
пЗРП	$4,1 \pm 0,4$	$3,0 \pm 0,3^*$	$1,1 \pm 0,3^*$	$2,8 \pm 0,8^*$
Группа сравнения 2	$4,4 \pm 0,5$	$3,5 \pm 0,4$	$0,8 \pm 0,2$	$4,6 \pm 1,8$

Данные представлены в виде средних значений \pm стандартное отклонение; * - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации; ** - уровень значимости $p \leq 0,05$ при сравнении ранней (рЗРП) и поздней ЗРП (пЗРП).

При ранней ЗРП на фоне повышенного уровня общего глутатиона ($5,0 \pm 1,6$ и $4,1 \pm 0,8$, нмоль/мл) мы наблюдали сниженное содержание его восстановленной формы ($1,8 \pm 0,88$ и $3,0 \pm 0,6$, нмоль/мл), а также снижение соотношения $\text{ГлуT}_{\text{восст.}}/\text{ГлуT}_{\text{ок}}$ ($0,6 \pm 0,1$ и $2,8 \pm 0,5$) и повышенный уровень окисленного глутатиона ($3,2 \pm 1,2$ и $1,1 \pm 0,2$, нмоль/мл), что являлось

свидетельством выраженности окислительного стресса в плазме крови беременных. Аналогичные результаты продемонстрированы при поздней ЗРП: Глут_{восст} ($3,0 \pm 0,3$ и $3,5 \pm 0,4$, нмоль/мл), Глут_{ок} ($1,1 \pm 0,3$ и $0,8 \pm 0,2$, нмоль/мл), Глут_{восст}/Глут_{ок} ($2,8 \pm 0,8$ и $4,6 \pm 1,8$).

Таким образом, полученные данные дополняют общую картину об интенсификации процессов перекисного окисления липидов, дисбалансом между про- и антиоксидантными процессами при ранней ЗРП в плазме материнской крови.

4.7. Корреляционный анализ уровня экспрессии плацентарных мкРНК с тканевыми маркерами окислительных повреждений и антиоксидантной защиты

Поддержание баланса производства АФК и их утилизации регулируется, в том числе, мкРНК, а изменение экспрессии последних могут приводить к сдвигу этого баланса, обуславливая патологически высокий уровень окислительных повреждений в ткани плаценты, ее дисфункцию и связанное с этим последующее нарушение роста и развития плода. В связи с чем, в группе беременных с ранней и поздней ЗРП был проведен корреляционный анализ с использованием непараметрического метода ранговой корреляции по Спирмену (рисунки 40-41, таблица 32).

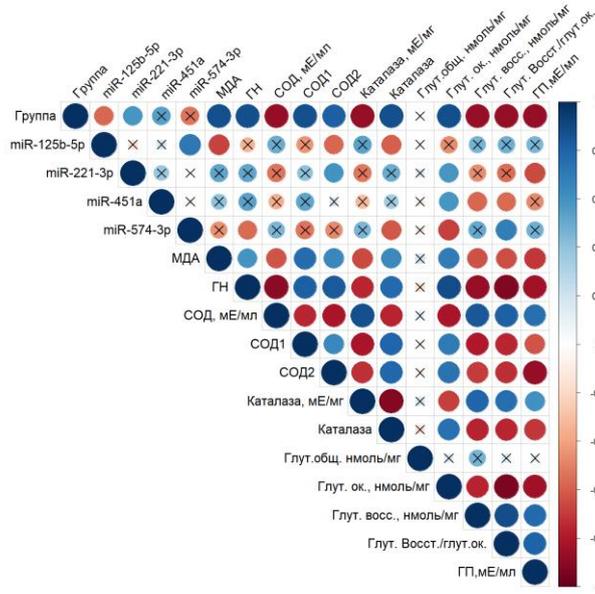


Рис. 40. Визуализация корреляционной матрицы, полученной по результатам анализа корреляций уровня экспрессии (ΔCt) miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-451a, miR-574-3p, содержания продуктов ПОЛ и уровня антиоксидантных ферментов в плацентарной ткани при ранней ЗРП. Диаметр кружков и цветовая индикация (согласно шкале справа) пропорциональны коэффициенту корреляции; перечеркнуты те поля, статистическая значимость коэффициентов, корреляции которых больше 0,05.

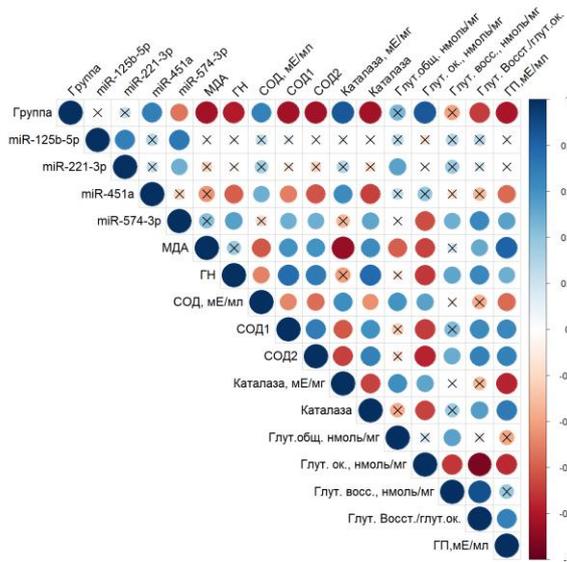


Рис. 41. Визуализация корреляционной матрицы, полученной по результатам анализа корреляций уровня экспрессии (ΔCt) miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-451a, miR-574-3p, содержания продуктов ПОЛ и уровня антиоксидантных ферментов в

плацентарной ткани при поздней ЗРП. Диаметр кружков и цветовая индикация (согласно шкале справа) пропорциональны коэффициенту корреляции; перечеркнуты те поля, статистическая значимость коэффициентов корреляции которых больше 0,05.

Таблица 32. Результаты корреляционного анализа уровня экспрессии мкРНК, маркеров окислительных повреждений и антиоксидантной защиты в группе беременных с ЗРП

Параметр		ЗРП < 34 недель		ЗРП > 34 недель	
мкРНК(ΔCt)	Маркер окислительных повреждений или антиоксидантной защиты	r*	p**	r*	p**
miR-125b-5p	МДА	-0,67	0,01	-	-
	СОД2	-0,58	0,04	-	-
	Каталаза, у.е.	-0,6	0,03	-	-
miR-221-3p	ГП	-0,6	0,01	-	-
	СОД2	0,59	0,03	-	-
	Глу _т ок.	0,58	0,04	-	-
miR-451a	4-ГН	-	-	-0,6	0,006
	Активность каталазы	-	-	0,62	0,005
	Активность СОД	-	-	0,48	0,03
	СОД1	-	-	-0,51	0,02
	СОД2	-	-	-0,63	0,004
	Каталаза, у.е.	-	-	-0,68	0,001

	Глу _{Ток.}	0,58	0,04	-	-
	Глу _{Твосст.}	-0,58	0,04	-	-
	Глу _{Твосст.} /Глу _{Ток.}	-0,56	0,05	-	-
miR-574-3p	4-ГН	-0,57	0,04	0,54	0,01
	СОД1	-	-	0,48	0,04
	СОД2	-	-	0,48	0,04
	Каталаза, у.е.	-0,62	0,02	0,52	0,02
	Глу _{Ток.}	-0,68	0,01		
	Глу _{Твосст.} /Глу _{Ток.}	0,68	0,01	-	-

* *r*- коэффициент ранговой корреляции по Спирмену;

** *p*- статистическая значимость корреляции

В ходе исследования были установлены статистически значимые отрицательные корреляции между значением ΔCt miR-125b-5p в ткани плаценты и уровнем МДА ($r=-0,67$, $p=0,01$), а также содержанием митохондриальной изоформы фермента СОД2 ($r=-0,58$, $p=0,04$) и каталазы ($r=-0,6$, $p=0,03$), то есть повышение экспрессии указанной мкРНК может способствовать усилению производства продуктов ПОЛ и, тем самым, интенсификации окислительного стресса при ранней ЗРП. Значение ΔCt miR-221-3p статистически значимо не коррелировало с содержанием продуктов ПОЛ. Однако, оказалось, что при снижении ее экспрессии в плацентарной ткани снижается уровень антиоксидантного фермента ГП ($r=-0,6$, $p=0,01$), а содержание СОД2 ($r=0,59$, $p=0,03$) и окисленной формы глутатиона ($r=0,58$, $p=0,04$), напротив, увеличивается. Поскольку ГП является основным нейтрализатором перекисей, то снижение ее активности может приводить к избыточному окислению ненасыщенных двойных связей в ацильных остатках липидов и снижению целостности клеточных мембран даже при адекватной продукции АФК на уровне сигнальных молекул. При оценке

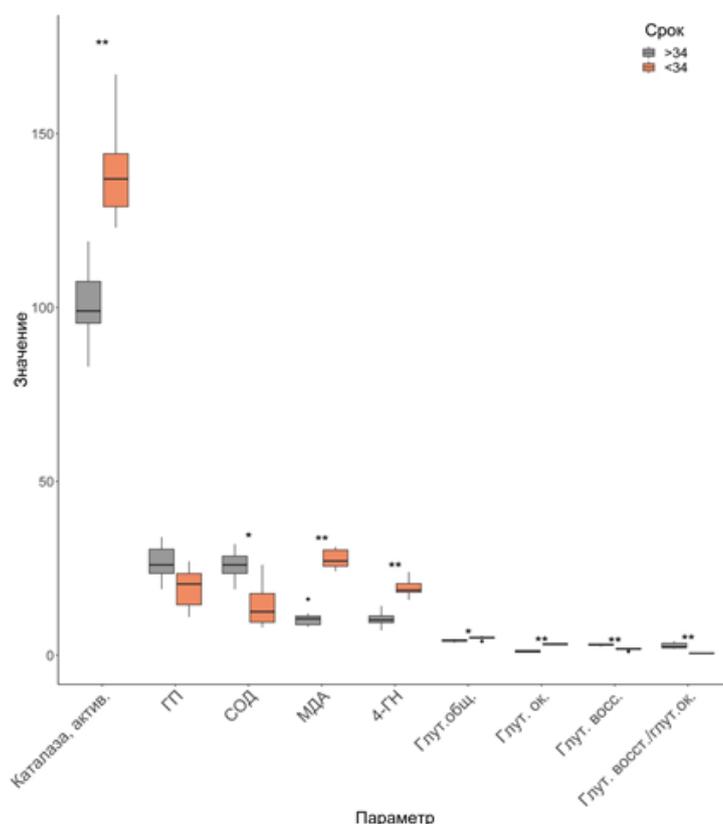
корреляционных связей значения ΔCt miR-451a в группе беременных с ранней ЗРП было установлено, что уровень ее экспрессии положительно коррелирует с окисленной формой глутатиона ($r=0,58$, $p=0,04$), при этом обнаружена отрицательная корреляция с его восстановленной формой ($r=-0,58$, $p=0,04$) и соотношением $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($r=-0,56$, $p=0,05$). Таким образом, при снижении экспрессии miR-451a понижение уровня $\text{Глут}_{\text{восст.}}$ не позволяет сохранять оптимальное соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$, необходимое для поддержания антиоксидантной защиты. Значимые корреляции выявлены между ΔCt miR-574-3p и 4-ГН ($r=-0,57$, $p=0,04$), содержанием каталазы ($r=-0,62$, $p=0,02$), содержанием $\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($r=-0,68$, $p=0,01$) и соотношением $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($r=0,68$, $p=0,01$). Ранее нами было показано, что уровень экспрессии miR-574-3p в плацентарной ткани беременных с ранней ЗРП повышался, что может обуславливать повышение продукта ПОЛ, 4-ГН, а следовательно, усиление окислительного стресса на фоне недостаточности антиоксидантных ферментов. Сопоставление значений ΔCt с показателями функционального состояния про- и антиоксидантных систем при поздней ЗРП продемонстрировал следующую картину взаимосвязей: экспрессия (ΔCt) miR-451a отрицательно коррелировала с уровнем 4-ГН ($r=-0,6$, $p=0,006$), содержанием СОД1 ($r=-0,51$, $p=0,02$), СОД2 ($r=-0,63$, $p=0,004$), каталазы ($r=-0,68$, $p=0,001$), а активность СОД ($r=0,48$, $p=0,03$) и каталазы ($r=0,62$, $p=0,005$), напротив, коррелировала положительно. Относительно корреляций со значением ΔCt miR-574-3p, установлено, что с повышением экспрессии указанной мкРНК понижается уровень 4-ГН ($r=0,54$, $p=0,01$), содержание СОД1 ($r=0,48$, $p=0,04$), СОД2 ($r=0,48$, $p=0,04$) и каталазы ($r=0,52$, $p=0,02$). Следует отметить, что разнонаправленные эффекты установленных корреляций со значениями ΔCt miR-574-3p и miR-451a при ранней и поздней формах ЗРП, по всей видимости, предполагает регуляцию разных групп генов.

Перинатальный период развития является критическим этапом, во время которого устанавливается баланс между процессами окисления и

соответствующими механизмами защиты от окислительных повреждений у плода. Учитывая, что в плазме пуповинной крови при поздней ЗРП была определена только дифференциальная экспрессия miR-451a, мы осуществили поиск корреляций с маркерами окислительного стресса и антиоксидантными ферментами. Проведенный анализ установил положительную корреляционную связь между повышенной экспрессией miR-451a, снижением содержания СОД1 ($r=0,62$, $p=0,002$) и СОД2 ($r=0,79$, $p=0,001$) в плазме пуповинной крови плода.

4.8. Оценка эффективности дифференцировки ранней и поздней форм задержки роста плода на основе маркеров окислительного стресса и антиоксидантной защиты

Для оценки уровней анализируемых параметров и различий между значениями показателей, определяющих функциональное состояние про- и антиоксидантной систем, были построены бокс-диаграммы (рис. 42, 43).



первый и третий квартили, линия в середине бокса – медиана; концы усов – разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, точками обозначены выбросы; * – p-value < 0,05; ** – p-value < 0,01; *** – p-value < 0,001.

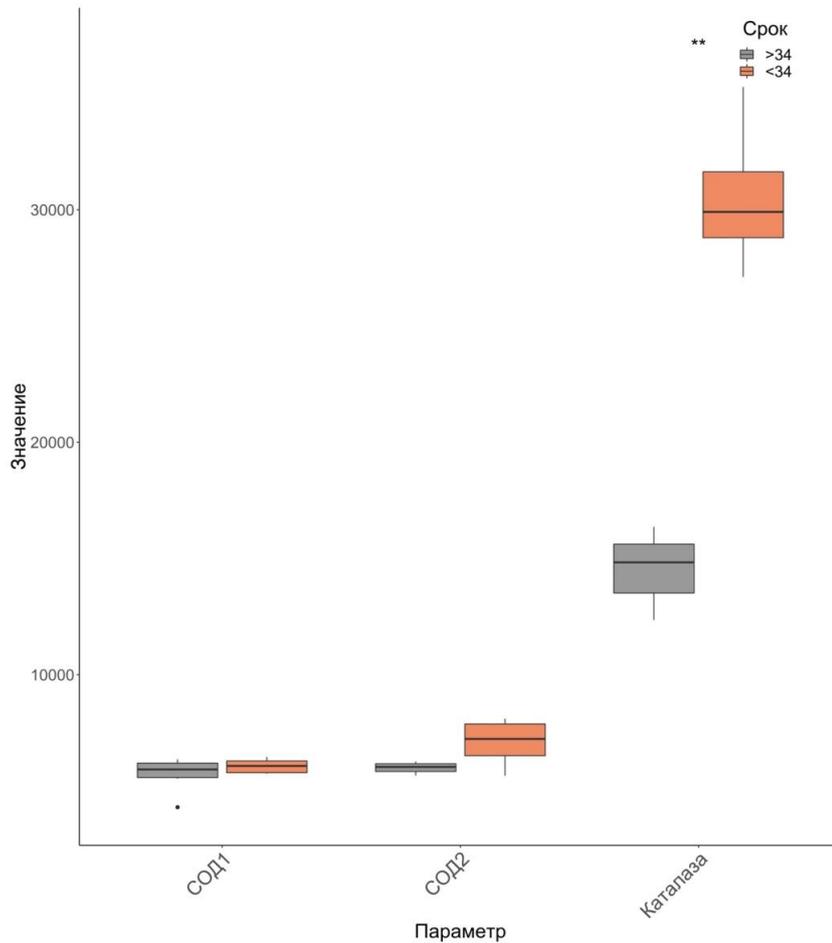


Рис. 43. Бокс-диаграмма содержания СОД1, СОД2 и каталазы в образцах плазмы крови беременных в группе с ранней и поздней ЗРП. Границами бокса служат первый и третий квартили, линия в середине бокса – медиана; концы усов – разность первого квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, сумма третьего квартиля и полуторной величины межквартильного расстояния, точками обозначены выбросы; * – p-value < 0,05; ** – p-value < 0,01; *** – p-value < 0,001.

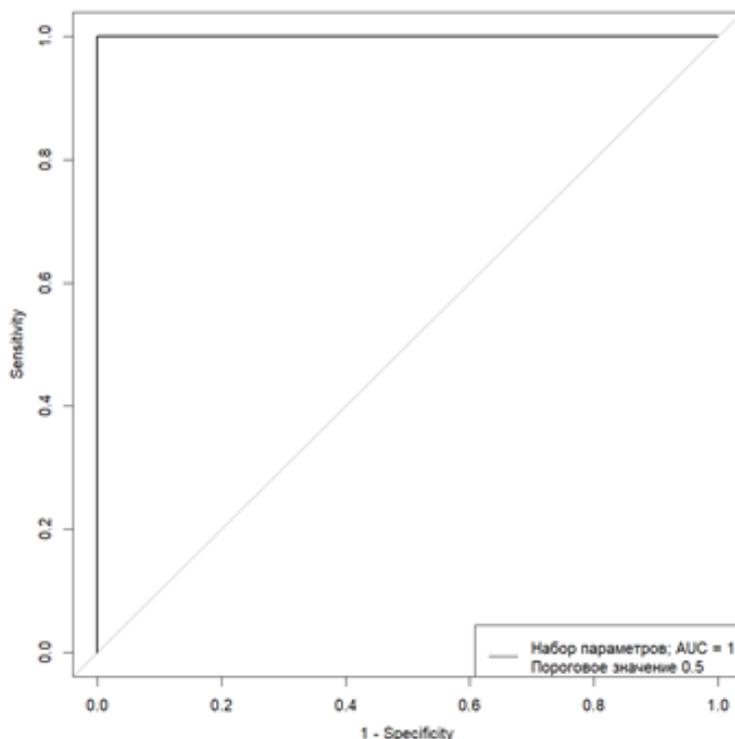
С целью дифференцировки ранней и поздней ЗРП на основе маркеров окислительного стресса и антиоксидантных ферментов была разработана модель логистической регрессии:

$$D = \frac{e^{-66.19+0.4838*MDA+18.62*GO-7.98*GC+8.392*GR-0.369*SOD+1.223*GN+0.0007932*KAT+0.08244*KA}}{1 + e^{-66.19+0.4838*MDA+18.62*GO-7.98*GC+8.392*GR-0.369*SOD+1.223*GN+0.0007932*KAT+0.08244*KA}}$$

где MDA – МДА, GO – Глут.ок., нмоль/мл; GC – Глут.общ, нмоль/мл; GR – Глут. Восст./глут.ок.; SOD – СОД, Ед/мл (активность); GN – 4-ГН; KAT – Каталаза

(содержание); КА – Каталаза, Ед/мл (активность). Если $D < 0,5$, то поздняя форма ЗРП (>34); если $D > 0,5$ – ранняя форма ЗРП (<34).

Выполнен ROC-анализ разработанной модели и определены ее чувствительность и специфичность (рис.44).



Параметры модели:

Пороговое значение (D)	Чувствительность	Специфичность	AUC
0,5	1	1	1

Рис. 44. ROC-кривая модели логистической регрессии для дифференцировки ранней и поздней ЗРП по уровням продуктов ПОЛ (МДА и 4-ГН) и антиоксидантов (каталаза, СОД, ГП, глутатион) в плазме крови беременных. На графике указаны значения AUC и пороговой величины D.

ROC-анализ продемонстрировал, что определение вышеуказанных специфичных маркеров про- и антиоксидантных систем в плазме крови беременных и использование предложенной модели логистической регрессии позволяет с высокой чувствительностью и специфичностью (100%) дифференцировать раннюю и позднюю формы ЗРП. Алгоритм диагностики ЗРП учетом ее патогенетических форм изложен в приложении.

