

РОЖДЕСТВЕНСКАЯ

Ольга Викторовна

**РОЛЬ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ BDNF И GDNF В РЕГУЛЯЦИИ
ГОМЕОСТАЗА ПЛОДА В УСЛОВИЯХ СТРЕСС-ФАКТОРОВ**

3.1.4. – Акушерство и гинекология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Беженарь Виталий Федорович - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Ковалев Владислав Викторович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, трансфузиологии педиатрического факультета ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Малышкина Анна Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, директор ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования "Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова" МО РФ

Защита диссертации состоится «___» _____ 2022 года в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 99.2.037.02 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого 6-8.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.1spbgtmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2022 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинских наук

Молчанов Олег Леонидович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Дистресс плода, возникающий как антенатально, так и интранатально является широко распространённой медицинской и социальной проблемой (Герасимова Л.И., 2015). Борьба с перинатальной и младенческой смертностью, направленная на рождение здоровых детей остается приоритетной задачей в работе врачей акушеров-гинекологов и врачей неонатологической службы. В России в последние десятилетия динамика изменений показателя перинатальной смертности характеризуется чёткой тенденцией к снижению. По сравнению с 2005 г. показатель перинатальной смертности к 2021 году снизился с 10,2‰ (Суханова Л.П., 2007) до 4,4‰ (Иванов Д.О., 2021; Щербакова Е.М., 2021).

Большинство осложнений беременности и родов связаны между собой общим патогенетическим звеном – гипоксией. Гипоксия, приводящая к тяжёлым неврологическим нарушениям у детей, возникает в антенатальном периоде в 63% случаев, интранатально в 21,2% случаев и в период новорожденности до 5,7% случаев (Еремина О.В., 2014). Реализованная гипоксия способствует увеличению заболеваемости на протяжении всего младенческого возраста, в некоторых случаях приводит к инвалидизации и остаётся одной из основных причин мертворождаемости и младенческой смертности (Соколовская Т.А., 2008; Радзинский В.Е., 2017).

Существует значительное количество стресс-факторов, которые могут оказывать влияние на функциональное состояние и исход родов для плода (Айламазян Э.К., 2020; Шмаков Р.Г., 2021). Прежде всего естественным, базовым, стресс-фактором для плода является непосредственно сам родовой акт. В следствии сдавления подлежащей части плода и периодического нарушения маточно-плацентарного кровотока в результате схваток развиваются физиологическая гипоксемия и гипоксия плода. Кроме того, существуют патологические стресс-факторы, большинство из которых отражены в шкале перинатального риска Радзинского В.Е., Князева С.А., Костина И.Н. (2011).

Оценка функционального состояния плода во время беременности и в родах остается непростой задачей современной диагностики, определяющей постнатальное развитие детей (Еремина О.В., 2014). Однако, несмотря на постоянное развитие методов диагностики функционального состояния плода, оценку перинатальных факторов риска и оптимизацию тактики ведения патологических родов, процент случаев перинатальной патологии остаётся высоким (Еремина О.В., 2014; Иванов Д.О., 2021).

Не менее важным является поиск предикторов оценки компенсаторно-приспособительных возможностей плода в родах. Решение этого вопроса привлекает внимание как физиологов, так и врачей-клиницистов. Об этом свидетельствует большое количество публикаций,

представленных экспериментальными (модели острой/хронической гипобарической гипоксии, глобальной ишемии) (Liu W., 2020; Tu M., 2020; Pena E., 2020) и клиническими (обсуждение роли фосфокреатин-креатинкиназы, белка bcl-2, глутатионпероксидазы, матричной металл-протеиназы-9 и др.) (Закурина А.Н., 2014; Константинова Н.Н., 2003; Павлова Н.Г., 2010; Ремнева О.В., 2015) исследованиями. Несмотря на многолетнее изучение этой проблемы, поиск новых путей реализации компенсаторно-приспособительных механизмов продолжается. Известно, что нейроны переднего отдела головного мозга являются наиболее чувствительными клетками организма к различным повреждающим воздействиям, в частности гипоксии/ишемии (Чурилова А.В., 2014). В этой связи для клинициста интересны экспериментальные данные нейробиологов (*in vitro* и *in vivo*) (Ведунова М.В., 2014), которые раскрывают роль нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза клеток нервной системы и пластичности нейрональной сети.