Глава 5

Обсуждение полученных результатов

Несмотря на успехи современной медицины в снижении акушерских осложнений за последние десятилетия, ЗРП занимает одно из ведущих мест в структуре перинатальной заболеваемости и смертности [7]. ЗРП связана с такими перинатальными осложнениями, как преждевременные роды, детский церебральный паралич, а также с антенатальной гибелью плода и смертью в неонатальном периоде. Новорожденные с ЗРП чаще страдают ожирением, артериальной гипертензией, сахарным диабетом II типа в старшем возрасте [11–13]. В связи с этим так важна ранняя диагностика ЗРП, поскольку это позволяет определить причину возникновения нарушения развития и провести адекватный мониторинг состояния плода, тем самым сводя к минимуму риски внутриутробной гипоксии и перинатальных осложнений. Однако основной проблемой при ранней форме ЗРП является неэффективность применения терапии, в то время как проблемой, связанной с поздней формой ЗРП, является ранняя диагностика, поскольку показатели доплерометрии кровотоков в пупочной артерии могут быть неизменными, что маскирует данную патологию [236]. Принимая во внимание различия в патогенезе и степени тяжести состояния новорожденных при ранней и поздней формах важно определение сроков манифестации ЗРП для улучшения перинатальных исходов. Окончательный диагноз может быть поставлен только постнатально, когда известны вес новорожденного и получены данные о состоянии его здоровья. Ряд исследователей указывают на то, что пролонгирование беременности при ранней ЗРП повышает риск неблагоприятных перинатальных исходов [237–239]. С целью снижения перинатальной заболеваемости и смертности, а также затрат на лечение пациентов с ЗРП требуются исследования, касающиеся диагностики данной патологии на ранних сроках беременности, дифференциальной диагностики ранней и поздней форм ЗРП, новых подходов к ведению беременности,

возможных вариантов профилактики и лечения. Для определения факторов риска развития ЗРП нами был проведен анализ клинико-анамнестических данных пациенток, включенных в исследование. Все женщины, включенные в исследование (41 пациентка составила основную группу и 41 – группу сравнения), были сопоставимы по возрасту. Возраст пациентов включенных в исследование варьировал от 18 до 41 года и составил в среднем $31,6 \pm 5,0$ лет и $31,4 \pm 5,1$ лет – в группах, соответственно (Таблица 5, 10). Анализ массо-ростовых показателей у обследованных женщин различий в показателях средней массы тела и среднего роста в группах не выявил. Показатели средней массы тела в основной группе и группе сравнения составили: $70,8 \pm 11,1$ кг и $72,7 \pm 15,9$ кг, а показатели среднего роста: $165,9 \pm 6,6$ см и $165,6 \pm 5,7$ см, соответственно. Известно, что одной из возможных причин развития ЗРП являются соматические заболевания матери [111]. Так как определенная роль в развитии ЗРП в ряде случаев отводится инфекционному фактору, представилось интересным изучить спектр инфекций, перенесенных пациентками в основной группе в анамнезе. Значимых различий в структуре перенесенных инфекционных заболеваний при сопоставлении основной группы и группы сравнения выявлено не было. Однако среди перенесенных инфекций, у пациенток с ранней ЗРП достоверно чаще встречалась ветряная оспа по сравнению с поздней ЗРП – 85,0% (OR=0,2; CI=0,04-0,7; $p \leq 0,05$). Известно, что ветряная оспа, перенесенная во время беременности, в 23% случаев вызывает ЗРП и практически во всех случаях сопровождается рождением маловесных к сроку гестации новорожденных [240]. Однако случаев заражения во время беременности в нашем исследовании зарегистрировано не было. M. Germain и коллеги свидетельствуют о том, что наличие в урогенитальном тракте у беременной таких микроорганизмов, как *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Trichomonas vaginalis* удваивает риск развития ЗРП [241]. При анализе анамнеза пациенток статистически значимых различий в спектре микроорганизмов, выделенных при обследовании мочеполового

тракта, в исследуемых группах выявлено не было (Рис. 2, рис. 4). При анализе соматической патологии пациенток исследуемых групп в структуре заболеваний сердечно-сосудистой системы превалировала ХАГ в группе беременных с ЗРП – 22,0% (OR=0,3; CI=0,1-1,1; $p>0,05$), с статистически значимым преобладанием ХАГ в подгруппе ранней ЗРП – 40,0% (OR=0,08; CI=0,01-0,7; $p\leq 0,05$) по сравнению с поздней формой ЗРП и соответствующей группой сравнения (OR=0,2; CI=0,1-0,7; $p=0,05$) (Таблица 6, 11), что согласуется с данными литературы о большей частоте ХАГ среди беременных с ЗРП [242, 243]. Статистически значимых различий в отношении других сердечно-сосудистых заболеваний в исследуемых группах выявлено не было. Преобладание в основной группе миопии – 43,9% (OR=0,4; CI=0,2-1,1; $p>0,05$) и варикозного расширения вен нижних конечностей – 17,1% (OR=0,1; CI=0,01-1,0; $p>0,05$) согласуется с результатами других исследований, указывающих на роль недифференцированной дисплазии соединительной ткани в развитии ЗРП [117, 244]. При этом миопия – 55,0% (OR=0,2; CI=0,1-0,8; $p\leq 0,05$) и варикозное расширение вен нижних конечностей – 25,0% ($p=0,05$) значимо чаще наблюдались у пациенток в подгруппе ранней ЗРП по сравнению с женщинами в группе сравнения соответствующего срока гестации. Известно, что недифференцированная дисплазия соединительной ткани у беременных повышает риск плацентарной недостаточности и ЗРП [244, 245]. Достоверных различий в частоте заболеваний мочевыделительной и эндокринной систем в исследуемых группах выявлено не было. Согласно данным литературы нарушение менструальной функции, аномалии развития матки, бесплодие, гинекологические заболевания и операции вносят свой вклад в формирование ЗРП [111, 246]. Что касается акушерско-гинекологического анамнеза, в нашем исследовании статистически значимых различий в частоте гинекологических заболеваний в исследуемых группах выявлено не было (таблица 9, 14). Доля первобеременных женщин в основной группе была ниже, чем в группе сравнения – 29,3% (OR=0,6;

CI=0,3-1,6; $p>0,05$). Однако при этом в подгруппе поздней ЗРП достоверно чаще преобладали первобеременные пациентки – 47,6% (OR=0,1; CI=0,1-0,7; $p\leq 0,05$), а в подгруппе ранней ЗРП – повторнобеременные. Некоторые данные свидетельствуют о том, что ЗРП чаще встречается у первобеременных пациенток [247, 248], в то время как другие свидетельствуют о том, что рождение более пяти детей и короткий интергравидарный промежуток, а также рождение плода, «малого к сроку гестации» в предыдущую беременность повышают риски ЗРП в последующую беременность [200]. Имеются сведения о том, что у первобеременных женщин стенка матки более резистентна к растяжению; таким образом, по мере внутриутробного роста плод испытывает большее сопротивление со стороны маточной стенки и рождается с весом на 200-300 грамм меньше, чем у новорожденных повторнобеременных матерей [248]. Интересно отметить, что в основной группе статистически значимо чаще проводилось искусственное прерывание беременности, в том числе повторное – 24,4% (OR=6,3; CI=1,3-30,8; $p\leq 0,05$) (Рис. 3). Некоторые авторы свидетельствует в пользу того, что искусственное прерывание беременности в анамнезе у пациенток с ЗРП встречается чаще [247]. Т.Ю. Байкулова и соавт. выявили, что первородящие повторнобеременные, вне зависимости от метода прерывания предшествующей беременности, находятся в группе высокого риска по развитию плацентарной недостаточности и ЗРП [249]. Согласно некоторым данным, в результате изменений условий для имплантации яйцеклетки, связанных с ангиопатией, после искусственного аборта формируется первичная плацентарная недостаточность и ЗРП [250, 251]. Очевидно, при проведении искусственного прерывания беременности структура эндометрия претерпевает изменения, толщина эндометрия уменьшается, что снижает его рецептивность [252]. Можно предположить, что в случае наступления беременности у пациенток с прерыванием беременности в анамнезе изменения эндометрия могут явиться предпосылкой к нарушению инвазии трофобласта, развитию плацентарной

недостаточности и ЗРП, соответственно. В основной группе обращает на себя внимание преобладание случаев неразвивающейся беременности в анамнезе – 26,8% (OR=2,1; CI=0,7-6,5; $p>0,05$) с превалированием в подгруппе ранней ЗРП – 30% (OR=1,4; CI=0,3-5,5; $p>0,05$), а также преждевременных родов – 14,6% ($p\leq 0,05$) и индуцированного выкидыша – 2,4%, регистрируемых только в основной группе (Рис. 3). Как преждевременные роды – 20,0% (OR=0,4; CI=0,1-2,6; $p>0,05$), так и индуцированный выкидыш – 5,0% в анамнезе преобладали в подгруппе ранней ЗРП (Рис. 5). Смерть новорожденного в неонатальном периоде встречалась в 7,3% случаев с превалированием частоты в подгруппе ранней ЗРП – 10,0% (OR=0,5; CI=0,04-5,4; $p>0,05$). Наши результаты согласуются с данными, свидетельствующими в пользу отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза у беременных с ЗРП [84, 247, 253–257]. Особый интерес представляло изучение течения беременности у пациенток с ЗРП (Таблица 15, 16). Согласно данным литературы ЗРП ассоциирована с гипертензивными состояниями во время беременности [258, 259]. В основной группе артериальная гипертензия отмечалась чаще, чем в группе сравнения, и регистрировалась на протяжении всей беременности: в I триместре – 7,3% (OR=0,3; CI=0,03-3,2; $p>0,05$), во II триместре – 12,1% (OR=0,4; CI=0,1-2,0; $p>0,05$) и в III триместре – 39,0% (OR=0,1; CI=0,01-0,6; $p\leq 0,05$). При этом артериальная гипертензия во время беременности чаще встречалась при ранней ЗРП, что согласуется с данными литературы [260]. Что касается других осложнений беременности, угроза прерывания беременности в основной группе регистрировалась реже, чем в группе сравнения – в I триместре – 24,4% (OR=3; CI=1,2-7,6; $p\leq 0,05$), в II – 41,5% (OR=1,7; CI=0,7-4,2; $p>0,05$) и в III триместре – 30,8% (OR=1,4; CI=0,6-3,2; $p>0,05$), что, по-видимому, обусловлено тем, что в группе сравнения преобладали случаи беременностей, осложнившихся угрозой прерывания беременности и преждевременными родами, соответственно. Согласно данным ряда исследований, у пациенток с ЗРП угроза прерывания беременности

наблюдается чаще [261–263]. Интересен тот факт, что в нашем исследовании течение беременности пациенток с ЗРП чаще сопровождалось обострением хронической инфекции или острым инфекционным процессом: обострением хронического цистита – в I и II триместрах в подгруппе поздней ЗРП – 4,8%, ОРЗ в I триместре – 19,5% (OR=0,2; CI=0,04-1,1; $p>0,05$) и III триместре – 5,1% (OR=0,47; CI=0,04-5,5; $p>0,05$), гипертермией в I триместре – 4,9%; кольпитом – 10,3% (OR=0,7; CI=0,2-3,4; $p>0,05$) и обострением хронического пиелонефрита – 2,6% (OR=1,0; CI=0,9-1,0; $p>0,05$) в III триместре с преобладанием в подгруппе поздней ЗРП (19,0%; 4,8%, соответственно). Полученные нами данные согласуются с данными E. Mazor-Dray и соавт., свидетельствующих в пользу большей частоты инфекции урогенитального тракта у беременных с ЗРП [264]. Существующие данные об эффективности применения НМГ для снижения частоты плацента-ассоциированных осложнений во время беременности противоречивы. Некоторые исследования свидетельствуют в пользу эффективности НМГ при ЗРП, в то время, как другие таковой не отмечают [265]. В связи с чем, мы проанализировали частоту назначения НМГ в течение беременности. В нашем исследовании пациентки из основной группы чаще получали НМГ: в I триместре – 12,2%, во II – 24,4% (OR=0,3; CI=0,1-0,9; $p>0,05$) и в III триместре – 53,8% (OR=0,1; CI=0,04-0,4; $p\leq 0,05$). При ранней ЗРП НМГ применялись чаще: в I триместре – 20,0% (OR=0,2; CI=0,02-2,0; $p>0,05$), в II – 40,0% (OR=0,2; CI=0,03-0,9; $p>0,05$) и в III триместре в – 66,7% (OR=0,4; CI=0,1-1,4; $p>0,05$). Несмотря на широкое применение препаратов НМГ в основной группе в нашем исследовании перинатальные исходы для новорожденных основной группы были хуже, чем у новорожденных в группе сравнения. Однако мы не можем судить о эффективности применения НМГ, так как в нашем исследовании не уточнялась причина их назначения, а также срок беременности в начале применения НМГ; кроме того, доза, длительность и кратность введения препарата – варьировали. Для оценки эффективности НМГ требуются дополнительные исследования при

назначении НМГ с ранних сроков беременности у женщин с высоким риском развития ЗРП.

В основной группе средний срок беременности, при котором производилось УЗИ плода, составил: $33,9 \pm 3,5$ недель – в I группе, $34,1 \pm 3,1$ недель – во II группе. Средняя предполагаемая масса плода в основной группе составила $1591,5 \pm 593,8$ г., в группе сравнения – $2393,4 \pm 704,8$ г. Следует отметить, что в основной группе маловодие встречалось статистически значимо чаще – 63,4% (OR=5,1; CI=2,0-13,1; $p \leq 0,05$), при этом преобладало в подгруппе поздней ЗРП – 66,7% (OR=0,9; CI=0,2-3,1; $p > 0,05$). Полученные результаты согласуются с данными литературы, свидетельствующими о том, что маловодие является одним из характерных признаков ЗРП [266]. Известно, что в условиях плацентарной недостаточности и гипоксии в результате централизации кровообращения при ЗРП снижается перфузия почек, что ведет к снижению продукции мочи плодом [267].

В связи с тем, что доплерометрия сосудов в системе «мать-плацента-плод» позволяет обнаружить нарушения кровотоков и диагностировать плацентарную недостаточность, лежащую в основе ЗРП, представлялось интересным изучить особенности доплерометрии в основной группе и в группе сравнения (Рис. 6, 8). Проведенный нами анализ показал, что в основной группе наблюдались, как нарушения МПК – 17,1%, ФПК – 14,6%, а также их сочетание – 51,2%, так и нормальные показатели кровотоков в системе «мать-плацента-плод» – 17,1%. При ранней ЗРП преобладали случаи сочетанного нарушения МПК и ФПК – 80,0% (OR=12,8; CI=2,9-56,6; $p \leq 0,05$) и изолированного нарушения ФПК – 20,0% (OR=2,4; CI=0,4-14,7; $p > 0,05$). При поздней ЗРП превалировали нарушения МПК – 33,3%. Однако в подгруппе поздней ЗРП также имели место сочетанные нарушения МПК и ФПК – 23,9%, изолированное нарушение ФПК – 9,5%, а также отсутствие нарушений при доплерометрии в системе «мать-плацента-плод» – 33,3%. Нулевой или реверсный кровоток в ПА наблюдались в обеих подгруппах с

преобладанием в подгруппе ранней ЗРП – 20% (OR=0,2; CI=0,02-2,0; $p>0,05$). Таким образом, показатели доплерометрии в маточно-плацентарном комплексе в основной группе отражают явления плацентарной недостаточности, проявляющиеся усилением кровотока в ПА и в МА (увеличение среднего ПИ в ПА: $1,5\pm 0,6$ против $1,0\pm 0,3$ в группе сравнения ($p\leq 0,05$), среднего ПИ в левой маточной и правой МА: $1,1\pm 0,4$ против $0,8\pm 0,2$ в группе сравнения ($p\leq 0,05$) и $1,1\pm 0,6$ против $0,8\pm 0,2$ в группе сравнения ($p\leq 0,05$), соответственно), вазодилатацией СМА и “brain-sparing” эффектом, отражающим централизацию кровообращения у плода в условиях гипоксии (снижение среднего показателя ЦПС: $1,2\pm 0,5$ против $2,2\pm 0,3$ ($p\leq 0,05$)). Согласно полученным данным, при анализе внутри подгрупп более выраженные гемодинамические нарушения в системе «мать-плацента-плод» наблюдались при ранней ЗРП. Следует отметить, что при поздней ЗРП, согласно данным литературы [187], чаще наблюдаются явления централизации кровообращения в виде снижения показателей ПИ в СМА и ЦПС при нормальных кровотоках в ПА. Согласно некоторым данным снижение ЦПС наблюдается в 25,0% случаев поздней ЗРП [181]. В исследовании с участием 171 пациентки с поздней ЗРП в подавляющем большинстве случаев изменения ПИ в ПА были минимальны, однако показатели ЦПС и ПИ в СМА были снижены, начиная с 30 недель беременности вплоть до родоразрешения [181]. В нашем исследовании в подгруппе поздней ЗРП были выявлены различные варианты нарушений кровотока, у части беременных как с ранней, так и с поздней ЗРП наблюдали нарушения показателей доплерометрии в виде увеличения ПИ в ПА, ПИ в МА, а также снижения показателей ПИ в СМА и ЦПС. В группе сравнения не отмечалось гемодинамических нарушений в системе «мать-плацента-плод». Плоды, «малые к сроку гестации», не имеющие отклонений в доплерометрических показателях, относят к здоровым маловесным плодам. Однако данные ряда исследований свидетельствуют о том, что плоды, «малые к сроку гестации» находятся в группе повышенного риска

перинатальной заболеваемости и смертности [91–93]. В основной группе (в подгруппе поздней ЗРП) в 17,1% случаев отмечалось отставание плода в росте при УЗИ в динамике (ПМП различалась на величину, превышающую 2 квартили), при этом нарушений при доплерометрии выявлено не было. Однако, учитывая данные литературы о неблагоприятных перинатальных исходах для маловесных детей, вне зависимости от наличия отклонений в доплерометрических показателях и учитывая тот факт, что грань между понятиями плод, «малый к сроку гестации» и плод с ЗРП размыта, мы посчитали целесообразным включить данных пациенток в исследование. В нашем исследовании у каждого из новорожденных с поздней формой ЗРП, внутриутробно не имевших нарушений кровотоков в системе «мать-плацента-плод», отмечалось осложненное течение раннего неонатального периода. В раннем неонатальном периоде у таких новорожденных регистрировались случаи: врожденной пневмонии, неонатальной инфекции мочевых путей, ВЖК, транзиторного тахипноэ новорожденных, неонатальной желтухи, срыгивания и руминации новорожденных, субэпидимальных кист. Несмотря на то, что в основной группе было диагностировано отставание роста плода для соответствующего гестационного срока, оно не всегда сопровождалось нарушениями доплерометрических показателей, что свидетельствует о том, что исследование кровотоков в системе «мать-плацента-плод» не может явиться единственным методом исследования, используемым для постановки диагноза ЗРП. Анализ данных историй болезни пациенток, включенных в исследование, показал, что диагноз задержки роста плода антенатально был поставлен в 80,5% случаев, что согласуется с результатами других исследований [268–270]. В связи с тем, что ЗРП – постнатальный диагноз, поиск неинвазивных маркеров ранней и поздней форм ЗРП для верификации данного диагноза, на сегодняшний день является приоритетным. Известно, что наличие наследственных тромбофилий у беременной связано с формированием хронической плацентарной недостаточности, которая

обусловлена задержкой развития ворсинчатого хориона [271]. Ряд работ свидетельствует о большей частоте наследственных тромбофилий у беременных с ЗРП [272–274], в то время как некоторые исследования не подтверждают наличия связи между наследственными тромбофилиями и данным осложнением беременности [275]. В нашем исследовании в основной группе наследственные тромбофилии встречались несколько чаще – 17,1% при сопоставлении с группой сравнения, при этом достоверно чаще полиморфизмы генов тромбофилии регистрировались в подгруппе ранней ЗРП – 30,0% при сравнении с подгруппой поздней ЗРП (OR=0,3; CI=1,1-1,9; $p \leq 0,05$), что вероятно вносит свой вклад в патогенез ранней формы.

Результаты исследования указывают на ряд особенностей клинико-анамнестических данных, течения беременности, родов и неонатального периода при ЗРП. В связи с чем для уточнения их вклада и взаимосвязи с формированием данного осложнения был проведен статистический анализ с использованием критерия Пирсона (χ^2) и Крамера (V). К анамнестическим факторам риска развития ЗРП можно отнести: медицинские аборты (V=0,2; $p \leq 0,05$) и преждевременные роды (V=0,2; $p \leq 0,05$). К клиническим факторам риска относятся: хроническая артериальная гипертензия (V=0,3; $p \leq 0,05$), миопия (V=0,3; $p \leq 0,05$), варикозное расширение вен нижних конечностей (V=0,3; $p = 0,05$).

Средний срок родоразрешения в основной группе составил: $34,3 \pm 3,4$ недель, в группе сравнения – $34,6 \pm 3,1$ недели, что обусловлено критериями включения в группы по методу подбора пар. В подгруппе ранней ЗРП средний срок родоразрешения составил: $31,3 \pm 1,9$ недель, в подгруппе поздней ЗРП – $37,1 \pm 1,4$ недель. Пациенткам из основной группы значимо чаще проводилась операция кесарева сечения – 90,2% (OR=0,2; CI=0,1-0,7; $p \leq 0,05$). В подгруппе ранней ЗРП кесарево сечение было проведено всем вошедшим в исследование пациенткам. В подгруппе поздней ЗРП в ряде случаев производилось кесарево сечение – 81,0% (OR=1,2; CI=1,0-1,5),

значимо чаще, чем в группе сравнения соответствующего срока гестации (OR=0,2; CI=0,1-0,9; $p \leq 0,05$), однако также регистрировались случаи самопроизвольных родов – 19,0%. Наши результаты относительно большей частоты кесарева сечения в группе беременных с ЗРП согласуются с данными других исследований [276]. М. М. Finneran и соавт. пришли к выводу, что в случае беременности маловесным плодом, как при наличии нарушений кровотоков в маточно-плацентарном комплексе, так и при нормальных показателях доплерометрии, отмечается большая частота кесарева сечения при сравнении с беременностью плодом с нормальными показателями веса и кровотоков в системе «мать-плацента-плод» [277]. Среди 7 беременных основной группы, имевших нормальные показатели доплерометрии, 5 были родоразрешены путем операции кесарева сечения. Что касается показаний для проведения операции кесарева сечения в исследуемых группах, в основной группе основным показанием явилось ухудшение состояния плода по данным функциональных методов обследования – 74,5% (Рис 7, 9, 10). В то время, как в группе сравнения преобладали такие показания, как рубец на матке – 40,7% (OR=5,7; CI=1,6-20,6; $p \leq 0,05$), преждевременное излитие околоплодных вод – 33,3% (OR=8,8; CI=1,7-44,8; $p \leq 0,05$) и начало I периода родов – 29,6%. Обращает на себя внимание, что средняя кровопотеря при кесаревом сечении в основной группе была выше, чем в группе сравнения: 735 ± 751 мл против 654 ± 318 мл с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП по сравнению с подгруппой поздней ЗРП: 870 ± 1010 мл против 577 ± 81 мл. Большая кровопотеря в группе ЗРП может быть связана с наличием лейомиомы матки у пациенток основной группы – 16,2% с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП – 25,0%, что подтверждается данными К. Sei и соавт., связывающих наличие лейомиомы матки с большей кровопотерей во время операции кесарева сечения [278]. У пациенток с ЗРП послеродовом периоде значимо чаще отмечалось повышение АД, требующее применения гипотензивной терапии – 34,1%

(OR=0,1; CI=0,02-0,5; $p \leq 0,05$) с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП (55,0%) (OR=0,1; CI=0,03-0,6; $p \leq 0,05$).

Средний вес при рождении в основной группе составил 1557 ± 607 г. против 2416 ± 649 г. в группе сравнения ($p \leq 0,05$). В подгруппе ранней ЗРП средний вес при рождении составил 1040 ± 321 г., в подгруппе поздней ЗРП – 2049 ± 343 г ($p \leq 0,05$). Средний балл по шкале Апгар у новорожденных с ЗРП был значимо ниже при сопоставлении с группой сравнения и составил: $6,6 \pm 1,4$ баллов против $7,1 \pm 1,1$ баллов в группе сравнения ($p \leq 0,05$) – на первой минуте, $7,8 \pm 0,9$ баллов против $8,0 \pm 1,0$ баллов в группе сравнения ($p \leq 0,05$) – на пятой минуте. При сравнении подгрупп оценка по шкале Апгар была значимо ниже на первой и пятой минуте у новорожденных с ранней ЗРП: $5,5 \pm 1,2$ баллов – на первой, $7,1 \pm 0,8$ баллов – на пятой минуте против $7,7 \pm 0,5$ баллов на первой ($p \leq 0,05$) и $8,4 \pm 0,5$ баллов – на пятой минуте у новорожденных с поздней ЗРП ($p \leq 0,05$). Наши данные согласуются с данными D.S. Zubaig и соавт., свидетельствующими в пользу более низкой оценки по шкале Апгар на первой и пятой минутах в группе новорожденных с ЗРП при сопоставлении с группой сравнения [279, 280]. В основной группе у новорожденных значимо чаще встречались такие диагнозы, как: ЭНМТ при рождении – 26,8% (OR=0,1; CI=0,01-1,0; $p \leq 0,05$) с превалированием в подгруппе ранней ЗРП – 55,0% ($p \leq 0,05$); врожденная пневмония – 56,1% (OR=0,3; CI=0,1-0,8; $p \leq 0,05$) с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП – 90,0% (OR=0,04; CI=0,01-0,2; $p \leq 0,05$) при сравнении ранней и поздней форм ЗРП и с превалированием в подгруппе поздней ЗРП при сопоставлении с соответствующей гестационному сроку группой сравнения – 23,8% ($p = 0,05$); ДВС-синдром – 19,5% (OR=0,1; CI=0,01-0,9; $p \leq 0,05$), также с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП – 35,0% (OR=0,1; CI=0,01-0,9; $p \leq 0,05$), НЭК различной степени тяжести – 17,1% ($p \leq 0,05$) с преобладанием в подгруппе ранней ЗРП – 30,0% ($p \leq 0,05$) (Табл. 17,18). В основной группе значимо чаще регистрировались ВЖК различной степени тяжести – 39,0% (OR=0,1;

CI=0,02-0,4; $p \leq 0,05$) с превалированием в подгруппе ранней ЗРП – 65,0% (OR=0,1; CI=0,01-0,3; $p \leq 0,05$) (Рис. 11, 12). Кроме того, у новорожденных с ЗРП чаще наблюдались: анемия – 43,9% (OR=0,5; CI=0,2-1,2; $p > 0,05$) с статистически значимым преобладанием у новорожденных с ранней ЗРП (– 80,0% (OR=0,03; CI=0,004-0,2; $p \leq 0,05$), асфиксия различной степени тяжести – 29,3% (OR=1,1; CI=0,4-3,0; $p > 0,05$) также с достоверным преобладанием в подгруппе ранней ЗРП при сопоставлении с подгруппой поздней ЗРП – 55,0% (OR=24,4; CI=2,7-219,1; $p \leq 0,05$). В отношении остальных нозологий у новорожденных с ЗРП статистически значимых различий выявлено не было. Как видно из приведенных данных, у новорожденных основной группы отмечались нарушения с вовлечением различных систем органов. По-видимому, незрелость иммунной системы, дефицит Т- и В- лимфоцитов, характерные для ЗРП [200], обуславливают преобладание случаев врожденной пневмонии среди новорожденных с ЗРП, в особенности ранней манифестации. I.M. Bernstein и соавт. свидетельствуют об ассоциации ВЖК и ЗРП [281]. Данная ассоциация, по-видимому, обусловлена недоношенностью, преобладанием в основной группе ЭНМТ и асфиксии при рождении, что в совокупности является предрасполагающим фоном для развития ВЖК [282]. Известно, что для новорожденных с ЗРП характерно снижение уровня ферритина крови, что обусловлено нарушением транспорта железа через плаценту в условиях плацентарной недостаточности, а также недоношенностью, что объясняет преобладание анемии новорожденных в основной группе, преимущественно при ранней ЗРП. Внутриутробная гипоксия плода, наблюдаемая при ЗРП, а также преобладание асфиксии при рождении и инфекционных осложнений у новорожденных с ЗРП вносят свой вклад в развитие ДВС-синдрома, наблюдаемого с большей частотой в основной группе [283]. В литературе описана связь ЗРП с инфекционным фактором [264]. Как упоминалось ранее, значимых различий в отношении инфекций урогенитального тракта в анамнезе у матерей в группах выявлено не было (Рис. 2, 4). В этой связи мы проанализировали результаты

бактериологического исследования мазка из зева, кала и крови у новорожденных исследуемых групп в первые трое суток жизни (Рис. 13-16). В крови новорожденных с ЗРП отмечалось большее разнообразие микроорганизмов. Кроме того, были обнаружены статистически значимые различия в среднем уровне С-реактивного белка в исследуемых группах с преобладанием в основной группе, так средний показатель С-реактивного белка в основной группе составил: $10,9 \pm 13,1$ мг/л против $1,1 \pm 1,2$ мг/л в группе сравнения ($p < 0,001$); у новорожденных с ранней формой ЗРП средний показатель С-реактивного белка составил $13,8 \pm 15,2$ мг/л против $5,4 \pm 4,9$ мг/л в подгруппе поздней ЗРП. Повышение уровня С-реактивного белка в основной группе, по-видимому, ассоциировано с большей частотой врожденной и неонатальной пневмонии, а также сепсиса у новорожденных основной группы. Приведенные данные свидетельствуют о выраженном воспалительном процессе в организме новорожденных при ЗРП. При анализе результатов ПЦР было обнаружено преобладание цитомегаловирусной инфекции в молоке матерей с ранней формой ЗРП (рис. 17), при этом только у новорожденных основной группы обнаруживался ЦМВ в моче. Выявленные явления, по-видимому, связаны с иммунодефицитом и незрелостью иммунной системы у новорожденных ЗРП [200]. В основной группе отмечался более длительный средний срок пребывания детей в стационаре $27,1 \pm 22,8$ дней (ранняя ЗРП – $40,5 \pm 24,8$ дней, поздняя ЗРП – $14,4 \pm 10,2$ дней) ($p \leq 0,05$), а также более частый перевод в другие отделения (73,2%) (ранняя ЗРП – 85,0% , поздняя ЗРП – 61,9%). При этом, интересно отметить, что в подгруппе поздней ЗРП перевод в другие отделения при сопоставлении в группой сравнения встречался достоверно чаще (поздняя ЗРП – 61,9%, группа сравнения 2 – 4,8%) ($p < 0,001$). У новорожденных с ранней ЗРП в нашем исследовании была зарегистрирована смерть в неонатальном периоде – 15,0% по причине ДВС-синдрома, врожденного сепсиса, легочного кровотечения, легочно-сердечной недостаточности, НЭК ШБ стадии. Вышеизложенные данные свидетельствуют в пользу более

тяжелого состояния новорожденных с ЗРП, требующего тщательного врачебного наблюдения и лечения.

Роль мкРНК, как модуляторов значительного числа биологических процессов, активно изучается в последнее время в связи с дисфункцией плаценты. В частности, ряд исследований посвящен определению профиля экспрессии плацентоспецифичных мкРНК, в том числе циркулирующих в материнском кровотоке, которые ассоциированы с неблагоприятными исходами беременности, такими как, хорионаденома, ГСД, ПЭ и ЗРП [284, 285]. Отдельные исследования в этой связи сфокусированы на идентификации паттернов дифференциально экспрессируемых мкРНК в пуповинной крови новорожденного, отражающих его состояние, и их сопоставлении с профилем экспрессии плацентарных мкРНК с целью поиска прогностических и диагностических маркеров вышеуказанных патологий [71, 286]. Одна из задач нашего исследования была посвящена оценке профилей экспрессии мкРНК в плацентарной ткани и плазме пуповинной крови. При анализе дифференциальной экспрессии мкРНК выявлено ее достоверное разнонаправленное изменение в ткани плаценты: при ранней ЗРП – снижение экспрессии miR-221-3p и miR-451a, повышение экспрессии miR-125b-5p и miR-574-3p (рис. 18); при поздней ЗРП – повышение уровня экспрессии miR-574-3p и понижение miR-451a относительно групп сравнения (рис. 19).

Согласно данным литературы, кластер miR-221/222 составляет большую часть мкРНК, экспрессируемых в эндотелиальных клетках пупочной вены человека (HUVEC); влияя на воспаление, окислительный стресс и экспрессию рецепторов различных факторов, регулирующих ангиогенез (Flt-1, FGF-R, c-Met). Также miR-221/222 высоко представлены в эндотелиальных клетках-предшественниках, что предполагает их важную роль в регуляции развития и функции сосудистого эндотелия [287]. Несмотря на то, что данный кластер экспрессируется и в гладкомышечных клетках сосудов, и в эндотелиальных, эти мкРНК проявляют совершенно разные

биологические функции: антипролиферативные, антимиграционные и проапоптотические эффекты – в эндотелиальных клетках, и, напротив, пропролиферативные, промиграционные и антиапоптотические эффекты – в гладкомышечных клетках [287]. Было показано, что экспрессия miR-221 повышалась в гладкомышечных клетках сосудов в ответ на повреждение последних, а ее выключение приводило к подавлению их пролиферации [288]. Вторичные изменения, включающие дедифференцировку гладкомышечных клеток, которые окружают артерии плода внутри ворсин плаценты, коррелируют с отсутствием конечного диастолического кровотока в пупочной артерии и снижением веса при рождении [26]. В эндотелиальных клетках сверхэкспрессия miR-221/222 подавляет экспрессию целевого гена PGC-1 (активатора пролиферации пероксисом) – главного регулятора митохондриального биогенеза, что, в свою очередь, приводит к внутриклеточному накоплению АФК и апоптозу, а снижение ее экспрессии приводит к восстановлению уровней эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [287]. Известно, что NOS экспрессируется в плацентарном синцитиотрофобласте, в эндотелии сосудов плаценты и пуповины, где синтезируемый NO способствует низкому фетоплацентарному сосудистому сопротивлению [289]. Таким образом, учитывая имеющиеся данные о регуляции экспрессии miR-221/222 в зависимости от клеточного контекста, мы предполагаем, что наблюдаемое в настоящей работе снижение экспрессии miR-221-3p в ткани плаценты при ранней ЗРП, может оказывать позитивные эффекты на эндотелий сосудов, связанные с регуляцией соответствующих целевых генов, в частности, eNOS. МкРНК miR-125b-5p играет важную роль в регуляции сбалансированной работы про- и антиоксидантной систем. Главным регулятором экспрессии miR-125b-5p является ядерный транскрипционный фактор NRF2 – важный инициатор транскрипции генов антиоксидантных белков (гемоксигеназы 1, глутатионтрансферазы, тиоредоксинредуктазы 1 и др.) [290]. В одном из исследований было показано, что снижение уровня экспрессии miR-125b

обуславливает повышение экспрессии гена PRXL2A, являющегося положительным регулятором синтеза белка тиоредоксина и мишенью miR-125b [291]. А супрессия этого гена, вызванная повышением экспрессии miR-125b может приводить к усилению окислительного стресса, поскольку способствует снижению экспрессии NRF2 - положительного регулятора антиоксидантных генов [291]. Было показано, что подавление экспрессии miR-125b-5p в клетках линии PC-12 способствовало повышенной выработке H₂S, снижению содержания маркеров ОС – малонового диальдегида, пероксидов, а также к уменьшению числа апоптотических клеток [292]. Известно, что защитное действие H₂S при гипоксическом повреждении коррелирует с снижением уровня активных форм кислорода и повышением уровня антиоксидантов [293]. H₂S активирует NRF2, который, посредством связывания со антиоксидант-респонсивным элементом (ARE – antioxidant responsive element) в промоторной области антиоксидантных генов (СОД, каталаза, глутатионредуктаза, глутамат-цистеин лигаза, тиоредоксин 1), стимулирует их экспрессию. Кроме этого, H₂S является индуктором сигнального пути NF-κB [294]. Последний, в свою очередь, способствует активации экспрессии антиоксидантных генов, среди которых СОД, каталаза и ГП [292–299]. Принимая во внимание вышеизложенные данные, можно сделать вывод, что увеличение экспрессии miR-125b-5p в плацентарной ткани при ранней ЗРП может привести к сдвигу баланса между образованием антиоксидантных белков и свободных радикалов в сторону последних.

В нашем исследовании, как при ранней, так и при поздней ЗРП, в плацентарной ткани была выявлена сниженная экспрессия miR-451a – другой немаловажной молекулы, участвующей в защите клеток от ОС. В частности, в работе X. Wang и соавт. доказан кардиопротективный эффект miR-451a при развитии ОС в условиях ишемии. Снижение экспрессии miR-451a связано с активацией гена мишени Rac-1, ключевого компонента NADPH-оксидазы, что способствует развитию окислительного стресса [232]. Однако, существуют данные о негативной регуляции экспрессии miR-451a

эритропоэтином в культуре нейрон-подобных клеток SH-SY5Y. Примечательно, что эритропоэтин, снижая экспрессию miR-451a, способствует антиоксидантным, антиапоптотическим и нейропротективным эффектам за счет повышения экспрессии ее генов-мишеней, в частности, матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9), циклинзависимой киназы 2 (CDK2), рецептора эритропоэтина (EpoR), регулятора клеточного апоптоза (BCL2) [300].

Данных об участии miR-574-3p в регуляции ОС, повышенная экспрессия которой была нами определена в ткани плаценты при ЗРП, в литературе не найдено. Однако, показано повышение ее экспрессии при сердечно-сосудистой патологии, в частности, инфаркте миокарда [301], ассоциированном с окислительным повреждением ткани сердца в условиях ишемии/реоксигенации. Ранее сообщались данные о функциональной роли miR-574-3p в подавлении экспрессии целевого гена CUL2, который является основным компонентом убиквитин-протеин-лигазного комплекса для распознавания и, в конечном итоге, деградации HIF1 (фактора, индуцированного гипоксией), а также принимает участие в регуляции васкулогенеза и клеточного цикла. Было установлено, что экспрессия CUL2 подавляется в химиорезистентных клетках опухолей, а повышенная экспрессия мкРНК, для которых данный ген является мишенью, соответственно, ингибирует его экспрессию, способствуя, тем самым, развитию опухоли. MiR-574-3p является негативным регулятором экспрессии CUL2 [302–304]. В этой связи, мы предполагаем, что гипоксия, возникающая вследствие нарушения маточно-плацентарного кровотока при ЗРП, может индуцировать повышение экспрессии miR-574-3p и, соответственно, понижение – ее гена-мишени CUL2.

Таким образом, для обеспечения физиологического течения беременности необходима сбалансированная работа систем свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты, в регуляции которых немаловажную роль играют мкРНК. Колебания уровня мкРНК

могут приводить к сдвигу баланса в ту или иную сторону, обуславливая патологическое окислительное повреждение тканей плаценты и связанные с ним последующие гибель клеток плаценты, ее дисфункцию и нарушение роста и развития плода. В последнее время возрастает интерес к исследованию циркулирующих мкРНК в качестве неинвазивных биомаркеров патологий, связанных с дисфункцией плаценты. Пуповинная кровь является средой, отражающей гипоксическое состояние плода, тяжесть гипоксемии и метаболических нарушений. В связи с этим, в плазме пуповинной крови нами был проведен анализ уровней экспрессии тех мкРНК, для которых ранее мы выявили достоверные различия экспрессии в плацентарной ткани при ранней и поздней ЗРП. При анализе профилей экспрессии мкРНК в плазме пуповинной крови была показана дифференциальная экспрессия только miR-451a, причем ее повышение при поздней ЗРП (рис. 21 а, б). В литературе описано повышение ее экспрессии в экзосомах, выделенных из клеток-предшественников кардиомиоцитов, которое способствовало защите последних от ОС на модели острой ишемии / реперфузии миокарда *in vivo* [305]. Мы предполагаем, что эффекты повышенной экспрессии miR-451a в плазме пуповинной крови могут быть также ассоциированы с антиоксидантной защитой.

Известно, что при физиологически протекающей беременности отмечается повышение уровня ОС, который достигает пика к III триместру [234] и компенсаторно сопровождается усилением антиоксидантной защиты [233]. А гиперпродукция АФК запускает неконтролируемый каскад свободнорадикальных реакций, оказывая повреждающее действие на организм матери и плода. В связи с этим, изучение феномена окислительного стресса в организме беременных привлекает повышенное внимание исследователей. Одной из задач нашего исследования явилась оценка функционального состояния тканевых про- и антиоксидантных систем матери и плода. Чтобы охарактеризовать степень выраженности окислительного стресса, в тканях плаценты беременных измеряли уровни

двух основных продуктов ПОЛ (МДА и 4-ГН) (рис. 25, табл. 23), а также активность и содержание ферментов антиоксидантной защиты – СОД и каталазы, а также активность ГП (рис. 26, 27, табл. 24), содержание глутатиона общего, окисленного, восстановленного, впоследствии рассчитывали соотношение восстановленного глутатиона к окисленному ($\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$) (рис. 28, 29, табл. 25).

В ходе исследования при ранней ЗРП в плаценте выявлено достоверное повышение МДА ($59,0 \pm 7,1$ нмоль/мг) и 4-ГН ($42,0 \pm 6,0$ нмоль/мг) (рис. 25, табл. 23), снижение активности СОД ($11,6 \pm 2,7$ Ед/мг), каталазы ($11,7 \pm 4,6$ Ед/мг), ГП ($10,5 \pm 1,7$ Ед/мг) (рис. 26, 27, табл. 24), а также соотношения $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($0,6 \pm 0,1$) (рис. 29), что является свидетельством выраженности окислительного стресса. При поздней ЗРП наблюдали обратную картину: уровни продуктов ПОЛ были значимо снижены (МДА – $11,3 \pm 3,3$ нмоль/мг; 4-ГН – $11,0 \pm 3,3$ нмоль/мг), а активность антиоксидантных ферментов: СОД ($32,4 \pm 4,4$ Ед/мг), каталазы ($73,3 \pm 11,9$ Ед/мг) – повышена. При этом была снижена активность ГП ($12,9 \pm 1,0$ Ед/мг) и соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($1,7 \pm 0,3$). Глутатион присутствует в клетке, в основном, в восстановленной форме, тогда как количество окисленного глутатиона не превышает 1,0% от его общего внутриклеточного содержания. Поддержание оптимального соотношения $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ в клетке является важным для ее нормального функционирования, позволяет осуществлять защиту белков и ДНК митохондрий от действия АФК. В случае недостаточного уровня восстановленной формы глутатиона клетка подвергается риску окислительного повреждения [306]. Различное функциональное состояние тканевых маркеров окислительных повреждений и показателей антиоксидантной защиты в исследуемых группах может указывать на разные механизмы формирования ранней и поздней ЗРП. Нарушение ремоделирования спиральных артерий запускает неконтролируемый ОС, что наблюдается в случае ранней ЗРП [233]. Формирование аномальной сосудистой системы обуславливает изменения в гемодинамической

микроциркуляции плаценты при ЗРП, что отражается на состоянии плода. Исследование параметров окислительного стресса в плазме пуповинной крови новорожденных выявило значимые отличия по уровню МДА только для подгрупп ранней и поздней ЗРП (рис.30, табл. 26). При этом, при ранней ЗРП была обнаружена сниженная активность антиоксидантного фермента каталазы ($38,2 \pm 9,0$ Ед/мл) на фоне увеличения ее содержания (76886 ± 4878 у.е.), а также содержания СОД1 (45644 ± 3148 у.е.) и СОД2 (68353 ± 2886 у.е.) (рис. 31, 32, табл. 27). И соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ было достоверно снижено, как при ранней ($1,3 \pm 0,3$ нмоль/мл), так и при поздней ЗРП ($2,9 \pm 0,4$ нмоль/мл) относительно групп сравнения (рис. 34, табл. 28). Таким образом, на фоне снижения антиоксидантной защиты сохранялась тенденция выраженности окислительного стресса у новорождённых с ЗРП, рожденных до 34 недели беременности, обусловленная, по всей вероятности, гипоксией, приводящей к повышенной генерации АФК. А значимое снижение содержания каталазы (30729 ± 1924 у.е.), СОД1 (8122 ± 1218 у.е.) и СОД2 (9226 ± 1145 у.е.), наблюдаемое при поздней форме ЗРП, может свидетельствовать о меньшей подверженности риску окислительных повреждений у новорожденных с ЗРП, родившихся после 34 недели беременности, в виду адекватного антиоксидантного ответа по сравнению с новорожденными с ранней формой ЗРП. С целью получения полного представления о функциональном состоянии про- и антиоксидантных маркеров в системе «мать-плацента-плод», а также установления их диагностической роли, был оценен уровень окислительного стресса в плазме крови матери при ранней и поздней ЗРП (рис.35-39, табл. 29-31). При ранней ЗРП сохранялось повышенное содержание МДА ($28,0 \pm 3,0$ нмоль/мл) и 4-ГН ($19,4 \pm 2,8$ нмоль/мл) (рис. 35, табл. 29) на фоне сниженной активности СОД ($15,0 \pm 7,0$ Ед/мл) и ГП ($19,3 \pm 6,3$ Ед/мл). Однако активность каталазы ($140,0 \pm 16,0$ Ед/мл) в указанной группе была выше, чем при поздней ЗРП ($102,0 \pm 11,5$ Ед/мл) и группе сравнения соответствующего срока гестации ($91,0 \pm 9,0$ Ед/мл) (рис.36, табл. 30). СОД участвует в реакции нейтрализации

супероксид-аниона, в ходе которой образуется перекись, которую в последующем утилизирует каталаза. Повышение активности каталазы было недостаточным для утилизации перекиси, то есть для обеспечения надежной антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует повышение уровня продуктов ПОЛ, МДА и 4-ГН в плазме крови беременных при ранней ЗРП. При поздней ЗРП в плазме крови беременных наблюдалась низкая активность СОД и ГП при сопоставлении с группой сравнения соответствующего срока гестации: СОД, Ед/мл белка ($25,0 \pm 5,0$ и $40,4 \pm 8,6$, соответственно); ГП, Ед/мл белка ($28,0 \pm 4,4$ и $38,0 \pm 8,5$, соответственно) на фоне снижения содержания СОД1 (5800 ± 1498 у.е. и 13229 ± 1730 у.е., соответственно), СОД2 (6036 ± 1099 у.е. и 10525 ± 1175 у.е., соответственно), каталазы (14306 ± 2601 у.е. и 22135 ± 1824 , соответственно) и низких показателей ОС (МДА: $10,3 \pm 2,8$ и $19,0 \pm 4,0$ нмоль/мл, соответственно).

Следует отметить, что соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ было также сниженным в плазме крови матери при ранней ($0,6 \pm 0,1$ нмоль/мг) и поздней ЗРП ($2,8 \pm 0,8$ нмоль/мл), то есть сохранялась аналогичная тенденция, как в ткани плаценты и плазме пуповинной крови.

Обобщая данные о состоянии про- и антиоксидантной систем матери и плода, полученные в ходе исследования, можно сделать вывод о выраженности ОС при наблюдающейся, в целом, сниженной антиоксидантной активности как в ткани плаценты, плазме пуповинной крови, так и в плазме крови матери при ранней ЗРП. При поздней ЗРП, напротив, наблюдались низкий уровень ОС на фоне повышенной активности антиоксидантных ферментов – в плацентарной ткани, а также признаки лучшей антиоксидантной защиты – в плазме пуповинной крови плода. При этом в плазме крови матери показатели антиоксидантной защиты находились на подпороговом уровне, что, по-видимому, отражает сниженный общий защитный потенциал организма матери.