Нейротрофины — регуляторные белки нервной ткани, оказывающие трофическое влияние на основные процессы жизнедеятельности нейронов. Они формируют механизмы, участвующие в восстановлении нарушенных неврологических функций, а также являются стимуляторами нейрогенеза (Каракулова Ю.В., 2016). Они играют решающую роль в нейропротекции, препятствуют развитию апоптотических реакций во многих нейрональных популяциях, оказывая влияние на пре- и постнатальное развитие головного мозга (Уразов М.Д., 2018; Giannopoulou I., 2018). К ним относят мозговой нейротрофический фактор — BDNF и глиальный нейротрофический фактор — GDNF. При повреждении ЦНС происходит выделение нейротрофических факторов в периферический кровоток (Живолупов С.А., 2012), что делает возможным определение их в различных биологических жидкостях плода и матери.

Таким образом, наличие многочисленных факторов риска развития гипоксии плода, недостаток патогенетически обоснованных методов диагностики данного состояния и маркёров, позволяющих оценить компенсаторно-приспособительные механизмы плода, определило цель и задачи проведённого исследования.

Цель исследования

Изучить влияние хронической гипобарической гипоксии на уровень нейротрофических факторов у беременных самок мышей в эксперименте и оценить диагностические перспективы мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза плода в клинической практике при осложнённом течении беременности и родов.

Задачи исследования

- 1) Изучить влияние хронической гипобарической гипоксии на уровень мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофических факторов в сыворотке крови беременных самок мышей на фоне хронической гипобарической гипоксии.

- 2) Провести исследование маркеров гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и уровня нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых, оценить изменение их концентрации в зависимости от реализации стресс-факторов во время беременности и в родах.
- 3) Выявить взаимосвязи между уровнем изучаемых мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофических факторов в сыворотке пуповинной крови новорождённых и уровнями маркеров гипоксии NSE, ARNT/HIF-1 β .
- 4) Определить роль мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) факторов в регуляции гомеостаза плода и установить возможные патогенетические механизмы компенсаторно-приспособительного и протекторного действия молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети.

Научная новизна

В результате проведённых исследований впервые показано, что хроническая гипобарическая гипоксия у беременных самок мышей в I и II триместрах беременности приводит к статистически значимому снижению уровня нейротрофических факторов BDNF и GDNF.

Впервые в клинической практике произведена оценка уровня маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF и GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых. В работе дано обоснование изменения их концентрации в зависимости от реализации стресс-факторов во время беременности и в родах.

Впервые установлены корреляционные взаимосвязи уровня гуморальных маркеров гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с особенностями течения беременности, родов и функциональным состоянием плода.

Впервые определена патогенетическая роль молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети (BDNF, GDNF) при ante- и интранатальном воздействии стресс-факторов.

Доказано, что высокий уровень исследуемых нейротрофинов (BDNF, GDNF) свидетельствует о надежных компенсаторно-приспособительных механизмах адаптации плода, в то время как их низкий уровень приводит к уменьшению резервных возможностей плода и не обеспечивает положительный исход родов, а также благоприятное течение периода адаптации.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные экспериментальные данные расширяют современные представления о биологической роли нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в регуляции гомеостаза беременных самок мышей на фоне хронической гипобарической гипоксии.

Полученные клинические данные дополняют современные представления о биологической роли нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза плода при реализации стресс-факторов

во время беременности и в родах и позволяют обосновать их значение в жизнедеятельности плода и новорождённых.