Принимая во внимание полученные нами данные по изменению экспрессии miR-125b-5p, miR-221-3p, miR-451a и miR-574-3p в плацентарной

ткани при ЗРП и учитывая регуляцию указанными мкРНК целевых генов, вовлеченных в окислительный стресс, представлялось интересным оценить взаимосвязь изменений экспрессии вышеуказанных мкРНК и показателей функционального состояния про- и антиоксидантной систем (рис. 40, 41, табл. 32).

При ранней ЗРП увеличение экспрессии miR-125b-5p может способствовать усилению окислительного стресса в плаценте, поскольку возрастает уровень МДА ($r=-0,67$, $p<0,01$) и увеличивается содержание СОД2 ($r=-0,58$, $p<0,04$), а также каталазы ($r=-0,6$, $p<0,03$). При увеличении содержания вышеуказанных ферментов, снижается их активность, а следовательно, и уровень антиоксидантной защиты (рис. 40, табл. 32). Согласно некоторым данным увеличение экспрессии miR-125b-5p приводит к сдвигу баланса между антиоксидантами белковой и небелковой природы и системами генерации свободных радикалов в сторону последних посредством подавления экспрессии потенциальных генов-мишеней, и в частности транскрипционного фактора NRF2 – инициатора транскрипции генов антиоксидантных белков [32, 291]. Значения экспрессии miR-221-3p коррелировали с содержанием СОД2 ($r=0,59$, $p<0,03$), уровнем глутатиона окисленного ($r=0,58$, $p<0,04$) и ГП ($r=-0,6$, $p<0,01$), то есть со снижением экспрессии miR-221-3p в плацентарной ткани уровень антиоксидантной защиты также снижался, поскольку содержание СОД2 и глутатиона окисленного были увеличены, а уровень ГП снижен (рис. 40, табл. 32).

При исследовании механизмов развития атерогенеза X. Zhuang. и соавт. было доказано, что окисленные липопротеины низкой плотности (ox-LDL) подавляют экспрессию miR-221-3p в клеточной линии, а воздействие иммитатора miR-221, напротив, ее повышает, что значительно снижает образование пенистых клеток, индуцированное ox-LDL[307]. То есть, увеличение экспрессии miR-221-3p может обуславливать снижение уровня ОС, что предполагает ее протективную функцию. Важно также отметить, что miR-221-3p ингибирует процесс клеточного апоптоза в макрофагах,

выполняя супрессивную роль в регуляции апоптоза клеток [307]. Экстраполируя эти данные на полученные нами результаты, мы предполагаем, что со снижением экспрессии miR-221-3p усиливается ОС при ранней ЗРП.

С уровнем экспрессии miR-451a достоверно коррелировали значения окисленной ($r=0,58$, $p<0,04$) и восстановленной формы ($r=-0,58$, $p<0,04$) неферментного антиоксиданта – глутатиона, а также соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($r=-0,56$, $p<0,05$) (рис. 40, табл. 32). Поскольку при ранней ЗРП мы наблюдали снижение экспрессии miR-451a в ткани плаценты, то установленные корреляции свидетельствуют об ослаблении антиоксидантной защиты. Существуют данные, согласно которым увеличение экспрессии miR-451a индуцирует активность антиоксидантных ферментов, в том числе, СОД, и понижает уровни АФК и МДА в нейронах путем таргетирования CELF2 [308]. Описано протективное влияние miR-451a по отношению к предшественникам эритроцитов в условиях ОС, реализуемое путем супрессии белка 14-3-3 ζ , являющегося ингибитором транскрипционного фактора FoxO3, который, в свою очередь, регулирует гены антиоксидантных ферментов, каталазы и ГП [309].

Последующий анализ корреляционных зависимостей при ранней ЗРП установил связь между уровнем экспрессии miR-574-3p, продуктом ПОЛ – 4-ГН ($r=-0,57$, $p<0,04$) содержанием каталазы ($r=-0,62$, $p<0,02$), глутатиона окисленного ($r=-0,68$, $p<0,01$) и соотношением $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($r=0,68$, $p<0,01$) в плаценте (рис. 40, табл. 32). Учитывая направленность корреляционных связей, уровень 4-ГН, окисленной формы глутатиона и содержание каталазы может увеличиваться с повышением экспрессии miR-574-3p, а соотношение $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ понижается, то есть ОС усиливается, а эффективность антиоксидантной защиты снижается, что подтверждается данными, полученными нами при оценке окислительного статуса тканей плаценты. Таким образом, повышение экспрессии miR-574-3p может способствовать интенсификации процессов окислительного повреждения.

При поздней ЗРП был проведен аналогичный поиск корреляционных связей для дифференциально экспрессирующихся miR-451a и miR-574-3p. Уровень экспрессии miR-451a значимо коррелировал с уровнем 4-ГН ($r=-0,6$, $p<0,006$), содержанием СОД1 ($r=-0,51$, $p<0,02$), СОД2 ($r=-0,63$, $p<0,004$), каталазы ($r=-0,68$, $p<0,001$), а также с активностью каталазы ($r=0,62$, $p<0,005$) и СОД ($r=0,48$, $p<0,03$) (рис. 41, табл. 32). А значения экспрессии miR-574-3p положительно коррелировали со снижением уровня 4-ГН ($r=0,54$, $p<0,01$), содержания СОД1 ($r=0,48$, $p<0,04$), СОД2 ($r=0,48$, $p<0,04$) и каталазы ($r=0,52$, $p<0,02$). Следовательно, установленные корреляции свидетельствуют в пользу снижения маркеров окислительных повреждений и повышения уровня антиоксидантов.

Однако мы отметили интересную особенность в отношении вышеуказанных корреляций: при ранней ЗРП сниженная экспрессия miR-451a ассоциирована с ослаблением антиоксидантной защиты, а при поздней, наоборот, с повышением уровня антиоксидантов. Повышенная экспрессия miR-574-3p связана с усилением ОС при ранней ЗРП, и его ослаблением – при поздней ЗРП. Следует отметить, что физиологический и патологический эффекты как секретирующихся плацентой, так и циркулирующих в фетоплацентарном кровотоке мкРНК, зависят от регуляции ею потенциальных мишеней [155].

В связи с чем разнонаправленность эффектов экспрессии мкРНК может быть обусловлена только путем тонко настроенной регуляции разных групп генов в контексте сигнальных путей, запускаемых при ранней и поздней ЗРП. То есть, в зависимости от их вовлеченности в определенный каскад, они могут выполнять либо протективную, либо триггерную роль.

Вышеуказанный вывод также нашел свое подтверждение в установленной положительной корреляции между повышенным уровнем экспрессии miR-451a, содержанием СОД1 ($r=0,62$, $p<0,002$) и СОД2 ($r=0,79$, $p<0,001$) в плазме пуповинной крови новорожденных при поздней ЗРП. В

данном контексте miR-451a ассоциирована с протективной антиоксидантной ролью.

Поскольку изменения, происходящие в плацентарной микроциркуляции при ЗРП, могут отражать взаимосвязь между экспрессией мкРНК в сосудах пуповины и данными доплерографии маточно-плацентарного и плодово-плацентарного комплекса, нам представилось интересным осуществить поиск соответствующих корреляций (табл. 21, 22). Проведенный в этой связи анализ позволил установить достоверные отрицательные корреляции ΔCt miR-451a с ПИ в ПА ($r=-0,59$, $p<0,001$) и ПСП ($r=-0,38$, $p<0,004$), а также положительную корреляцию с ЦПС ($r=0,48$, $p<0,009$) в пуповинной крови при поздней ЗРП. Следовательно, повышенный уровень экспрессии miR-451a ассоциирован с увеличением ПИ в ПА, ПСП, и со снижением ЦПС. Последний является одним из параметров, который обладает наибольшей точностью в прогнозировании перинатальных исходов и отражает перераспределение сердечного выброса в пользу мозгового кровообращения [310]. Значения ЦПС < 1 свидетельствуют о перераспределении кровотока плода к головному мозгу в ответ на снижение pO_2 [311]. При поздней форме ЗРП степень толерантности к гипоксии низкая, в отличие от ранней формы, в связи с чем, плод не может долго находиться в условиях кислородной депривации. Интересно отметить, что в нашем исследовании при анализе корреляционных связей в плацентарной ткани была установлена ассоциация сниженной экспрессии miR-451a с увеличением ПИ в МА ($r=0,62$, $p<0,001$) при ранней ЗРП. То есть, обнаруженные корреляции свидетельствуют о связи уровня экспрессии мкРНК с нарушением кровотоков в системе «мать-плацента-плод». Оценка корреляционных связей ΔCt miR-125b-5p продемонстрировала ассоциацию данной мкРНК с ПИ в ПА ($r=-0,54$, $p<0,03$) при поздней ЗРП. При этом, в плацентарной ткани обнаружены значимые корреляции ΔCt miR-125b-5p с ПИ в СМА ($r=0,79$, $p<0,0007$), ЦПС ($r=0,73$, $p<0,003$), ПМП по данным УЗИ ($r=0,54$, $p<0,05$) и весом новорожденного ($r=0,56$, $p<0,04$) при ранней ЗРП.

Известно, что нарушение плацентарного кровотока влияет на периферическое кровообращение плода. И, как следствие, при антенатальной адаптации к среде с низким содержанием кислорода наблюдается снижение мозгового и коронарного сосудистого сопротивления [312]. Помимо вышеуказанных корреляций, были также установлены корреляционные связи значений экспрессии miR-574-3p в ткани плаценты при ранней ЗРП с ПИ в МА ($r=-0,53$, $p<0,05$), ЦПС ($r=0,55$, $p<0,04$) и ПМП по данным УЗИ ($r=0,63$, $p<0,01$), которые дополняют общую картину нарушения гемодинамической микроциркуляции плаценты и состояния плода, связанную с усилением окислительного стресса при ранней ЗРП. Рядом исследований доказано влияние экзосом на функцию эндотелия, включая тонус сосудов, взаимодействие между эндотелиальными клетками и ангиогенез [313–315]. В случае плаценто-ассоциированных патологий, увеличивается выход экзосом из клеток, поскольку, их высвобождение регулируется, в том числе, изменением напряжения кислорода, концентрации глюкозы, а также и про- и антиоксидантным балансом. Кроме этого, мкРНК, как важные медиаторы в регуляции межклеточной коммуникации, конкурируют в экзосомах, мишенью которых являются эндотелиальные клетки. При этом, мкРНК могут подавлять или усиливать ангиогенез, осуществляя, таким образом, фетально-материнский механизм передачи сигналов, приводящий к сосудистой дезадаптации плода [315]. По данным Н. Huang и соавт., miR-125b-5p и miR-451a являются наиболее распространенными в экзосомах [316].

В связи с вышеизложенным, мы предполагаем, что изменение экспрессии miR-125b-5p и miR-451a посредством модуляции экспрессии целевых генов или регуляции самих мкРНК транскрипционными факторами, вовлеченными в ОС, может способствовать уменьшению васкуляризации ворсин плаценты, что приводит к увеличению периферического сопротивления сосудов плаценты, а, следовательно, увеличению ПСП, ПИ пупочной и маточной артерий, снижению ЦПС и ПИ СМА при ЗРП.

Следует также отметить, что в нашей работе со значениями ΔCt miR-125b-5p и miR-451a коррелировали гематологические показатели беременных с поздней формой ЗРП, в частности, уровень тромбоцитов и протромбин по Квику. Ранее была показана зависимость между уровнем их экспрессии и тромбоцитов плазмы периферической крови [317, 318].

Связь доплерографических характеристик плода с его гемодинамическими параметрами после рождения была показана в ряде исследований [311, 319]. При ЗРП с ранней манифестацией более неблагоприятны неврологические исходы [320], тогда как при поздней ЗРП затрагиваются поведенческие реакции [321]. В нашем исследовании были установлены корреляционные связи значений ΔCt исследуемых мкРНК с перинатальными исходами новорожденных с задержкой внутриутробного роста. В частности, ΔCt miR-125b-5p коррелировало с наличием ВЖК ($r=-0,78$, $p<0,02$) при ранней ЗРП, а ΔCt miR-451a ($r=0,52$, $p<0,04$) – при поздней ЗРП. Следует отметить, что неонатальные факторы риска в патогенезе ВЖК представляют сочетанное влияние внутриутробной гипоксии, инфекции, недоношенности, экстремально низкой массы тела при рождении [322], которые характерны для ранней ЗРП. Вовлеченность miR-125b-5p в гипоксически-ишемическое повреждение головного мозга была показана Y. Shen и соавт. на модели окклюзии средне-мозговой артерии (МСАО). Ее повышенная экспрессия подавляет в головном мозге производство восстановителя H_2S , протективное действие которого при гипоксическом повреждении коррелирует с уменьшением количества АФК и повышением уровня антиоксидантов [292]. Следовательно, изменение уровня экспрессии miR-125b-5p, которая регулирует потенциальные гены-мишени, вовлеченные в окислительный стресс и гипоксию, может способствовать развитию ВЖК у новорожденных с задержкой роста.

Учитывая превалирование ВЖК у новорожденных в основной группе и установленные корреляции значений экспрессии miR-125b-5p и miR-451a с данной патологией мы разработали модели логистической регрессии для

оценки риска развития ВЖК у новорожденных с ранней и поздней ЗРП (рис. 23, 24). Следует отметить, что в модель для поздней ЗРП были включены miR-27a-3p и miR-30b-5p, регулирующие экспрессию антиоксидантных генов. Использование данных моделей позволит с высокой чувствительностью и специфичностью предсказывать вероятность развития ВЖК у новорожденных с ранней и поздней ЗРП на основании определения уровня экспрессии вышеуказанных мкРНК. При пороговом значении (D) равном 0,72 для ранней ЗРП и 0,25 – для поздней ЗРП рекомендована профилактика ВЖК у новорожденных.

Своевременная диагностика плацентарной недостаточности и ЗРП определяет выбор оптимальных сроков родоразрешения и последующие перинатальные исходы. Кроме этого, учитывая различный патогенез ранней и поздней ЗРП, важно разработать подход к дифференциальной диагностике указанных форм. Для выполнения поставленной задачи была проведена оценка эффективности дифференцировки ЗРП на основе определения маркеров окислительного стресса и антиоксидантной защиты с использованием ROC-анализа. Полученные данные продемонстрировали, что определение уровня продуктов ПОЛ (МДА и 4-ГН) и антиоксидантов (каталаза, СОД, глутатион) в плазме крови беременных позволяет дифференцировать раннюю и позднюю формы ЗРП (при пороговом значении (D) < 0,5 – поздняя форма ЗРП (>34 недель); > 0,5 – ранняя форма ЗРП (<34 недель)) с высокой чувствительностью и специфичностью (100%) (рис.44). Алгоритм диагностики ЗРП с учетом ее патогенетических форм представлен в приложении.

Заключение

На основании проведенного исследования были выделены клинико-анамнестические факторы риска развития ЗРП: медицинские аборт и преждевременные роды в анамнезе, хроническая артериальная гипертензия, миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей. Данные факторы позволяют лишь заподозрить группу риска по развитию ЗРП. Для

диагностики ЗРП с учетом ее патогенетических форм, выбора оптимальной акушерской тактики представляется перспективным определением показателей функционального состояния про- и антиоксидантных систем в плазме крови беременной после 34 недель беременности, а для оценки рисков развития ВЖК – определение уровня экспрессии miR-125b-5p при ранней ЗРП, miR-125b, miR-451a, miR-30b, miR-27a – при поздней ЗРП в плазме пуповинной крови. Установленные неинвазивные молекулярные и биохимические маркеры ранней и поздней ЗРП позволят улучшить антенатальную диагностику и, как следствие, перинатальные исходы у новорожденных ЗРП.

Выводы

1. Наиболее значимыми предрасполагающими факторами к формированию задержки роста плода являются: хроническая артериальная гипертензия, миопия, варикозное расширение вен нижних конечностей, медицинские аборт и преждевременные роды в анамнезе.

2. Течение беременности при задержке роста плода статистически значимо чаще осложняется в III триместре артериальной гипертензией – 39,0% и маловодием – 63,4%. Ранний неонатальный период – врожденной пневмонией – 56,1%, некротизирующим энтероколитом – 17,1%, ДВС-синдромом – 19,5% и внутрижелудочковым кровоизлиянием – 39,0% ($p \leq 0,05$).

3. При ранней форме задержки роста плода достоверно чаще отмечаются – ДВС-синдром – 35,0%, внутрижелудочковое кровоизлияние – 65,0%, некротизирующий энтероколит – 30,0%, а при поздней – врожденная пневмония – 23,8% ($p \leq 0,05$).

4. Ранняя форма задержки роста сопровождается значимым повышением уровня маркеров окислительного стресса в плаценте и разнонаправленным изменением экспрессии соответствующих регуляторных микроРНК: на фоне двукратного повышения содержания МДА и 4-ГН и снижения активности антиоксидантной системы уровень экспрессии miR-

221-3p и miR-451a снижается, а miR-125b-5p и miR-574-3p – повышается ($p \leq 0,05$).

5. Поздняя форма задержки роста плода характеризуется повышением общего уровня антиоксидантной защиты на фоне низких показателей окислительного стресса в плаценте, снижения экспрессии miR-451a и повышения экспрессии miR-574-3p, а в плазме пуповинной крови – повышения экспрессии miR-451a ($p \leq 0,05$).

6. Установлена взаимосвязь уровней экспрессии регулирующих окислительный стресс мкРНК с показателями функционального состояния про- и антиоксидантной систем в плаценте. При ранней форме задержки роста плода повышенная экспрессия miR-125b-5p сопровождается увеличением уровня МДА, miR-574-3p – увеличением уровня 4-ГН, а снижение уровня экспрессии miR-221-3p сопровождается снижением активности ГП, miR-451a – соотношения $\text{Глут}_{\text{восст.}}/\text{Глут}_{\text{ок.}}$ ($p \leq 0,05$). При поздней форме задержки роста плода установлена корреляция экспрессии miR-451a со снижением уровня 4-ГН, увеличением активности СОД и каталазы, а miR-574-3p – со снижением 4-ГН ($p \leq 0,05$). В плазме пуповинной крови экспрессия miR-451a ассоциирована с повышением антиоксидантного статуса.

7. Применение моделей логистической регрессии позволяет оценить риск развития внутрижелудочкового кровоизлияния у новорожденных с задержкой роста плода: при ранней форме – на основании определения уровня экспрессии miR-125b-5p, при поздней – miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p в плазме пуповинной крови новорожденных.

8. Алгоритм диагностики задержки роста плода с учетом патогенетических форм позволяет снизить риски неблагоприятных перинатальных исходов.

Практические рекомендации

1. Беременных с медицинским абортom и преждевременными родами в анамнезе, а также с наличием хронической артериальной гипертензии,

миопии, варикозного расширения вен нижних конечностей следует отнести в группу риска развития задержки роста плода.

2. Для дифференциальной диагностики ранней и поздней формы задержки роста плода целесообразно определение маркеров функционального состояния про- и антиоксидантной систем: МДА, 4-ГН, содержания и активности каталазы, активности СОД, глутатиона общего, его окисленной и восстановленной форм, а также их соотношения в плазме крови беременных с использованием модели логистической регрессии (пороговое значение $> 0,5$).

3. Для оценки риска развития внутрижелудочкового кровоизлияния у новорожденных с задержкой роста плода рекомендовано использование моделей логистической регрессии на основе определения уровня экспрессии miR-125b-5p – при ранней форме задержки роста плода (пороговое значение $> 0,72$) и уровней экспрессии miR-125b-5p, miR-451a, miR-30b-5p, miR-27a-3p – при поздней форме задержки роста плода (пороговое значение $> 0,25$) в плазме пуповинной крови.

4. Для диагностики задержки роста плода с учетом ее патогенетических форм целесообразно использование разработанного алгоритма на основании определения уровня малонового диальдегида, 4-гидроксиноненаля, глутатиона, активности супероксиддисмутазы, активности и содержания каталазы.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ:

АД: артериальное давление

АФК: активные формы кислорода

АФА: антифосфолипидные антитела

АФС: антифосфолипидный синдром

АЧТВ: активированное частичное тромбопластиновое время

ВДМ: высота дна матки

ВЖК: внутрижелудочковое кровоизлияние

ВОЗ: Всемирная организация здравоохранения

ВПГ: вирус простого герпеса

ВПЧ: вирус папилломы человека

ВРТ: вспомогательные репродуктивные технологии

ГАГ: гестационная артериальная гипертензия

Глут_{восст.}: глутатион восстановленный

Глут_{общ.}: глутатион общий

Глут_{ок.}: глутатион окисленный

ГСД: гестационный сахарный диабет

4-ГН: 4- гидроксинафеналь

ГП: глутатион пероксидаза

ДВС-синдром: синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ДН: дыхательная недостаточность

ДНК: дезоксирибонуклеиновая кислота

ЗРП: задержка роста плода

ИР: индекс резистентности

кДНК: комплементарная ДНК

КТГ: кардиотокография

ЛДГ: лактатдегидрогеназа

МА: маточная артерия

МДА: малоновый диальдегид

МКБ-10: международная классификация болезней 10-го пересмотра

мкРНК: микроРНК

МПК: маточно-плацентарный кровоток

НМГ: низкомолекулярные гепарины

НЭК: некротизирующий энтероколит

ОАГА: отягощенный акушерско-гинекологический анамнез

ОНМТ: очень низкая масса тела

ОРЗ: острое респираторное заболевание

ОС: окислительный стресс

ПА: пупочная артерия

пЗРП: поздняя ЗРП

ПИ: пульсационный индекс

ПМП: предполагаемая масса плода

ПН: плацентарная недостаточность

ПОЛ: перекисное окисление липидов

ПСП: показатель состояния плода

ПЦР: полимеразная цепная реакция

ПЭ: преэклампсия

РДВ: раздельное диагностическое выскабливание

РДС: респираторный дистресс-синдром

рЗРП: ранняя ЗРП

РНК: рибонуклеиновая кислота

СЗРП: синдром задержки роста плода

СКВ: системная красная волчанка

СМА: среднемозговая артерия

СОД: супероксиддисмутаза

СОД1: цитоплазматическая медь/цинк-содержащая супероксиддисмутаза-1

СОД2: митохондриальная марганец-содержащая супероксиддисмутаза-2

СОД3: внеклеточная медь/цинк-содержащая супероксиддисмутаза-3

СПКЯ: синдром поликистозных яичников

УЗИ: ультразвуковое исследование

ФПК: фетоплацентарный кровоток

ХАГ: хроническая артериальная гипертензия

ХБП: хроническая болезнь почек

ЦМВ: цитомегаловирус

ЦПС: церебро-плацентарное соотношение

ЭДТА: этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭНМТ: экстремально низкая масса тела

ВCL2: регулятор апоптоза; белок, ассоциированный с В-клеточной лимфомой 2

С14МС: кластер мкРНК хромосомы 14

С19МС: кластер мкРНК хромосомы 19

С677Т: полиморфный локус гена метилентетрагидрофолатредуктазы

САТ: каталаза

DV: венозный проток

EGF: эпидермальный фактора роста

EpoR: рецептор эритропоэтина

ErbB: семейство белков-рецепторов эпидермального фактора роста

FGF: фактор роста фибробластов

EGFR: рецептор эпидермального фактора роста

FGFR1: рецептор фактора роста фибробластов 1

FOXO: семейство транскрипционных факторов Forkhead подкласса O

CBS: цистатионин- β -синтаза

CDK2: циклинзависимая киназа 2

CO₂: углекислый газ

eNOS: эндотелиальная синтаза оксида азота

GC: глутатион общий

GN: 4-гидроксиноненаль

GO: глутатион окисленный

GR: соотношение глутатиона восстановленного к глутатиону окисленному

GSH: глутатион восстановленный

GSH-Px: глутатион пероксидаза

GSSG: глутатион окисленный

HIF-1 α : субъединица α фактора, индуцируемого гипоксией 1

HIF-1: фактор, индуцируемый гипоксией 1

IGF1: инсулиноподобный фактор роста 1

IGF2: инсулиноподобный фактор роста 2

IGF1R: рецептор инсулиноподобного фактора роста 1

IL-1: интерлейкин-1

IL-6: интерлейкин-6

K⁺: калий

КА: каталаза (активность)

КАТ: каталаза (содержание)

KCIP-1: Protein kinase C inhibitor protein 1; белок, относящийся к семейству фосфосерин/треонинсвязывающих белков

МАРК: митоген-активируемая протеинкиназа

MDA: малоновый диальдегид

MEK1: митоген-активированная протеинкиназа 1

MESDC1: mesoderm development candidate 1; ген-мишень miR-574-3p

MMP9: матриксная металлопротеиназа 9

MTHFR: метилентетрагидрофолатредуктаза

N>34: группа сравнения (срок беременности: более 34 недель)

N<34: группа сравнения (срок беременности: менее 34 недель)

NADPH-оксидаза: (никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный)-оксидаза

NF-κB: ядерный транскрипционный фактор каппа В

NO: оксид азота

NRF2: ядерный транскрипционный эритроидный фактор 2

O₂: кислород

P<34: ранняя ЗРП

P>34: поздняя ЗРП

PAI-I: ингибитор активатора плазминогена-I

PDGF: тромбоцитарный фактор роста

PRXL2A: Peroxiredoxin-like 2A; ген, относящийся к пероксиредоксин-подобному семейству

sFlt-1: растворимая fms-подобная тирозинкиназа-1

SOD: супероксиддисмутаза (активность)

TAS: общий антиоксидантный статус

TGF-β: трансформирующий фактор роста β

tGSH: глутатион тотальный

TNF-a: фактор некроза опухоли-альфа

TOS: общий оксидантный статус

VEGF: фактор роста эндотелия сосудов

Wnt: сигнальный путь, участвующий в регуляции дифференцировки клеток, эмбриогенезе и онкогенезе

14-3-3zeta: Protein kinase C inhibitor protein 1; белок, относящийся к семейству фосфосерин/треонинсвязывающих белков

14q32: бэнд 32 длинного плеча хромосомы 14

19q13.41: бэнд 13.41 длинного плеча 19 хромосомы

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Долгушина Н.В. Роль детоксикационной терапии в профилактике задержки роста плода / Долгушина Н.В., Казанцева Е.В., Терешков П.П., Пивоварова Л.В. // Гинекология – 2016. – Т. 18 – № 2 – С.19–23.
2. Сухих Г.Т. Роль дисфункции стволовых клеток в развитии больших акушерских синдромов / Сухих Г.Т., Силачев Д.Н., Горюнов К.В., Волочаева М.В., Шмаков Р.Г. // Акушерство и гинекология – 2018. – № 7 – С.5–11.
3. Тютюнник В.Л. Роль полиморфизма гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) в формировании задержки роста плода / Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Мантрова Д.А., Ломова Н.А., Климанцев И.В., Донников А.Е. // Акушерство и гинекология – 2018. – № 12 – С.23–28.
4. Gardosi J. Customized growth charts: rationale, validation and clinical benefits / Gardosi J., Francis A., Turner S., Williams M. // American Journal of Obstetrics and Gynecology – 2018. – Т. 218 – № 2S – С.S609–S618.
5. Papageorghiou A.T. The INTERGROWTH-21 st fetal growth standards: toward the global integration of pregnancy and pediatric care / Papageorghiou A.T., Kennedy S.H., Salomon L.J., Altman D.G., Ohuma E.O., Stones W., Gravett M.G., Barros F.C., Victora C., Purwar M., Jaffer Y., Noble J.A., Bertino E., Pang R., Cheikh Ismail L., Lambert A., Bhutta Z.A., Villar J. // American Journal of Obstetrics and Gynecology – 2018. – Т. 218 – № 2S – С.S630–S640.
6. Lees C.C. ISUOG Practice Guidelines: diagnosis and management of small-for-gestational-age fetus and fetal growth restriction / Lees C.C., Stampalija T., Baschat A., Silva Costa F. da, Ferrazzi E., Figueras F., Hecher K., Poon L.C., Salomon L.J., Unterscheider J. // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology – 2020. – Т. 56 – № 2 – С.298–312.
7. Стрижаков А.Н. Синдром задержки роста плода. Патогенез. Диагностика. Лечение. Акушерская тактика. / А. Н. Стрижаков, И. В. Игнатко, Е. В. Тимохина, Л. Д. Белоцерковцева – Москва: ГЭОТАР-МЕДИА, 2014.– 12с.
8. Стрижаков А.Н. Антенатальное метаболическое и эндокринное

- программирование при беременности высокого риска / Стрижаков А.Н., Игнатко И.В., Байбулатова Ш.Ш., Богомазова И.М. // *Акушерство и гинекология* – 2016. – № 10 – С.39–47.
9. Crispi F. Long-term cardiovascular consequences of fetal growth restriction: biology, clinical implications, and opportunities for prevention of adult disease / Crispi F., Miranda J., Gratacós E. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2018. – Т. 218 – № (2S) – С.S869- S879.
10. Priante E. Intrauterine growth restriction: New insight from the metabolomic approach / Priante E., Verlato G., Giordano G., Stocchero M., Visentin S., Mardegan V., Baraldi E. // *Metabolites* – 2019. – Т. 9 – № 11 – С.267.
11. Anderson N.H. Maternal and pathological pregnancy characteristics in customised birthweight centiles and identification of at-risk small-for-gestational-age infants: A retrospective cohort study / Anderson N.H., Sadler L.C., Stewart A.W., McCowan L.M.E. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2012. – Т. 119 – № 7 – С.848–856.
12. Gardosi J. Maternal and fetal risk factors for stillbirth: population based study. / Gardosi J., Madurasinghe V., Williams M., Malik A., Francis A. // *BMJ (Clinical research ed.)* – 2013. – Т. 346 – С.108.
13. Mayer C. Fetal growth: a review of terms, concepts and issues relevant to obstetrics. / Mayer C., Joseph K.S. // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2013. – Т. 41 – № 2 – С.136–45.
14. Onis M. de Levels and patterns of intrauterine growth retardation in developing countries. / Onis M. de, Blössner M., Villar J. // *European journal of clinical nutrition* – 1998. – Т. 52 Suppl 1 – С.S5-15.
15. Макаров И.О. Задержка роста плода. Врачебная тактика. / И. О. Макаров, Е. В. Юдина, Е. И. Боровкова – М.: МЕД- прес-информ, 2012.
16. Ходжаева З.С. Ацетилсалициловая кислота в профилактике преэклампсии и ассоциированных акушерских и перинатальных осложнений / Ходжаева З.С., Холин А.М., Чулков В.С., Муминова К.Т. // *Акушерство и гинекология*

– 2018. – № 8 – С.12–19.

17. Tay J. Early and late preeclampsia are characterized by high cardiac output, but in the presence of fetal growth restriction, cardiac output is low: insights from a prospective study / Tay J., Foo L., Masini G., Bennett P.R., McEniery C.M., Wilkinson I.B., Lees C.C. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2018. – Т. 218 – № 5 – С.517.e1-517.e12.

18. Долгушина В.Ф. Особенности анамнеза, течения беременности и исходы родов при задержке роста плода в сочетании с преэклампсией / Долгушина В.Ф., Фартунина Ю.В., Вереина Н.К., Надвикова Т.В., Коляда Е.В., Филиппова Н.А. // *Уральский медицинский журнал* – 2020. – Т. 3 – № 186 – С.164–168.

19. Figueras F. Diagnosis and surveillance of late-onset fetal growth restriction / Figueras F., Caradeux J., Crispi F., Eixarch E., Peguero A., Gratacos E. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2018. – Т. 218 – № 2S – С.S790- S802.e1.

20. Железова М.Е. Задержка роста плода: современные подходы к диагностике и ведению беременности / Железова М.Е., Зефирова Т.П., Канюков С.. // *Практическая медицина* – 2019. – Т. 17 – № 4 – С.8–14.

21. Caradeux J. Diagnostic performance of third-trimester ultrasound for the prediction of late-onset fetal growth restriction: a systematic review and meta-analysis / Caradeux J., Martinez-Portilla R.J., Peguero A., Sotiriadis A., Figueras F. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2019. – Т. 220 – № 5 – С.449- 459.e19.

22. Seravalli V. Managing fetal growth restriction: Surveillance tests and their interpretation / Seravalli V., Tommaso M.D.I., Petraglia F. // *Minerva Ginecologica* – 2019. – Т. 71 – № 2 – С.81–90.

23. Figueras F. Intrauterine growth restriction: New concepts in antenatal surveillance, diagnosis, and management // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2011. – Т. 204. – № 4. – 288–300с.

24. Giabicani E. Diagnosis and management of postnatal fetal growth restriction /

- Giabicani E., Pham A., Brioude F., Mitanchez D., Netchine I. // *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism* – 2018. – Т. 32 – № 4 – С.523–534.
25. Дегтярева Е.А. Эффективность прогнозирования и ранней диагностики задержки роста плода / Дегтярева Е.А., Захарова О.А., Куфа М.А., Кантемирова, М.Г. Радзинский В.Е. // *Российский вестник перинатологии и педиатрии* – 2018. – Т. 63 – № 6 – С.37–45.
26. Burton G.J. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction / Burton G.J., Jauniaux E. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2018. – Т. 218 – № 2S – С.745–761.
27. Diksha P. Why we miss fetal growth restriction: Identification of risk factors for severely growth-restricted fetuses remaining undelivered by 40 weeks gestation / Diksha P., Permezel M., Pritchard N. // *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2018. – Т. 58 – № 6 – С.674–680.
28. Nawathe A. Early onset fetal growth restriction / Nawathe A., Lees C. // *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology* – 2017. – № 38 – С.24–37.
29. Jacobsson B. Cerebral palsy and restricted growth status at birth: Population-based case-control study / Jacobsson B., Ahlin K., Francis A., Hagberg G., Hagberg H., Gardosi J. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2008. – Т. 115 – № 10 – С.1250–1255.
30. Beksac M.S. A Cut-off Value for Gestational Week at Birth for Better Perinatal Outcomes in Early- And Late-Onset Fetal Growth Restriction / Beksac M.S., Fadiloglu E., Tanacan A., Mamopoulos A., Basol M., Muresan D., Athanasiadis A. // *Zeitschrift fur Geburtshilfe und Neonatologie* – 2019. – Т. 223 – № 5 – С.289–296.
31. Inácio Q. Perinatal Outcomes of Fetuses with Early Growth Restriction, Late Growth Restriction, Small for Gestational Age, and Adequate for Gestational Age / Inácio Q., Júnior E.A., Nardoza L.M.M., Petrini C.G., Campos V.P., Peixoto A.B. // *Rev Bras Ginecol Obstet.* – 2019. – Т. 41 – № 12 – С.688–696.

32. Высоких М.Ю. Клиническая значимость определения малонового диальдегида и активности каталазы при преждевременных родах / Высоких М.Ю., Тютюнник В.Л., Кан Н.Е., Курчакова Т.А., Суханова Ю.А., Володина М.А., Тарасова Н.В., Цвиркун Д.В., Меджидова М.К., Арушанова А.Г. // *Акушерство и гинекология* – 2017. – № 4 – С.62–67.
33. Ходжаева З.С. Клинико-лабораторная оценка состояния митохондрий плаценты при тяжелой преэклампсии / Ходжаева З.С., Вавина О.В., Вишнякова П.А., Муминова К.Т., Тарасова Н.В., Высоких М.Ю., Сухих Г.Т. // 2017 – № 9 – С.72–76.
34. Cuffe J. Biomarkers of oxidative stress in pregnancy complications / Cuffe J., Xu Z., Perkins A. // *Biomarkers in Medicine* – 2017. – Т. 11 – № 3 – С.295–306.
35. Schoots M.H. Oxidative stress in placental pathology / Schoots M.H., Gordijn S.J., Scherjon S.A., Goor H. van, Hillebrands J.L. // *Placenta* – 2018. – Т. 69 – С.153–161.
36. Biri A. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction / Biri A., Bozkurt N., Turp A., Kavutcu M., Himmetoglu O., Durak I. // *Gynecol Obstet Invest* – 2007. – Т. 64 – № 4 – С.187–192.
37. Longini M. Isoprostanes in amniotic fluid: A predictive marker for fetal growth restriction in pregnancy / Longini M., Perrone S., Kenanidis A. // *Free Radic Biol Med* – 2005. – Т. 38 – С.1537– 1541.
38. Kamath U. Maternal and fetal indicators of oxidative stress during intrauterine growth retardation (IUGR) / Kamath U., Rao G., Kamath S.U., Rai L. // *Indian Journal of Clinical Biochemistry* – 2006. – Т. 21 – № 1 – С.111–115.
39. Mert I. Role of oxidative stress in preeclampsia and intrauterine growth restriction. / Mert I., Oruc A.S., Yuksel S., Cakar E.S., Buyukkagnici U., Karaer A., Danisman N. // *The journal of obstetrics and gynaecology research* – 2012. – Т. 38 – № 4 – С.658–64.
40. Awamleh Z. Placental microRNAs in pregnancies with early onset intrauterine growth restriction and preeclampsia: Potential impact on gene expression and pathophysiology / Awamleh Z., Gloor G.B., Han V.K.M. // *BMC Medical*

Genomics – 2019. – Т. 12 – № 1 – С.91.

41. Дворецкая Ю.Д. МикроРНК- модуляция процесса митохондриального разобщения как потенциальная терапевтическая стратегия при экспериментальном диабете / Ю. Д. Дворецкая, В. Ю. Гланц – Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет) (Москва), 2018.– 20–22с.
42. Береснева О.Н. МикроРНК-21 и ремоделирование миокарда при сокращении массы действующих нефронов крысы / Береснева О.Н., Зарайский М.И., Куликов А.Н., Парастаева М.М., Иванова Г.Т., Оковитый С.В., Галкина О.В., Кучер А.Г., Каюков И.Г. // Артериальная гипертензия – 2019. – Т. 25 – № 2 – С.191–199.
43. Мурашко А.В. Исследование уровней микроРНК в плазме крови у беременных женщин с гестационной артериальной гипертензией, преэклампсией и синдромом задержки роста плода / Мурашко А.В., Симонова М.С., Горюнова А.Г., Чебанов Д.К., Абрамов А.А., Чаплыгин Е.Ю. // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева – 2018. – Т. 5 – № 2 – С.88–92.
44. Забанова Е.А. МикроРНК регуляция в генезе задержки роста плода / Забанова Е.А., Кузнецова Н.Б., Шкурят Т.П., Бутенко Е.В. // Акушерство и гинекология – 2019. – № 12 – С.5–11.
45. Hu X.Q. MicroRNAs in Uteroplacental Vascular Dysfunction / Hu X.Q., Zhang L. // Cells – 2019. – Т. 8 – № 11 – С.1344.
46. Gusar V. MiRNAs Regulating Oxidative Stress: A Correlation with Doppler Sonography of Uteroplacental Complex and Clinical State Assessments of Newborns in Fetal Growth Restriction / Gusar V., Ganichkina M., Chagovets V., Kan N., Sukhikh G. // Journal of Clinical Medicine – 2020. – Т. 9 – № 10 – С.3227.
47. Meng M. Whole genome miRNA profiling revealed miR-199a as potential placental pathogenesis of selective fetal growth restriction in monochorionic twin pregnancies / Meng M., Cheng Y.K.Y., Wu L., Chaemsaitong P., Leung M.B.W.,

- Chim S.S.C., Sahota D.S., Li W., Poon L.C.Y., Wang C.C., Leung T.Y. // *Placenta* – 2020. – № 92 – С.44–53.
48. Östling H. Placental expression of microRNAs in infants born small for gestational age / Östling H., Kruse R., Helenius G., Lodefalk M. // *Placenta* – 2019. – № 81 – С.46–53.
49. Zucker S.N. Nrf2 Amplifies Oxidative Stress via Induction of Klf9 / Zucker S.N., Fink E.E., Bagati A., Mannava S., Bianchi-Smiraglia A., Bogner P.N., Wawrzyniak J.A., Foley C., Leonova K.I., Grimm M.J., Moparthy K., Ionov Y., Wang J., Liu S., Sexton S., Kandel E.S., Bakin A.V., Zhang Y., Kaminski N., Segal B.H., Nikiforov M.A. // *Molecular Cell* – 2014. – Т. 53 – № 6 – С.916–928.
50. Cai M. Small Molecule, Big Prospects: MicroRNA in Pregnancy and Its Complications / Cai M., Kolluru G., Ahmed A. // *J Pregnancy* – 2017. – Т. 2017 – С.1–15.
51. Addo K.A. Placental microRNAs: Responders to environmental chemicals and mediators of pathophysiology of the human placenta / Addo K.A., Palakodety N., Hartwell H.J., Tingare A., Fry R.C. // *Toxicology Reports* – 2020. – Т. 7 – С.1046–1056.
52. Hayder H. MicroRNAs: Crucial regulators of placental development / Hayder H., O'Brien J., Nadeem U., Peng C. // *Reproduction* – 2018. – Т. 155 – № 6 – С.R259–R271.
53. Пакин В.С. Оценка уровня микроРНК в плаценте при тяжелом гестозе на фоне гестационного сахарного диабета / Пакин В.С., Вашукова Е.С., Капустин Р.В., Аржанова О.Н., Глотов А.С., Баранов В.С. // *Журнал акушерства и женских болезней* – 2017. – Т. 66 – № 3 – С.110–115.
54. Sadovsky Y. The function of trophomirs and other micromnas in the human placenta / Sadovsky Y., Mouillet J.F., Ouyang Y., Bayer A., Coyne C.B. // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine* – 2015. – Т. 5 – № 8 – С.1–16.
55. Bertero T. Impact of MicroRNAs in the Cellular Response to Hypoxia / Bertero T., Rezzonico R., Pottier N., Mari B. // *International Review of Cell and Molecular Biology* – 2017. – № 333 – С.91–158.

56. Engedal N. From oxidative stress damage to pathways, networks, and autophagy via microRNAs / Engedal N., Žerovnik E., Rudov A., Galli F., Olivieri F., Procopio A.D., Rippo M.R., Monsurrò V., Betti M., Albertini M.C. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* – 2018. – № 2018 – C.1–16.
57. Pineles B.L. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia / Pineles B.L., Romero R., Montenegro D., Tarca A.L., Han Y.M., Kim Y.M., Draghici S., Espinoza J., Kusanovic J.P., Mittal P., Hassan S.S., Kim C.J. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2007. – T. 196 – № 3 – C.261.
58. Zhang Y. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating CYR61 / Zhang Y., Diao Z., Su L., Sun H., Li R., Cui H., Hu Y. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2010. – T. 202 – C.466.e1–466.e7.
59. Takizawa T. Hydroxysteroid (17- β) dehydrogenase 1 is dysregulated by miR-210 and miR-518c that are aberrantly expressed in preeclamptic placentas: A novel marker for predicting preeclampsia / Takizawa T., Ishibashi O., Ohkuchi A., Moksed Ali M., Kurashina R., Luo S.S., Ishikawa T., Takizawa T., Hirashima C., Takahashi K., Migita M., Ishikawa G., Yoneyama K., Asakura H., Izumi A., Matsubara S., Takeshita T. // *Hypertension* – 2012. – T. 59 – № 2 – C.265–273.
60. Lee D.C. MiR-210 targets iron-sulfur cluster scaffold homologue in human trophoblast cell lines: Siderosis of interstitial trophoblasts as a novel pathology of preterm preeclampsia and small-for-gestational-age pregnancies / Lee D.C., Romero R., Kim J.S., Tarca A.L., Montenegro D., Pineles B.L., Kim E., Lee J., Kim S.Y., Draghici S., Mittal P., Kusanovic J.P., Chaiworapongsa T., Hassan S.S., Kim C.J. // *American Journal of Pathology* – 2011. – T. 179 – № 2 – C.590–602.
61. Gandhi S.U. Curcumin and synthetic analogs induce reactive oxygen species and decreases specificity protein (Sp) transcription factors by targeting microRNAs / Gandhi S.U., Kim K., Larsen L., Rosengren R.J., Safe S. // *BMC Cancer* – 2012. – T. 12 – C.564.
62. Magenta A. Oxidative stress and microRNAs in vascular diseases / Magenta A., Greco S., Gaetano C., Martelli F. // *International Journal of Molecular Sciences*

– 2013. – T. 14 – № 9 – C.17319–17346.

63. Cicchillitti L. Hypoxia-inducible factor 1-alpha induces miR-210 in normoxic differentiating myoblasts / Cicchillitti L., Stefano V. Di, Isaia E., Crimaldi L., Fasanaro P., Ambrosino V., Antonini A., Capogrossi M.C., Gaetano C., Piaggio G., Martelli F. // *Journal of Biological Chemistry* – 2012. – T. 287 – № 53 – C.44761–44771.

64. Zaccagnini G. Hypoxia-Induced miR-210 Modulates Tissue Response to Acute Peripheral Ischemia / Zaccagnini G., Maimone B., Stefano V. Di, Fasanaro P., Greco S., Perfetti A., Capogrossi M.C., Gaetano C., Martelli F. // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2014. – T. 21 – № 8 – C.1177–1188.

65. Devlin C. MiR-210: More than a silent player in hypoxia // *IUBMB Life*. – 2011. – T. 63. – № 2. – 94–100c.

66. Rudov A. Involvement of miRNAs in Placental Alterations Mediated by Oxidative Stress / Rudov A., Balduini W., Carloni S., Perrone S., Buonocore G., Albertini M.C. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* – 2014. – № 2014 – C.103068.

67. Zhu X. ming Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies / Zhu X. ming, Han T., Sargent I.L., Yin G. wu, Yao Y. qing // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2009. – T. 200 – № 6 – C.661.e1–661.e7.