Совокупность полученных данных и теоретических положений углубляет современные представления о реализации компенсаторно-приспособительных механизмов во время беременности, в родах и раннем неонатальном периоде, что позволяет с точки зрения фундаментальной медицины обосновать патофизиологические механизмы их действия при реализации стресс-факторов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Воздействие хронической гипобарической гипоксии в группе беременных самок мышей в эксперименте приводит к статистически значимому снижению в сыворотке крови уровня мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофических факторов ($p < 0,05$) в сравнении с группой контроля.

2. Повышенный уровень маркеров гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) в сыворотке пуповинной крови новорождённых детей свидетельствует о реализации хронической гипоксии во время беременности на плод, при этом в группах умеренного и высокого риска развития антенатальной гипоксии уровень NSE, ARNT/HIF-1 β коррелирует с развитием субкомпенсированной плацентарной недостаточности ($\rho_{xy} = 0,45$, $p = 0,028$; $\rho_{xy} = 0,34$; $p = 0,110$).

3. Высокий уровень ARNT/HIF-1 β в группах умеренного и высокого риска подтверждает его роль в патогенезе развития компенсаторно-приспособительных реакций плода в условиях хронической гипоксии. При этом, высокий уровень мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофинов способствует обеспечению надежных компенсаторно-приспособительных механизмов адаптации плода в ответ на действие стресс-факторов.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены в работу родильного отделения клиники акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России; включены в материалы для обучения студентов и врачей кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии, а также кафедры акушерства, гинекологии и неонатологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены: на V форуме университетской науки «Научное медицинское прогнозирование: молекулярно-генетические аспекты. Триггеры патогенеза, ятрогенные влияния» 50 лет лечебному факультету МГМСУ им. А. Е. Евдокимова (Москва, 2018); II-й международной конференции «Гемостаз, тромбоз и репродукция:

междисциплинарный подход» (Санкт-Петербург, 2018г); XIX съезде акушеров-гинекологов России и Всероссийском научно-образовательном форуме «Мать и Дитя» (Москва, 2018 г); XV международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2020).

Апробация диссертации проведена на кафедральных совещаниях сотрудников кафедр акушерства, гинекологии и репродуктологии и акушерства, гинекологии и неонатологии ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава РФ (протокол №23 от 30.05.2022).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 – в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, определенных ВАК Минобрнауки РФ.

Личный вклад автора в исследование

Личный вклад автора состоит в отборе участниц в клиническую часть исследования; непосредственном участии в заборе проб для выполнения клинического исследования; анкетирования рожениц; выполнении обработки первичной медицинской документации ее систематизации, а также в обработке данных, полученных в результате экспериментального исследования. Проведен статистический анализ результатов исследования, на основании которого сформулированы положения, выносимые на защиту, и сделаны обоснованные выводы.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена в традиционной форме на 171 странице, иллюстрирована 23 таблицами и 25 рисунками. Состоит из введения, обзора литературы, главы, посвящённой экспериментальной части исследования, 2 глав посвящённых клинической части исследования, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы. Список литературы включает 241 источник, из них 84 отечественных и 157 зарубежных авторов.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 3.1.4. – Акушерство и гинекология. Результаты проведенного исследования специальности, конкретно – пунктам 1,2,4 паспорта специальности «акушерство и гинекология».

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методология и материалы исследования. Для решения поставленных задач за период с 2017 по 2021 гг. были выполнены экспериментальное исследование и ретроспективное обзорное описательное клиническое исследование по типу «случай-контроль».

Экспериментальное исследование было выполнено на базе ФГБОУ ВО ЦНИЛ «ПИМУ» Минздрава России, Нижний Новгород (зав. лабораторией – к.б.н. Щелчкова Н.А.). В

экспериментальном исследовании изучено воздействие хронической гипобарической гипоксии на беременных самок мышей линии C57BL/6 (n=24).