68. Hu Y. Differential expression of microRNAs in the placentae of Chinese patients with severe pre-eclampsia / Hu Y., Li P., Hao S., Liu L., Zhao J., Hou Y. // *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* – 2009. – T. 47 – № 8 – C.923–929.

69. Hromadnikova I. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction / Hromadnikova I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. // *PLoS ONE* – 2015. – T. 10 – № 9.

70. Hromadnikova I. Gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction induce dysregulation of cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs in maternal whole peripheral blood / Hromadnikova

- I., Kotlabova K., Hympanova L., Krofta L. // *Thrombosis Research* – 2016. – № 137 – C.126–140.
71. Hromadnikova I. Profiling of cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNA expression in umbilical cord blood in gestational hypertension, preeclampsia and fetal growth restriction / Hromadnikova I., Kotlabova K., Ivankova K., Vedmetskaya Y., Krofta L. // *International Journal of Cardiology* – 2017. – № 249 – C.402–409.
72. Ayaz L. Evaluation of microRNA responses in ARPE-19 cells against the oxidative stress / Ayaz L., Dinç E. // *Cutaneous and Ocular Toxicology* – 2018. – T. 37 – № 2 – C.121–126.
73. Yang Z. Oxidative stress-induced miR-27a targets the redox gene nuclear factor erythroid 2-related factor 2 in diabetic embryopathy / Yang Z., Dong D., Reece A., Wang A.R., Yang P. // *American Journal of Obstetrics & Gynecology* – T. 218 – № 1 – C.136.e1-136.e10.
74. Hromadnikova I. Extracellular Nucleic Acids in Maternal Circulation as Potential Biomarkers for Placental Insufficiency / Hromadnikova I. // *DNA and Cell Biology* – 2012. – T. 31 – № 7 – C.1221–1232.
75. Higashijima A. Characterization of placenta-specific microRNAs in fetal growth restriction pregnancy / Higashijima A., Miura K., Mishima H., Kinoshita A., Jo O., Abe S., Hasegawa Y., Miura S., Yamasaki K., Yoshida A., Yoshiura K. ichiro, Masuzaki H. // *Prenatal Diagnosis* – 2013. – T. 33 – № 3 – C.214–222.
76. Wang D. Altered expression of miR-518b and miR-519a in the placenta is associated with low fetal birth weight / Wang D., Na Q., Song W.W., Song G.Y. // *American Journal of Perinatology* – 2014. – T. 31 – № 9 – C.729–734.
77. Meruvu S. Mono-(2-ethylhexyl) Phthalate Increases Oxidative Stress Responsive miRNAs in First Trimester Placental Cell Line HTR8/SVneo / Meruvu S., Zhang J., Choudhury M. // *Chemical Research in Toxicology* – 2016. – T. 29 – № 3 – C.430–435.
78. Cheng Y. MicroRNA-30e regulates TGF- β -mediated NADPH oxidase 4-dependent oxidative stress by Snai1 in atherosclerosis / Cheng Y., Zhou M., Zhou

- W. // *International Journal of Molecular Medicine* – 2019. – Т. 43 – № 4 – С.1806–1816.
79. Игнатко И.В. Прогностические маркеры синдрома задержки роста плода / Игнатко И.В., Мирющенко М.М. // *Здоровье и образование в XXI веке* – 2016. – Т. 18 – № №1 – С.1–4.
80. Стрижаков А.Н. Прогнозирование синдрома задержки роста плода у беременных высокого риска / Стрижаков А.Н., Мирющенко М.М., Игнатко И.В., Попова Н.Г., Флорова В.С., Кузнецов А.С. // *Акушерство и гинекология* – 2017. – № 7 – С.34–44.
81. Радзинский В.Е. Влияние эндотелий-опосредованных факторов на формирование акушерской патологии при метаболических нарушениях / Радзинский В.Е., Палиева Н.В., Боташева Т.Л., Железнякова Е.В. // *Современные проблемы науки и образования* – 2016. – № 5 – С.30.
82. Morano D. Cell-Free DNA (cfDNA) Fetal Fraction in Early- and Late-Onset Fetal Growth Restriction / Morano D., Rossi S., Lapucci C., Pittalis M.C., Farina A. // *Molecular Diagnosis and Therapy* – 2018. – № 22 – С.613–619.
83. ACOG Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. / ACOG // *Obstetrics and gynecology* – 2013. – Т. 121 – № 5 – С.1122–1133.
84. Unterscheider J. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: The multicenter prospective PORTO study / Unterscheider J., Daly S., Geary M.P., Kennelly M.M., McAuliffe F.M., O'Donoghue K., Hunter A., Morrison J.J., Burke G., Dicker P., Tully E.C., Malone F.D. // *Obstetrical and Gynecological Survey* – 2013.
85. Айламазян Э.К. Акушерство. Национальное руководство / Э. К. Айламазян, В. И. Кулаков, В. Е. Радзинский, Г. М. Савельева – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
86. Battaglia F.C. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age / Battaglia F.C., Lubchenco L.O. // *The Journal of Pediatrics* – 1967. – Т. 71 – № 2 – С.159–163.
87. Zhang J. Prenatal application of the individualized fetal growth reference /

Zhang J., Mikolajczyk R., Grewal J., Neta G., Klebanoff M. // *American Journal of Epidemiology* – 2011. – T. 173 – № 5 – C.539–543.

88. Seeds J.W. Impaired growth and risk of fetal death: Is the tenth percentile the appropriate standard? / Seeds J.W., Peng T., Grimes D.A., Hale R.W., Saade G., Goodlin R.C., Gabbe S.G. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 1998. – T. 178 – № 4 – C.658–669.

89. RCOG The Investigation and Management of the Small-for-Gestational-Age Fetus / RCOG // RCOG, Green-top Guideline – 2014. – T. No. 31.

90. Lausman A. Intrauterine Growth Restriction: Screening, Diagnosis, And Management / Lausman A., Kingdom J., Gagnon R., Basso M., Bos H., Crane J., Davies G., Delisle M.F., Hudon L., Menticoglou S., Mundle W., Ouellet A., Pressey T., Pylypjuk C., Roggensack A., Sanderson F. // *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada* – 2013. – T. 35 – № 8 – C.741–748.

91. Clausson B. Perinatal outcome in SGA births defined by customised versus population-based birthweight standards / Clausson B., Gardosi J., Francis A., Cnattingius S. // *British Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2001. – T. 108 – № 8 – C.830–834.

92. Figueras F. Customised birthweight standards accurately predict perinatal morbidity / Figueras F., Figueras J., Meler E., Eixarch E., Coll O., Gratacos E., Gardosi J., Carbonell X. // *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition* – 2007. – T. 92 – № 4 – C.F277–F280.

93. Odibo A.O. Association between pregnancy complications and small-for-gestational-age birth weight defined by customized fetal growth standard versus a population-based standard. / Odibo A.O., Francis A., Cahill A.G., Macones G. a, Crane J.P., Gardosi J. // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* – 2011. – T. 24 – № 3 – C.411–417.

94. Figueras F. Update on the diagnosis and classification of fetal growth restriction and proposal of a stage-based management protocol // *Fetal Diagn.*

Ther. – 2014. – T. 36. – № 2. – 86–98c.

95. Savchev S. Evaluation of an optimal gestational age cut-off for the definition of early-and late-onset fetal growth restriction / Savchev S., Figueras F., Sanz-Cortes M., Cruz-Lemini M., Triunfo S., Botet F., Gratacos E. // *Fetal Diagnosis and Therapy* – 2014. – T. 36 – № 2 – C.99–105.

96. Gordijn S.J. Consensus definition of fetal growth restriction: a Delphi procedure / Gordijn S.J., Beune I.M., Thilaganathan B., Papageorghiou A., Baschat A.A., Baker P.N., Silver R.M., Wynia K., Ganzevoort W. // *Ultrasound Obstet Gynecol* – 2016. – № 48 – C.: 333–339.

97. Crovetto F. First-trimester screening for early and late small-for-gestational-age neonates using maternal serum biochemistry, blood pressure and uterine artery Doppler / Crovetto F., Crispi F., Scazzocchio E., Mercade I., Meler E., Figueras F., Gratacos E. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2014. – T. 43 – № 1 – C.34–40.

98. Baschat A.A. Predictors of neonatal outcome in early-onset placental dysfunction. / Baschat A.A., Cosmi E., Bilardo C.M., Wolf H., Berg C., Rigano S., Germer U., Moyano D., Turan S., Hartung J., Bhide A., Müller T., Bower S., Nicolaides K.H., Thilaganathan B., Gembruch U., Ferrazzi E., Hecher K., Galan H.L., Harman C.R. // *Obstetrics and gynecology* – 2007. – T. 109 – № 2 Pt 1 – C.253–61.

99. Kady M. Perinatal mortality and fetal growth restriction / Kady M., Gardosi J. // *Best.Pract.Res.Clin.Obstet.Gynaecol.* – 2004. – T. 18 – № 3 – C.397–410.

100. Figueras F. Small-for-gestational-age fetuses with normal umbilical artery Doppler have suboptimal perinatal and neurodevelopmental outcome / Figueras F., Eixarch E., Meler E., Iraola A., Figueras J., Puerto B., Gratacos E. // *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology* – 2008. – T. 136 – № 1 – C.34–38.

101. Larroque B. School difficulties in 20-year-olds who were born small for gestational age at term in a regional cohort study. / Larroque B., Bertrais S., Czernichow P., Léger J. // *Pediatrics* – 2001. – T. 108 – № 1 – C.111–115.

102. Crispi F. Fetal growth restriction results in remodeled and less efficient hearts in children / Crispi F., Bijmens B., Figueras F., Bartrons J., Eixarch E., Noble F. Le, Ahmed A., Gratacós E. // *Circulation* – 2010. – T. 121 – № 22 – C.2427–2436.
103. Verkauskiene R. Birth weight and long-term metabolic outcomes: Does the definition of smallness matter? / Verkauskiene R., Figueras F., Deghmoun S., Chevenne D., Gardosi J., Levy-Marchal M. // *Hormone Research* – 2008. – T. 70 – № 5 – C.309–315.
104. Vliet E.O. Van Placental pathology and long-term neurodevelopment of very preterm infants / Vliet E.O. Van, Kieviet J.F. De, Voorn J.P. Van Der, Been J.V., Oosterlaan J., Elburg R.M. Van // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2012. – T. 206 – № 6.
105. Chan P.Y.L. The Long-Term Effects of Prematurity and Intrauterine Growth Restriction on Cardiovascular, Renal, and Metabolic Function / Chan P.Y.L., Morris J.M., Leslie G.I., Kelly P.J., Gallery E.D.M. // *International Journal of Pediatrics* – 2010. – T. 2010 – C.1–10.
106. Spinillo A. Placental histopathological correlates of umbilical artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by fetal growth restriction / Spinillo A., Gardella B., Bariselli S., Alfei A., Silini E., Dal Bello B. // *Prenatal Diagnosis* – 2012. – T. 32 – № 13 – C.1263–1272.
107. Llurba E. Emergence of late-onset placental dysfunction: Relationship to the change in uterine artery blood flow resistance between the first and third trimesters / Llurba E., Turan O., Kasdaglis T., Harman C.R., Baschat A.A. // *American Journal of Perinatology* – 2013. – T. 30 – № 6 – C.505–511.
108. Anderson M.S. Intrauterine growth restriction and the small-for-gestational-age infant / Anderson M.S., Hay W.W. // *Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn* – 1999. – C.411.
109. Lapillonne A. Body composition in appropriate and in small for gestational age infants / Lapillonne A., Braillon P., Claris O., Chatelain P.G., Delmas P.D., Salle B.L. // *Acta Paediatr* – 1997. – T. 86 – C.196–200.
110. Fernandes C.J. Physiologic transition from intrauterine to extrauterine life / C.

J. Fernandes – , 2016.

111. Mandy G.T. Infants with fetal (intrauterine) growth restriction // UpToDate. – 2016. – 4с.

112. Павлов К.А. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль сосудистого эндотелиального фактора роста / Павлов К.А., Дубова Е.А., Щеголев А.И. // Акушерство и гинекология – 2011. – № 3 – С.11–16.

113. Ларина Е.Б. Синдром задержки роста плода: клинико-морфологические аспекты / Ларина Е.Б., Мамедов Н.Н., Нефедова Н.А., Москвина Л.В., Андреев А.И., Панина О.Б., Мальков П.Г. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии – 2013.

114. Joó J.G. Placental gene expression of the placental growth factor (PlGF) in intrauterine growth restriction / Joó J.G., Rigó J.J., Börzsönyi B., Demendi C., Kornya L. // J Matern Fetal Neonatal Med. – 2016. – № 5 – С.1–5.

115. Margossian A. Intra-uterine growth restriction impact on maternal serum concentration of PlGF (placental growth factor): A case control study / Margossian A., Boisson-Gaudin C., Subtil F., Rudigoz R.-C., Dubernard G., Allias F., Huissoud C. // Gynecologie Obstetrique Fertilité – 2015.

116. Martín-Estal I. Intrauterine growth retardation (IUGR) as a novel condition of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) deficiency / Martín-Estal I., la Garza R.G. de, Castilla-Cortázar I. // Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology – 2016. – Т. 170.

117. Кан Н.Е. Прогнозирование задержки роста плода у беременных с недифференцированной дисплазией соединительной ткани / Кан Н.Е., Амирасланов Э.Ю., Тютюнник В.Л., Донников А.Е., Тютюнник Н.В. // Акушерство и гинекология – 2014. – Т. 10 – С.22–26.

118. Gadó K. Antiphospholipid syndrome and pregnancy / Gadó K., Domján G. // Orv Hetil. – 2012. – С.1207–1218.

119. Gathiram P. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. / Gathiram P., Moodley J. // Cardiovasc J Afr. – 2016. – С.71–78.

120. Ковалев Е.В. Оценка показателей перекисного окисления липидов, антиоксидантной системы крови и состояния эндотелия у пациентов при формировании задержки роста плода. / Ковалев Е.В., Занько Ю.В., Яроцкая Н.Н. // ВЕСТНИК ВГМУ – 2014. – Т. 13 – № 5 – С.12–17.
121. Agarwal A. The effects of oxidative stress on female reproduction: A review // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2012. – Т. 10.
122. Серов В.Н.Преэклампсия / В. Н. Серов, В. В. Ветров, В. А. Воинов – СПб. : «Фирма – Алина», 2011.– 34–36с.
123. Зенков Н.К.Окислительный стресс : биохимический и патофизиологический аспекты / Н. К. Зенков, В. З. Ланкин, Е. Б. Меньщикова – М. : МАИК «Наука/Интерпериодика», 2001.– 343с.
124. Myatt L. Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of placenta / Myatt L. // *Placenta* – 2010. – Т. 31 – С.66–69.
125. Long E.K. Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of n-3 fatty acid peroxidation: make some room HNE / Long E.K. // *Free Radic Biol Med* – 2010. – Т. 49 – С.1–8.
126. Larsson K. Formation of malondialdehyde (MDA), 4-hydroxy-2-hexenal (HNE) and 4-hydroxy-2-nonenal (HNE) in fish and fish oil during dynamic gastrointestinal *in vitro* digestion / Larsson K., Harrysson H., Havenaar R., Alminger M., Undeland I. // *Food Funct.* – 2016. – Т. 7 – № 2 – С.1176–1187.
127. D'Souza V. Counteracting oxidative stress in pregnancy through modulation of maternal micronutrients and omega-3 fatty acids. / D'Souza V., Chavan-Gautam P., Joshi S. // *Current medicinal chemistry* – 2013. – Т. 20 – № 37 – С.4777–4783.
128. Ayala A. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2014.
129. Abudu N. Lipoprotein oxidation products and arteriosclerosis: theory and methods with applicability to the clinical chemistry laboratory. / Abudu N., Miller J., Levinson S. // *Adv Clin Chem.* – 2004. – № 38 – С.1–35.
130. Fukai T. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular

Function, and Diseases / Fukai T., Ushio-Fukai M. // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2011. – Т. 15 – № 6 – С.1583–1606.

131. Скулачев В.П. Мембранная биоэнергетика / В. П. Скулачев, А. Ф. Богачев, Ф. О. Каспаринский – М. : Издательство Московского Университета, 2010. – 109–309с.

132. Чернадчук С.С. Методы оценки состояния оксидантной и антиоксидантной системы биологических объектов: методические указания / С. С. Чернадчук – , 2010. – 13–40с.

133. Меньщикова Е.Б. Молекулярная биология: монография / Е. Б. Меньщикова – М. : Слово, 2006. – 14–394с.

134. Скрипниченко Ю.П. Прогнозирование осложнений беременности на основе молекулярных маркеров функционального состояния тканевых про- и антиоксидантных систем в организме матери: диссертация на соискание ученой степени кан. мед. наук : 14.01.01 / Скрипниченко Ю.П. – 2017. – С.25.

135. Tabet F. Reactive Oxygen Species, Oxidative Stress, and Vascular Biology in Hypertension / Tabet F., Touyz R.M. // *Comprehensive Hypertension* – 2007. – С.337–338.

136. Takagi Y. Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction / Takagi Y., Nikaido T., Toki T., Kita N., Kanai M., Ashida T., Ohira S., Konishi I. // *Virchows Archiv* – 2004. – Т. 444 – № 1 – С.49–55.

137. Scifres C.M. Intrauterine growth restriction, human placental development and trophoblast cell death / Scifres C.M., Nelson D.M. // *The Journal of Physiology* – 2009. – Т. 587 – № 14 – С.3453–3458.

138. Banerjee J. MicroRNA Regulation of Oxidative Stress / Banerjee J., Khanna S., Bhattacharya A. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* – 2017. – Т. 2017.

139. Смирнова А.В. Эпигенетические факторы в атерогенезе: микроРНК / Смирнова А.В., Сухоруков В.Н., Карагодин В.П., Орехов А.Н. // *Биомедицинская химия* – 2016. – Т. 62(2) – С.134–140.

140. Rebane A. MicroRNAs: Essential players in the regulation of inflammation / Rebane A., Akdis C.A. // *Journal of Allergy and Clinical Immunology* – 2013. – Т. 132 – № 1 – С.15–26.
141. Magenta A. MiR-200c is upregulated by oxidative stress and induces endothelial cell apoptosis and senescence via ZEB1 inhibition / Magenta A., Cencioni C., Fasanaro P., Zaccagnini G., Greco S., Sarra-Ferraris G., Antonini A., Martelli F., Capogrossi M.C. // *Cell Death and Differentiation* – 2011. – Т. 18 – № 10 – С.1628–1639.
142. Щербо С.Н. Биомаркеры персонализированной медицины. Часть 5. Некодирующие РНК и микроРНК. / Щербо С.Н., Щербо Д.С., Кралин М.Ю. // *Медицинский алфавит* – 2015. – С.5–11.
143. Hirakawa T. MiR-503, a microRNA epigenetically repressed in endometriosis, induces apoptosis and cell-cycle arrest and inhibits cell proliferation, angiogenesis, and contractility of human ovarian endometriotic stromal cells / Hirakawa T., Nasu K., Abe W., Aoyagi Y., Okamoto M., Kai K., Takebayashi K., Narahara H. // *Human Reproduction* – 2016. – Т. 31 – № 11 – С.2587–2597.
144. Liu X.J. MiRNA-15a-5p regulates VEGFA in endometrial mesenchymal stem cells and contributes to the pathogenesis of endometriosis / Liu X.J., Bai X.G., Teng Y.L., Song L., Lu N., Yang R.Q. // *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* – 2016. – Т. 20 – С.3319–3326.
145. Wang Y. Up-regulation of miR-203 expression induces endothelial inflammatory response: Potential role in preeclampsia / Wang Y., Dong Q., Gu Y., Groome L.J. // *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)* – 2016. – Т. 76 – № 6 – С.482–490.
146. Nikuei P. Predictive value of miR-210 as a novel biomarker for pre-eclampsia: A systematic review protocol // *BMJ Open*. – 2016. – Т. 6. – № 9.
147. Montenegro D. Expression patterns of microRNAs in the chorioamniotic membranes: A role for microRNAs in human pregnancy and parturition / Montenegro D., Romero R., Kim S.S., Tarca A.L., Draghici S., Kusanovic J.P.,

- Kim J.S., Lee D.C., Erez O., Gotsch F., Hassan S.S., Kim C.J. // *Journal of Pathology* – 2009. – T. 217 – № 1 – C.113–121.
148. Mouillet J.F. Expression patterns of placental microRNAs / Mouillet J.F., Chu T., Sadovsky Y. // *Birth Defects Research A.* – 2011. – T. 91 – № 8 – C.737–743.
149. Mayor-Lynn K. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor / Mayor-Lynn K., Toloubeydokhti T., Cruz A.C., Chegini N. // *Reproductive Sciences* – 2011. – T. 18 – № 1 – C.46–56.
150. Enquobahrie D.A. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia / Enquobahrie D.A., Abetew D.F., Sorensen T.K., Willoughby D., Chidambaram K., Williams M.A. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2011. – T. 204 – № 2 – C.178.e12–178.e1.78E21.
151. Li P. MicroRNA-29b contributes to pre-eclampsia through its effects on apoptosis, invasion and angiogenesis of trophoblast cells / Li P., Guo W., Du L., Zhao J., Wang Y., Liu L., Hu Y. // *Clinical Science* – 2013. – T. 124 – № 1 – C.27–40.
152. Dai Y. MicroRNA-155 inhibits proliferation and migration of human extravillous trophoblast derived HTR-8/SVneo cells via down-regulating cyclin D1 / Dai Y., Qiu Z., Diao Z. // *Placenta* – 2012. – T. 33 – № 10 – C.824–829.
153. Morales-Prieto D.M. Pregnancy-associated miRNA-clusters / Morales-Prieto D.M., Ospina-Prieto S., Chaiwangyen W., Schoenleben M., Markert U.R. // *Journal of Reproductive Immunology* – 2013. – T. 97 – C.51–61.
154. Redman C.W. Review: Does size matter? Placental debris and the pathophysiology of pre-eclampsia , 2012. – 48–54c.
155. Ouyang Y. Review: Placenta-specific microRNAs in exosomes - Good things come in nano-packages / Ouyang Y., Mouillet J.F., Coyne C.B., Sadovsky Y. // *Placenta* – 2014. – T. 35 – C.69–73.
156. Luo L. MicroRNA-378a-5p promotes trophoblast cell survival, migration and invasion by targeting Nodal / Luo L., Ye G., Nadeem L., Fu G., Yang B.B., Honarparvar E., Dunk C., Lye S., Peng C. // *Journal of Cell Science* – 2012. – T.

125 – C.3124–3132.

157. Fu G. MicroRNA-376c impairs transforming growth factor- β and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion / Fu G., Ye G., Nadeem L., Ji L., Manchanda T., Wang Y., Zhao Y., Qiao J., Wang Y.L., Lye S., Yang B.B., Peng C. // *Hypertension* – 2013. – T. 61 – C.864–872.

158. Bentwich I. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs / Bentwich I., Avniel A., Karov Y., Aharonov R., Gilad S., Barad O., Barzilai A., Einat P., Einav U., Meiri E., Sharon E., Spector Y., Bentwich Z. // *Nature Genetics* – 2005. – T. 37 – № 7 – C.766–770.

159. Gao W.L. The imprinted H19 gene regulates human placental trophoblast cell proliferation via encoding miR-675 that targets Nodal Modulator 1 (NOMO1) / Gao W.L., Liu M., Yang Y., Yang H., Liao Q., Bai Y., Li Y.X., Li D., Peng C., Wang Y.L. // *RNA Biology* – 2012. – T. 9 – № 7 – C.1002–1010.

160. Zhang Y. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: New insights into molecular mechanisms for the disease / Zhang Y., Fei M., Xue G., Zhou Q., Jia Y., Li L., Xin H., Sun S. // *Journal of Cellular and Molecular Medicine* – 2012. – T. 16 – № 2 – C.249–259.

161. Wang W. Preeclampsia up-regulates angiogenesis-associated microRNA (i.e., miR-17, -20a, and -20b) that target ephrin-B2 and EPHB4 in human placenta / Wang W., Feng L., Zhang H., Hachy S., Satohisa S., Laurent L.C., Parast M., Zheng J., Chen D.B. // *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* – 2012. – T. 97 – C.E1051–E1059.

162. Bai Y. Downregulated miR-195 detected in Preeclamptic Placenta affects trophoblast cell invasion via modulating ActRIIA expression / Bai Y., Yang W., Yang H. xia, Liao Q., Ye G., Fu G., Ji L., Xu P., Wang H., Li Y. xia, Peng C., Wang Y. ling // *PLoS ONE* – 2012. – C.7(6)e38875.

163. Zhao C. Early second-trimester serum miRNA profiling predicts gestational diabetes mellitus / Zhao C., Dong J., Jiang T., Shi Z., Yu B., Zhu Y., Chen D., Xu J., Huo R., Dai J., Xia Y., Pan S., Hu Z., Sha J. // *PLoS ONE* – 2011. – T. 6 – № 8 e23925 – C.1–8.

164. Прозоровская К.Н. Особенности профиля микроРНК при преэклампсии различной степени тяжести: диссертация на соискание ученой степени кан. мед. наук : 14.01.01 / Прозоровская К.Н. – 2018. – С.93, 99.
165. Hromadnikova I. Expression Profile of C19MC microRNAs in Placental Tissue in Pregnancy-Related Complications / Hromadnikova I., Kotlabova K., Ondrackova M., Pirkova P., Kestlerova A., Novotna V., Hympanova L., Krofta L. // *DNA and Cell Biology* – 2015. – Т. 34 – № 6 – С.437–457.
166. Guo L. Differentially expressed microRNAs and affected biological pathways revealed by modulated modularity clustering (MMC) analysis of human preeclamptic and IUGR placentas / Guo L., Tsai S.Q., Hardison N.E., James A.H., Motsinger-Reif A.A., Thames B., Stone E.A., Deng C., Piedrahita J.A. // *Placenta* – 2013. – Т. 34 – № 7 – С.599–605.
167. Huang L. Increased levels of microRNA-424 are associated with the pathogenesis of fetal growth restriction / Huang L., Shen Z., Xu Q., Huang X., Chen Q., Li D. // *Placenta* – 2013. – Т. 34 – № 7 – С.624–627.
168. Muralimanoharan S. MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia / Muralimanoharan S., Maloyan A., Mele J., Guo C., Myatt L.G., Myatt L. // *Placenta* – 2012. – Т. 33 – № 10 – С.816–823.
169. Tu H. Oxidative Stress Upregulates PDCD4 Expression in Patients with Gastric Cancer via miR-21 / Tu H., Sun H., Lin Y., Ding J., Nan K., Li Z., Shen Q., Wei Y. // *Current Pharmaceutical Design* – 2013. – Т. 20 – № 11 – С.1917–1923.
170. Saxena A. Aldose Reductase Inhibition Prevents Colon Cancer Growth by Restoring Phosphatase and Tensin Homolog Through Modulation of miR-21 and FOXO3a / Saxena A., Tammali R., Ramana K. V., Srivastava S.K. // *Antioxidants & Redox Signaling* – 2013. – Т. 18 – № 11 – С.1249–1262.
171. Belizán J.M. Diagnosis of intrauterine growth retardation by a simple clinical method: measurement of uterine height. / Belizán J.M., Villar J., Nardin J.C., Malamud J., Vicurna L.S. De // *American journal of obstetrics and gynecology* – 1978. – Т. 131 – № 6 – С.643–6.

172. Goetzinger K.R. Screening for fetal growth disorders by clinical exam in the era of obesity / Goetzinger K.R., Tuuli M.G., Odibo A.O., Roehl K.A., Macones G.A., Cahill A.G. // *Journal of Perinatology* – 2013. – T. 33 – № 5 – C.352–357.
173. Sparks T.N. Fundal height: a useful screening tool for fetal growth? / Sparks T.N., Cheng Y.W., McLaughlin B., Esakoff T.F., Caughey A.B. // *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstetricians* – 2011. – T. 24 – № May – C.708–712.
174. Gardosi J. The customised growth potential: An international research tool to study the epidemiology of fetal growth / Gardosi J., Figueras F., Clausson B., Francis A. // *Paediatric and Perinatal Epidemiology* – 2011. – T. 25 – № 1 – C.2–10.
175. Maggio L. Perinatal Outcomes With Normal Compared With Elevated Umbilical Artery Systolic-to-Diastolic Ratios in Fetal Growth Restriction / Maggio L., Dahlke J.D., Mendez-Figueroa H., Albright C.M., Chauhan S.P., Wenstrom K.D. // *Obstetrics & Gynecology* – 2015. – T. 125 – № 4 – C.863–869.
176. Najam R. Predictive Value of Cerebroplacental Ratio in Detection of Perinatal Outcome in High-Risk Pregnancies / Najam R., Gupta S., Shalini // *Journal of Obstetrics and Gynecology of India* – 2016. – T. 66 – № 4 – C.244–247.
177. Turan O.M. Duration of persistent abnormal ductus venosus flow and its impact on perinatal outcome in fetal growth restriction / Turan O.M., Turan S., Berg C., Gembruch U., Nicolaides K.H., Harman C.R., Baschat A.A. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2011. – T. 38 – № 3 – C.295–302.
178. Resnik R. Fetal growth restriction: Evaluation and management / Resnik R. // *UpToDate* – 2016.
179. Vasconcelos R.P. Differences in neonatal outcome in fetuses with absent versus reverse end-diastolic flow in umbilical artery doppler / Vasconcelos R.P., Brazil Frota Aragão J.R., Costa Carvalho F.H., Salani Mota R.M., Lucena Feitosa F.E. De, Alencar Júnior C.A. // *Fetal Diagnosis and Therapy* – 2010. – T. 28 – № 3

– C.160–166.

180. Soothill P.W. Small for gestational age is not a diagnosis. / Soothill P.W., Bobrow C.S., Holmes R. // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 1999. – T. 13 – № 4 – C.225–8.

181. Oros D. Longitudinal changes in uterine, umbilical and fetal cerebral Doppler indices in late-onset small-for-gestational age fetuses / Oros D., Figueras F., Cruz-Martinez R., Meler E., Munmany M., Gratacos E. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2011. – T. 37 – № 2 – C.191–195.

182. Figueras F. Predictiveness of antenatal umbilical artery Doppler for adverse pregnancy outcome in small-for-gestational-age babies according to customised birthweight centiles: Population-based study / Figueras F., Eixarch E., Gratacos E., Gardosi J. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2008. – T. 115 – № 5 – C.590–594.

183. Doctor B.A. Perinatal correlates and neonatal outcomes of small for gestational age infants born at term gestation / Doctor B.A., O’Riordan M.A., Kirchner H.L., Shah D., Hack M. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2001. – T. 185 – № 3 – C.652–659.

184. McCowan L.M. Umbilical artery Doppler studies in small for gestational age babies reflect disease severity. / McCowan L.M., Harding J.E., Stewart a W. // *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* – 2000. – T. 107 – № 7 – C.916–25.

185. Severi F.M. Uterine and fetal cerebral Doppler predict the outcome of third-trimester small-for-gestational age fetuses with normal umbilical artery Doppler / Severi F.M., Bocchi C., Visentin A., Falco P., Cobellis L., Florio P., Zagonari S., Pilu G. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2002. – T. 19 – № 3 – C.225–228.

186. Khalil A.A. Is fetal cerebroplacental ratio an independent predictor of intrapartum fetal compromise and neonatal unit admission? / Khalil A.A., Morales-Rosello J., Morlando M., Hannan H., Bhide A., Papageorghiou A., Thilaganathan

- B. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2015. – Т. 213 – № 1 – C.54.e1-54.e10.
187. Cruz-Martinez R. Changes in myocardial performance index and aortic isthmus and ductus venosus Doppler in term, small-for-gestational age fetuses with normal umbilical artery pulsatility index / Cruz-Martinez R., Figueras F., Hernandez-Andrade E., Oros D., Gratacos E. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2011. – Т. 38 – № 4 – C.400–405.
188. Turan O.M. Progression of Doppler abnormalities in intrauterine growth restriction / Turan O.M., Turan S., Gungor S., Berg C., Moyano D., Gembruch U., Nicolaides K.H., Harman C.R., Baschat A.A. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2008. – Т. 32 – № 2 – C.160–167.
189. Ferrazzi E. Temporal sequence of abnormal Doppler changes in the peripheral and central circulatory systems of the severely growth-restricted fetus / Ferrazzi E., Bozzo M., Rigano S., Bellotti M., Morabito A., Pardi G., Battaglia F.C., Galan H.L. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2002. – № 19 – C.140–146.
190. Baschat A.A. The sequence of changes in Doppler and biophysical parameters as severe fetal growth restriction worsens / Baschat A.A., Gembruch U., Harman C.R. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2001. – № 18 – C.571–577.
191. Aditya I. Use of Doppler velocimetry in diagnosis and prognosis of intrauterine growth restriction (IUGR): A Review / Aditya I., Tat V., Sawana A., Mohamed A., Tuffner R., Mondal T. // *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine* – 2016. – Т. 9 – № 2 – C.117–126.
192. Odibo A.O. Cerebroplacental Doppler ratio and adverse perinatal outcomes in intrauterine growth restriction: Evaluating the impact of using gestational age-specific reference values / Odibo A.O., Riddick C., Pare E., Stamilio D.M., Macones G.A. // *Journal of Ultrasound in Medicine* – 2005. – № 24 – C.1223–1228.
193. Холин А.М. Подходы к стандартизации фетометрии в России: проект INTERGROWTH-21 и его внедрение / Холин А.М., Гус А.И., Ходжаева З.С., Баев О.Р., Рюмина И.И., Villar J., Kennedy, S Parageorghiou A.T. //

Акушерство и гинекология – 2018. – № 9 – С.170–175.

194. Ажибеков С.А. Роль генетически детерминированных особенностей энергетического обмена в формировании плацентарной недостаточности с исходом в синдром задержки роста плода / Ажибеков С.А., Путилова Н.В., Третьякова Т.Б., Пестряева Л.А. // Акушерство и гинекология – 2016. – Т. 11 – С.11–15.

195. Палади Г. Задержка роста плода: диагностика и оптимальный метод родоразрешения. / Палади Г., Илиади-Тулбуре К., Табуйка У. // Акушерство и гинекология – 2011. – Т. 5 – С.12–17.

196. Abalos E. Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy // Cochrane Database Syst. Rev. – 2014. – Т. 2014. – № 2.

197. Rodger M.A. Low-molecular-weight heparin and recurrent placenta-mediated pregnancy complications: a meta-analysis of individual patient data from randomised controlled trials. / Rodger M.A., Gris J., Vries J.I.P. de, Martinelli I., Rey É., Schleussner E., Middeldorp S., Kaaja R., Langlois N.J., Ramsay T., Mallick R., Bates S.M., Abheiden C.N.H., Perna A., Petroff D., Jong P. de, Hoorn M.E. van, Bezemer P.D., Mayhew A.D. // Lancet (London, England) – 2016. – Т. 6736 – № 16 – С.1–13.

198. R Development Core Team R.R: A Language and Environment for Statistical Computing / R. R Development Core Team – 2018.

199. RStudio Team RStudio server: Integrated Development for R. / RStudio Team // RStudio, Inc., Boston, MA – 2016.

200. Sharma D. Intrauterine Growth Restriction: Antenatal and Postnatal Aspects / Sharma D., Shastri S., Sharma P. // Clinical Medicine Insights: Pediatrics – 2016. – Т. 14 – № 10 – С.67–83.

201. Amburgey O.A. Maternal hemoglobin concentration and its association with birth weight in newborns of mothers with preeclampsia / Amburgey O.A., Ing E., Badger G.J., Bernstein I.M. // Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine – 2009. – Т. 22 – № 9 – С.740–744.

202. Lu Z.M. The relationship between maternal hematocrit and pregnancy

- outcome. / Lu Z.M., Goldenberg R.L., Cliver S.P., Cutter G., Blankson M. // *Obstetrics and gynecology* – 1991. – Т. 77 – С.190–194.
203. Yip R. Significance of an abnormally low or high hemoglobin concentration during pregnancy: Special consideration of iron nutrition / Yip R. // *American Journal of Clinical Nutrition* – 2000. – № 72 – С.272–279.
204. Scanlon K.S. High and low hemoglobin levels during pregnancy: Differential risks for preterm birth and small for gestational age / Scanlon K.S., Yip R., Schieve L.A., Cogswell M.E. // *Obstetrics and Gynecology* – 2000. – № 96 – С.741–748.
205. Koller O. Fetal growth retardation associated with inadequate haemodilution in otherwise uncomplicated pregnancy / Koller O., Sagen N., Ulstein M., Vaula D. // *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* – 1979. – № 58 – С.9–13.
206. Yazdani M. Maternal hemoglobin level, prematurity, and low birth weight / Yazdani M., Tadbiri M., Shakeri S. // *International Journal of Gynecology and Obstetrics* – 2004. – № 85 – С.163–164.
207. Cordina M. Association between maternal haemoglobin at 27-29 weeks gestation and intrauterine growth restriction / Cordina M., Bhatti S., Fernandez M., Syngelaki A., Nicolaides K.H., Kametas N.A. // *Pregnancy Hypertension* – 2015. – Т. 5 – № 4 – С.339–345.
208. Naeye R.L. Placental infarction leading to fetal or neonatal death. A prospective study. / Naeye R.L. // *Obstetrics and gynecology* – 1977. – Т. 50 – № 5 – С.583–588.
209. Ivanov P. Placenta Changes During Pregnancy with Thrombophilia — Influences of Low Molecular Weight Heparin Therapy IntechOpen, 2013. – 30–31с.
210. Сомонова О.В. Нарушения гемостаза и их профилактика низкомолекулярными гепаринами у онкологических больных / Сомонова О.В., Кушлинский Н.Е. // *Клиническая лабораторная диагностика* – 2014. – Т. 59 – № 7 – С.1.
211. Ianniciello Q.C. Simultaneous evaluation of fetal cerebrovascular Doppler ultrasound and maternal glucose homeostasis in normal pregnancy / Ianniciello

- Q.C., Troisi J., Niola M., Rosa C. De, Rinaldi M., Guida M. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2017. – Т. 49 – № 5 – С.661–662.
212. Senoh D. Effect of maternal hyperglycemia on fetal regional circulation in appropriate for gestational age and small for gestational age fetuses / Senoh D., Hata T., Kitao M. // *American Journal of Perinatology* – 1995. – Т. 12 – № 3 – С.223–226.
213. Akinlaja O. Hematological Changes in Pregnancy - The Preparation for Intrapartum Blood Loss / Akinlaja O. // *Obstetrics & Gynecology International Journal* – 2016. – Т. 4 – № 3 – С.1–5.
214. Abramson N. Leukocytosis: basic of clinical assessment / Abramson N., Melton B. // *Am Fam Physician* – 2000. – № 62 – С.2053–60.
215. Камышников В.С.Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников – М.: МЕДПресс-информ, 2004.– 920с.
216. Burtis C.A.Tietz textbook of clinical chemistry / C. A. Burtis, E. R. Ashwood – Amer Assn for Clinical Chemistry, 1999.– 1803с.
217. Бочков В.Н.Клиническая биохимия / В. Н. Бочков, А. Б. Добровольский, Н. Е. Кушлинский / под ред. В.А. Ткачук. – - М. : ГЭОТАР-МЕД : Изд-во МГУ, 2004.– 512с.
218. Holley J.L. Pregnancy Outcomes in a Prospective Matched Control Study of Pregnancy and Renal Disease / Holley J.L., Bernardini J., Quadri K.H.M., Greenberg A. // *Clin Nephrol* – 1996. – № 45 – С.77–82.
219. Redman C.W. Preeclampsia and the systemic inflammatory response / Redman C.W., Sargent I.L. // *Seminars in Nephrology* – 2004. – Т. 24 – № 6 – С.565–570.
220. Brown L.D. Maternal amino acid supplementation for intrauterine growth restriction. / Brown L.D., Green A.S., Limesand S.W., Rozance P.J. // *Frontiers in bioscience (Scholar edition)* – 2011. – № 3 – С.428–444.
221. Mureşan D. The usefulness of fetal Doppler evaluation in early versus late onset intrauterine growth restriction. Review of the literature / Mureşan D., Rotar

- I.C., Stamatian F. // *Medical Ultrasonography* – 2016. – Т. 18 – № 1 – С.103–109.
222. Lin G. Improving amino acid nutrition to prevent intrauterine growth restriction in mammals / Lin G., Wang X., Wu G., Feng C., Zhou H., Li D., Wang J. // *Amino Acids* – 2014. – С.31–32.
223. Nathanielsz P.W. Decreased placental amino acid transport and intrauterine growth restriction: Which is the chicken and which is the egg? / Nathanielsz P.W. // *Journal of Physiology* – 2006. – № 576 – С.649.
224. Glazier J.D. Association between the activity of the system A amino acid transporter in the microvillous plasma membrane of the human placenta and severity of fetal compromise in intrauterine growth restriction / Glazier J.D., Cetin I., Perugino G., Ronzoni S., Grey A.M., Mahendran D., Marconi A.M., Pardi G., Sibley C.P. // *Pediatric Research* – 1997. – № 42 – С.514–519.
225. Vítek L. Bilirubin and atherosclerotic diseases. / Vítek L. // *Physiological research* – 2017. – № 66 – С.11–20.
226. Perlstein T.S. Serum Total Bilirubin Level, Prevalent Stroke, and Stroke Outcomes: NHANES 1999-2004 / Perlstein T.S., Pande R.L., Creager M.A., Weuve J., Beckman J.A. // *American Journal of Medicine* – 2008. – Т. 121 – № 9 – С.781–788.
227. Jiraskova A. Association of promoter variation in HMOX1 and UGT1A1 genes with Fabry disease / Jiraskova A., Jovanovska J., Vitek L. // *Clinical Biochemistry* – 2011. – № 44 – С.95.
228. Santhakumar A.B. A review of the mechanisms and effectiveness of dietary polyphenols in reducing oxidative stress and thrombotic risk / Santhakumar A.B., Bulmer A.C., Singh I. // *Journal of Human Nutrition and Dietetics* – 2014. – Т. 27 – № 1 – С.1–2.
229. Зефирова Т.П. Влияние нарушений реологических свойств крови матери на внутриутробное развитие плода / Зефирова Т.П., Сабиров И.Х., Железова М.Е. // *Эффективная фармакотерапия* – 2016. – № 14 – С.22.
230. Levytska K. Placental Pathology in Relation to Uterine Artery Doppler Findings in Pregnancies with Severe Intrauterine Growth Restriction and

- Abnormal Umbilical Artery Doppler Changes / Levytska K., Higgins M., Keating S., Melamed N., Walker M., Sebire N.J., Kingdom J.C.P. // *American Journal of Perinatology* – 2017. – Т. 34 – № 5 – С.451–457.
231. Cau S.B.A. Vasoconstrictor Substances Produced by the Endothelium , 2018. – 115–125с.
232. Wang X. Loss of the miR-144/451 cluster impairs ischaemic preconditioning-mediated cardioprotection by targeting Rac-1. / Wang X., Zhu H., Zhang X., Liu Y., Chen J., Medvedovic M. // *Cardiovasc. Res.* – 2012. – Т. 94 – № 2 – С.379–390.
233. Duhig K. Oxidative stress in pregnancy and reproduction / Duhig K., Chappell L.C., Shennan A.H. // *Obstetric Medicine* – 2016. – Т. 9 – № 3 – С.113–116.
234. Toescu V. Oxidative stress and normal pregnancy / Toescu V., Nuttall S.L., Martin U., Kendall M.J., Dunne F. // *Clinical Endocrinology* – 2002. – Т. 57 – № 5 – С.609.
235. Panfoli I. Oxidative stress as a primary risk factor for brain damage in preterm newborns / Panfoli I., Candiano G., Malova M., Angelis L. De, Cardiello V., Buonocore G., Ramenghi L.A. // *Frontiers in Pediatrics* – 2018. – Т. 6 – С.1–4.
236. Nardoza L.M.M. Fetal growth restriction: current knowledge / Nardoza L.M.M., Caetano A.C.R., Zamarian A.C.P., Mazzola J.B., Silva C.P., Marçal V.M.G., Lobo T.F., Peixoto A.B., Araujo Júnior E. // *Archives of Gynecology and Obstetrics* – 2017. – Т. 295 – С.1061–1077.
237. Кан Н.Е. Метаболомный профиль беременных при задержке роста плода / Кан Н.Е., Хачатрян З.В., Амирасланов Э.Ю., Чаговец В.В., Тютюнник В.Л., Ломова Н.А., Стародубцева Н.Л., Кициловская Н.А., Баранов И.И., Франкевич В.Е. // *Акушерство и гинекология* – 2019. – № 12 – С.57–63.
238. Figueras F. Unravelling the link among growth restriction, placental disorders, and stillbirth / Figueras F. // *Paediatric and Perinatal Epidemiology* – 2019. – Т. 33 – № 4 – С.284- 285.
239. Morsing E. Infant outcome after active management of early-onset fetal

- growth restriction with absent or reverse umbilical artery blood flow / Morsing E., Brodzki J., Thuring A., Maršál K. // *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology* – 2020.
240. Lamont R.F. Varicella-zoster virus (chickenpox) infection in pregnancy / Lamont R.F., Sobel J.D., Carrington D., Mazaki-Tovi S., Kusanovic J.P., Vaisbuch E., Romero R. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2011. – Т. 118 – № 10 – С.1155–1162.
241. Germain M. Genital flora in pregnancy and its association with intrauterine growth retardation / Germain M., Krohn M.A., Hillier S.L., Eschenbach D.A. // *Journal of Clinical Microbiology* – 1994. – С.2162–2168.
242. Clausson B. Preterm and term births of small for gestational age infants: A population-based study of risk factors among nulliparous women / Clausson B., Cnattingius S., Axelsson O. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 1998. – № 105 – С.1011–1017.
243. Villar J. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? / Villar J., Carroli G., Wojdyla D., Abalos E., Giordano D., Ba'aqeel H., Farnot U., Bergsjö P., Bakketeig L., P. L., L. C., Y. A.-M., M. L. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2006. – № 194 – С.921–931.
244. Российское научное медицинское общество терапевтов (РНМОТ) Клинические рекомендации РНМОТ «Дисплазии соединительной ткани» / Российское научное медицинское общество терапевтов (РНМОТ) – , 2017.– 16с.
245. Комиссарова Л.М. Течение беременности и родов при дисплазии соединительной ткани / Комиссарова Л.М., Карачаева А.Н., Кесова М.И. – 2012. – № 3 – С.4–7.
246. Замалеева Р.С. Состояние проблемы лечения и прогнозирования задержки развития плода / Замалеева Р.С., Мальцева, Л.И. Черепанова Н.А., Фризина А.В., Лазарева В.К., Юпатов Е.Ю., Коган Я.Э., Фаттахова Ф.А. // *Практическая медицина* – 2016. – № 1 – С.41–44.

247. Mohammad N. Maternal Predictors Of Intrauterine Growth Retardation / Mohammad N., Sohaila A., Rabbani U., Ahmed S., Ahmed S., Rehan Ali S. // Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan – 2018. – Т. 28 – № 9 – С.681–685.
248. Moh W. Extrinsic factors influencing fetal deformations and intrauterine growth restriction / Moh W., Graham J.M., Wadhawan I., Sanchez-Lara P.A. // Journal of Pregnancy – 2012. – Т. 2012 – С.1–11.
249. Байкулова Т.Ю. Влияние искусственного аборта на течение беременности и ее исходы у первородящих женщин / Байкулова Т.Ю., Петров Ю.А. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований – 2016. – № 2 – С.480–483.
250. Милованов А.П. Анализ причин материнской смертности / А. П. Милованов – Москва: Медицина для всех, 2008.– 228с.
251. Колесникова О.М. Синдром плацентарной недостаточности у первородящих после хирургического и медикаментозного абортов / Колесникова О.М., Оразмурадов А.А., Князев С.А., Апресян С.В., Кузнецова М.Г., Лебедева О.А., Смирнова Т.В. // Вестник РУДН. Серия «Медицина. Акушерство и гинекология» – 2012. – № 5 – С.32–35.
252. Davar R. Dilatation and Curettage Effect on the Endometrial Thickness / Davar R., Dehghani Firouzabadi R., Chaman Ara K. // Iranian Red Crescent Medical Journal – 2013. – Т. 15 – № 4 – С.350–355.
253. Reshetnikov E.A. The study of the role of maternal and fetal risk factors in the development of placental insufficiency / Reshetnikov E.A., Golovchenko O.V., Bezmenova I.N., Orlova V.S., Batlutskaya I.V., Krikun. E.N. // Drug Invention Today – 2019. – Т. 11 – № 3 – С.750–752.
254. Серов В.Н. Синдром задержки развития плода / Серов В.Н. // Русский медицинский журнал – 2005. – Т. 13 – № 1 – С.31–33.
255. Малышкина А.И. Продукция и секреция IL-10 в крови в зависимости от полиморфизма гена IL-10 A-1082G у женщин с задержкой роста плода / Малышкина А.И., Бойко Е.Л., Сотникова Н.Ю., Панова И.А., Фетисова И.Н.,

- Воронин Д.Н., Милеева П.Л. // *Акушерство и гинекология* – 2019. – № 6 – С.40–46.
256. Орлов А.В. Этиопатогенетические аспекты развития плацентарной недостаточности и задержки роста плода / Орлов А.В., Кудинова Е.И. // *Журнал фундаментальной медицины и биологии* – 2016. – № 4 – С.4–8.
257. Manandhar T. Risk Factors for Intrauterine Growth Restriction and Its Neonatal Outcome / Manandhar T., Prashad B., Nath Pal M. // *Gynecology & Obstetrics* – 2018. – Т. 8 – № 2 – С.1–9.
258. Febrina N.A.D. Association between Intrauterine Growth Restriction and Pregnancy Hypertension / Febrina N.A.D., Primadi A., Lestari B.W. // *Althea Medical Journal* – 2016. – № 3 – С.212–215.
259. Xiong X. Impact of pregnancy-induced hypertension on fetal growth / Xiong X., Mayes D., Demianczuk N., Olson D.M., Davidge S.T., Newburn-Cook C., Saunders L.D. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 1999. – № 180 – С.207–213.
260. Lees C.C. 2 year neurodevelopmental and intermediate perinatal outcomes in infants with very preterm fetal growth restriction (TRUFFLE): A randomised trial / Lees C.C., Marlow N., Wassenaer-Leemhuis A. Van, Rigano S. // *The Lancet* – 2015. – Т. 385 – № 9983 – С.2162–2172.
261. Weiss J.L. Threatened abortion: A risk factor for poor pregnancy outcome, a population-based screening study / Weiss J.L., Malone F.D., Vidaver J., Ball R.H., Nyberg D.A., Comstock C.H., Hankins G.D., Berkowitz R.L., Gross S.J., Dugoff L., Timor-Tritsch I.E., D'Alton M.E. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2004. – № 190 – С.745–750.
262. Saraswat L. Maternal and perinatal outcome in women with threatened miscarriage in the first trimester: A systematic review / Saraswat L., Bhattacharya S., Maheshwari A., Bhattacharya S. // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* – 2010. – Т. 117 – № 3 – С.245–257.
263. Chemmannore M.P. Outcomes of pregnancy complicated by threatened miscarriage / Chemmannore M.P., Zubair S., Rahman N. // *Brunei International*

Medical Journal – 2014. – Т. 10 – № 6 – С.310–313.

264. Mazor-Dray E. Maternal urinary tract infection: Is it independently associated with adverse pregnancy outcome? / Mazor-Dray E., Levy A., Schlaeffer F., Sheiner E. // Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine – 2009. – Т. 22 – № 2 – С.124–128.

265. Duffett L. LMWH to prevent placenta-mediated pregnancy complications: An update / Duffett L., Rodger M. // British Journal of Haematology – 2015. – Т. 168 – № 5 – С.1–20.

266. Lin C.C. The association between oligohydramnios and intrauterine growth retardation. / Lin C.C., Sheikh Z., Lopata R. // Obstetrics and gynecology – 1990. – Т. 76 – № 6 – С.1100–1104.

267. Wladimiroff J.W. Amniotic fluid and placental localization / Wladimiroff J.W., Eik-Nes S.H. // Ultrasound in Obstetrics and Gynaecology – 2009. – С.109–120.

268. Milner J. The accuracy of ultrasound estimation of fetal weight in comparison to birth weight: A systematic review / Milner J., Arezina J. // Ultrasound – 2018. – Т. 26 – № 1 – С.32–41.

269. Warrander L.K. Evaluating the accuracy and precision of sonographic fetal weight estimation models in extremely early-onset fetal growth restriction / Warrander L.K., Ingram E., Heazell A.E.P., Johnstone E.D. // Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica – 2020. – Т. 99 – № 3 – С.364–373.

270. Green B. Accuracy of clinical suspicion of growth restriction at term despite a normal growth ultrasound: A retrospective cohort study / Green B., Hui L., Hastie R., Tong S., Brownfoot F.C. // Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology – 2020. – Т. 60 – № 4 – С.568–573.

271. Дробинская А.Н. Морфология плаценты при наследственной тромбофилии / Дробинская А.Н., Надеев А.П., Жукова В.А., Пасман Н.М., Карпов М.А., Телятникова Н.В. // Архив патологии – 2014. – № 3 – С.33–36.

272. Mirzaei F. Association of hereditary thrombophilia with intrauterine growth restriction / Mirzaei F., Farzad-Mahajeri Z. // Iranian Journal of Reproductive

Medicine – 2013. – № 11 – C.275–278.

273. Alfirevic Z. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome? A systematic review / Alfirevic Z., Roberts D., Martlew V. // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* – 2002. – № 101 – C.6–14.

274. Livrinova V. Factor V leiden, prothrombin and MTHFR mutation in patients with preeclampsia, intrauterine growth restriction and placental abruption / Livrinova V., Lega M.H., Dimcheva A.H., Samardziski I., Isjanovska R. // *Macedonian Journal of Medical Sciences* – 2015. – № 3 – C.590–594.

275. Said J.M. Inherited thrombophilias and adverse pregnancy outcomes: A case-control study in an Australian population / Said J.M., Higgins J.R., Moses E.K., Walker S.P., Monagle P.T., Brennecke S.P. // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* – 2012. – № 91 – C.250–255.

276. Warzecha D. Labor in pregnancies with small for gestational age suspected fetuses / Warzecha D., Kobryń E., Bagińska M., Bomba-Opoń D. // *Adv Clin Exp Med*. – 2018. – T. 27 – № 9 – C.1217–1224.

277. Finneran M.M. Fetal tolerance of labor in pregnancies complicated by growth restriction and abnormal umbilical artery Doppler / Finneran M.M., Benac D., Stehr H., Anderson W., Pollack R. // *AJOG* – 2017. – T. 216 – № 1 – C.122–123.

278. Sei K. Size of uterine leiomyoma is a predictor for massive haemorrhage during caesarean delivery / Sei K., Masui K., Sasa H., Furuya K. // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* – 2018. – № 223 – C.60–63.

279. Zubair D.S. Comparison of outcome in IUGR and Normal Pregnancies - A retrospective study / Zubair D.S., Gour S. // *International Journal of Medical Research and Review* – 2016. – T. 4 – № 4 – C.646–649.

280. Chourasia S. Clinical assessment of intrauterine growth restriction and its correlation with fetal outcome / Chourasia S., Agarwal J., Dudve M. // *Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences* – 2013. – T. 2 – № 41 – C.7944–7950.

281. Bernstein I.M. Morbidity and mortality among very-low-birth-weight

- neonates with intrauterine growth restriction / Bernstein I.M., Horbar J.D., Badger G.J., Ohlsson A., Golan A. // *American Journal of Obstetrics and Gynecology* – 2000. – T. 182 – C.198–206.
282. Linder N. Risk factors for intraventricular hemorrhage in very low birth weight premature infants: a retrospective case-control study. / Linder N., Haskin O., Levit O., Klinger G., Prince T., Naor N., Turner P., Karmazyn B., Sirota L. // *Pediatrics* – 2003. – T. 111 – № 5 – C.590–595.
283. Veldman A. Disseminated intravascular coagulation in term and preterm neonates / Veldman A., Fischer D., Nold M.F., Wong F.Y. // *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* – 2010. – T. 36 – № 4 – C.419–428.
284. Morales Prieto D.M. MicroRNAs in pregnancy / Morales Prieto D.M., Markert U.R. // *J. Reprod. Immunol.* – 2011. – № 88 – C.106–111.
285. Zhu Y. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus / Zhu Y., Tian F., Li H., Zhou Y., Lu J., Ge Q. // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2015. – № 130 – C.49–53.
286. Luo J. The pro-angiogenesis of exosomes derived from umbilical cord blood of intrauterine growth restriction pigs was repressed associated with MiRNAs / Luo J., Fan Y., Shen L., Niu L., Zhao Y., Jiang D., Zhu L., Jiang A., Tang Q., Ma J., Jin L., Wang J., Li X., Zhang S., Zhu L. // *International Journal of Biological Sciences* – 2018. – T. 14 – № 11 – C.1426–1436.
287. Celic T. The mir-221/222 Cluster is a Key Player in Vascular Biology via the Fine-Tuning of Endothelial Cell Physiology / Celic T., Metzinger-Le Meuth, Valérie Six I., A. Massy Z., Metzinger L. // *Current Vascular Pharmacology* – 2017. – T. 15 – № 1 – C.40- 46(7).
288. Liu X. A Necessary role of miR-221 and miR-222 in vascular smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia / Liu X., Cheng Y., Zhang S., Lin Y., Yang J., Zhang C. // *Circulation Research* – 2009. – T. 104 – № 4 – C.476–487.
289. Sladek S.M. Nitric oxide and pregnancy / Sladek S.M., Magness R.R., Conrad K.P. // *Am. J. Physiol.* – 1997. – T. 272 – № 2 – C.441–463.
290. Shah N.M. NRF2-driven miR-125B1 and miR-29B1 transcriptional

- regulation controls a novel anti-apoptotic miRNA regulatory network for AML survival / Shah N.M., Zaitseva L., Bowles K.M., MacEwan D.J., Rushworth S.A. // *Cell Death and Differentiation* – 2015. – T. 22 – № 4 – C.654–664.
291. Chen Y.F. miR-125b suppresses oral oncogenicity by targeting the anti-oxidative gene PRXL2A / Chen Y.F., Wei Y.Y., Yang C.C., Liu C.J., Yeh L.Y., Chou C.H., Chang K.W., Lin S.C. // *Redox Biology* – 2019. – T. 22 – C.1–9.
292. Shen Y. MiR-125b-5p is involved in oxygen and glucose deprivation injury in PC-12 cells via CBS/H₂S pathway / Shen Y., Shen Z., Guo L., Zhang Q., Wang Z., Miao L. // *Nitric Oxide*. – 2018. – T. 78 – № 1 – C.11–21.
293. Yu Q. ROS-Dependent Neuroprotective Effects of NaHS in Ischemia Brain Injury Involves the PARP/AIF Pathway / Yu Q., Lu Z., Tao L., Yang L., Guo Y., Yang Y., Sun X., Ding Q. // *Cellular Physiology and Biochemistry* – 2015. – T. 36 – № 4 – C.1539–1551.
294. Xie Z.Z. Hydrogen Sulfide and Cellular Redox Homeostasis / Xie Z.Z., Liu Y., Bian J.S. // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* – 2016. – T. 2016 – № 6043038 – C.1–12.
295. Fu Z. Hydrogen sulfide protects rat lung from ischemia-reperfusion injury / Fu Z., Liu X., Geng B., Fang L., Tang C. // *Life Sciences* – 2008. – T. 82 – № 23–24 – C.1196–1202.
296. Zhu X. Estrogens increase cystathionine- γ -lyase expression and decrease inflammation and oxidative stress in the myocardium of ovariectomized rats / Zhu X., Tang Z., Cong B., Du J., Wang C., Wang L., Ni X., Lu J. // *Menopause* – 2013. – T. 20 – № 10 – C.1084–1091.
297. Benetti L.R. Hydrogen sulfide inhibits oxidative stress in lungs from allergic mice in vivo / Benetti L.R., Campos D., Gurgueira S.A., Vercesi A.E., Guedes C.E.V., Santos K.L., Wallace J.L., Teixeira S.A., Florenzano J., Costa S.K.P., Muscará M.N., Ferreira H.H.A. // *European Journal of Pharmacology* – 2013. – T. 698 – № 1–3 – C.463–469.
298. Su Y.W. Hydrogen sulfide regulates cardiac function and structure in adriamycin-induced cardiomyopathy / Su Y.W., Liang C., Jin H.F., Tang X.Y.,

- Han W., Chai L.J., Zhang C.Y., Geng B., Tang C.S., Du J.B. // *Circulation Journal* – 2009. – T. 73 – № 4 – C.741–749.
299. Searcy D.G. Interaction of Cu, Zn superoxide dismutase with hydrogen sulfide / Searcy D.G., Whitehead J.P., Maroney M.J. // *Archives of Biochemistry and Biophysics* – 1995. – T. 318 – № 2 – C.251–263.
300. Alural B. EPO mediates neurotrophic, neuroprotective, anti-oxidant, and anti-apoptotic effects via downregulation of miR-451 and miR-885-5p in SH-SY5Y neuron-like cells / Alural B., Duran G.A., Tufekci K.U., Allmer J., Onkal Z., Tunali D., Genc K., Genc S. // *Frontiers in Immunology* – 2014. – № 4 – C.475.
301. Boštjančič E. MicroRNAs and cardiac sarcoplasmic reticulum calcium ATPase-2 in human myocardial infarction: Expression and bioinformatic analysis / Boštjančič E., Zidar N., Glavač D. // *BMC Genomics* – 2012. – T. 13 – № 1 – C.552.
302. Maeda Y. CUL2 is required for the activity of hypoxia-inducible factor and vasculogenesis / Maeda Y., Suzuki T., Pan X., Chen G., Pan S., Bartman T., Whitsett J.A. // *Journal of Biological Chemistry* – 2008. – T. 283 – № 23 – C.16084–92.
303. Su Y. Aberrant expression of microRNAs in gastric cancer and biological significance of miR-574-3p / Su Y., Ni Z., Wang G., Cui J., Wei C., Wang J., Yang Q., Xu Y., Li F. // *International Immunopharmacology* – 2012. – T. 13 – № 4 – C.468–75.
304. Feng Y. Identification of exosomal and non-exosomal microRNAs associated with the drug resistance of ovarian cancer / Feng Y., Hang W., Sang Z., Li S., Xu W., Miao Y., Bao W., Xi X., Huang Q. // *Molecular Medicine Reports* – 2019. – T. 19 – № 5 – C.3376–3392.
305. Chen L. Cardiac progenitor-derived exosomes protect ischemic myocardium from acute ischemia/reperfusion injury / Chen L., Wang Y., Pan Y., Zhang L., Shen C., Qin G., Ashraf M., Weintraub N., Ma G., Tang Y. // *Biochemical and Biophysical Research Communications* – 2013. – T. 431 – № 3 – C.566–571.
306. Green R.M. Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations

- with parameters of oxidative stress related to genotoxicity / Green R.M., Graham M., O'Donovan M.R., Chipman J.K., Hodges N.J. // *Mutagenesis* – 2006. – № 21 – C.383–390.
307. Zhuang X. miR-221-3p inhibits oxidized low-density lipoprotein induced oxidative stress and apoptosis via targeting a disintegrin and metalloprotease-22 / Zhuang X., Li R., Maimaitijiang A., Liu R., Yan F., Hu H., Gao X., Shi H. // *Journal of Cellular Biochemistry* – 2019. – T. 120 – № 4 – C.6304–6314.
308. Liu Q. MicroRNA-451 protects neurons against ischemia/reperfusion injury-induced cell death by targeting CELF2 / Liu Q., Hu Y., Zhang M., Yan Y., Yu H., Ge L. // *Neuropsychiatr Dis Treat.* – 2018. – № 14 – C.2773–2782.
309. Yu D. miR-451 protects against erythroid oxidant stress by repressing 14-3-3zeta / Yu D., Santos C.O. Dos, Zhao G., Jiang J., Amigo J.D., Khandros E., Dore L.C., Yao Y., D'Souza J., Zhang Z., Ghaffari S., Choi J., Friend S., Tong W., Orange J.S., Paw B.H., Weiss M.J. // *Genes and Development* – 2010. – T. 24 – № 15 – C.1620–1633.
310. Ebbing C. Middle cerebral artery blood flow velocities and pulsatility index and the cerebroplacental pulsatility ratio: Longitudinal reference ranges and terms for serial measurements / Ebbing C., Rasmussen S., Kiserud T. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2007. – T. 30 – C.287–296.
311. Jugović D. New Doppler index for prediction of perinatal brain damage in growth-restricted and hypoxic fetuses / Jugović D., Tumbri J., Medić M., Kušan Jukić M., Kurjak A., Arbeille P., Salihagić-Kadić A. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2007. – T. 30 – C.303–311.
312. Polglase G.R. Altered cardiovascular function at birth in growth-restricted preterm lambs / Polglase G.R., Allison B.J., Coia E., Li A., Jenkin G., Malhotra A., Sehgal A., Kluckow M., Gill A.W., Hooper S.B., Miller S.L. // *Pediatric Research* – 2016. – T. 80 – C.538–546.
313. Chistiakov D.A. Extracellular vesicles and atherosclerotic disease / Chistiakov D.A., Orekhov A.N., Bobryshev Y. V. // *Cellular and Molecular Life Sciences* – 2015. – T. 72 – C.2697–2708.

314. Lawson C. Microvesicles and exosomes: New players in metabolic and cardiovascular disease / Lawson C., Vicencio J.M., Yellon D.M., Davidson S.M. // *Journal of Endocrinology* – 2016. – T. 228 – № 2 – C.R57–R71.
315. Escudero C.A. Role of extracellular vesicles and microRNAs on dysfunctional angiogenesis during preeclamptic pregnancies / Escudero C.A., Herlitz K., Troncoso F., Acurio J., Aguayo C., Roberts J.M., Truong G., Duncombe G., Rice G., Salomon C. // *Frontiers in Physiology* – 2016. – T. 7 – № 98 – C.1–17.
316. Huang H. MicroRNA Profiling of Exosomes Derived from Red Blood Cell Units: Implications in Transfusion-Related Immunomodulation / Huang H., Zhu J., Fan L., Lin Q., Fu D., Wei B., Wei S. // *BioMed Research International* – 2019. – T. 2019 – № 2045915.
317. Tiedt S. RNA-seq identifies circulating MIR-125a-5p, MIR-125b-5p, and MIR-143-3p as potential biomarkers for acute ischemic stroke / Tiedt S., Prestel M., Malik R., Schieferdecker N., Duering M., Kautzky V., Stoycheva I., Böck J., Northoff B.H., Klein M., Dorn F., Krohn K., Teupser D., Liesz A., Plesnila N., Holdt L.M., Dichgans M. // *Circulation Research* – 2017. – № 121 – C.970–980.
318. Liu G. Peripheral blood MIR-451 may serve as a biomarker of ischemic stroke / Liu G., Cao C., Zhu M. // *Clinical Laboratory* – 2019. – T. 65 – № 9.
319. Tanis J.C. Correlation between Doppler flow patterns in growth-restricted fetuses and neonatal circulation / Tanis J.C., Boelen M.R., Schmitz D.M., Casarella L., Laan M.E. van der, Bos A.F., Bilardo C.M. // *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2016. – № 48 – C.210–216.
320. Baschat A.A. Neurodevelopment following fetal growth restriction and its relationship with antepartum parameters of placental dysfunction / Baschat A.A. // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* – 2011. – № 37 – C.501–514.
321. Baschat A.A. Neurodevelopment after fetal growth restriction / Baschat A.A. // *Fetal Diagnosis and Therapy* – 2014. – № 36 – C.136–142.
322. Bassan H. Intracranial Hemorrhage in the Preterm Infant: Understanding It,

Preventing It / Bassan H. // Clinics in Perinatology – 2009. – № 36 – C.737–762.

Алгоритм диагностики задержки роста плода с учетом ее патогенетических форм