В клиническом исследовании принимали участие роженицы (n=81) и их новорождённые дети, наблюдаемые в клинике акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России (руководитель клиники – д.м.н., профессор Беженарь В.Ф.). Средний возраст обследованных женщин составил $29,22 \pm 4,23$ лет.

Критериями включения в исследование явились: возраст рожениц старше 18 лет; родоразрешение через естественные родовые пути; доношенный срок гестации; одноплодная беременность.

Критерии не включения: отсутствие информированного добровольного согласия на прохождение исследования.

Критерии исключения: ненадлежащее качество собранного материала (гемолиз проб).
Для раскрытия темы исследования и реализации поставленных задач было выполнено:

Экспериментальное исследование.

Моделирование хронической гипобарической гипоксии у беременных самок мышей (n=12) в I и II триместрах беременности с 5-го по 15-й день гестации. Для этого в течение 10 дней по 30 мин в указанный период гестации с помощью барокамеры создавали условия, соответствующие подъёму на высоту 6500–7000 м. Режим эксперимента выбран с целью оценки изменения уровня нейротрофических факторов при максимально-возможном повреждающем действии (сублетальная высота).

Контрольную группу составили беременные самки без воздействия ХГГ (n=12). На 19-й день гестации проводили забор крови для определения концентрации нейротрофических факторов BDNF и GDNF.

После декапитации кровь сливалась в пробирки с ЭДТА. Образцы сыворотки крови для анализа получали посредством отстаивания крови в течение 30 мин при 37°C и последующем центрифугировании при 2500 об./мин в течение 20 мин. Далее сыворотку крови беременных самок мышей в объёме 150 – 200 мкл при необходимости замораживали и хранили при температуре -70 °C до определения уровня BDNF, GDNF. Непосредственно перед определением уровня нейротрофических факторов методом иммуноферментного анализа сыворотка крови однократно размораживалась.

Клиническое исследование.

Включение пациенток в исследование проводили на основании подсчёта баллов по шкале перинатального риска (в соответствии со шкалой перинатального риска Радзинского В.Е.,

Князева С.А., Костина И.Н., 2011), данных объективного обследования, течения и исхода родов для матери и новорождённых. Полученные данные, заносились в разработанную нами таблицу. У отобранных случайным образом женщин (n=81) был произведён забор проб сыворотки пуповинной крови новорождённых, в которых были определены уровни нейротрофических факторов (BDNF, GDNF). Дополнительно в части проб (n=25) был оценен уровень NSE и ARNT/HIF-1 β . Пробы крови в клиническом исследовании отбирались из сосудов пуповины после ее пересечения, непосредственно после рождения плода, до выделения последа. Цельную кровь для определения содержания в ней BDNF, GDNF, ARNT/HIF- 1 β центрифугировали в течении 5 минут при 6000 об/мин. Полученную сыворотку в объёме 200–300 мкл замораживали и хранили при температуре -20 °С не более 6 мес. В термоконтейнере ТМ-35 с сухим льдом осуществлялась транспортировка в лабораторию, в которой после однократного размораживания были выполнены указанные диагностические тесты.

Пациентки (n=81) были разделены на 3 группы. Критериями деления служили данные об уровне перинатального риска (антенатального и интранатального) по шкале Радзинского В.Е. и соавт. 2011г, оценке по шкале Апгар, данные гистологического исследования плаценты и течения периода адаптации новорожденных. Однако, принимая во внимание большое количество различных факторов, включенных авторами шкалы в общую оценку перинатального риска, нами был проведен корреляционный анализ данных факторов с оценкой по шкале Апгар новорожденных у обследованных женщин на 1 минуте жизни (Таблица 1).

Таблица 1 - Корреляционные взаимосвязи между факторами перинатального риска по Радзинскому В.Е. и соавт. (2011) и оценкой по шкале Апгар на 1 минуте жизни

Показатель	V Крамера	P-value
Кардиотокография (сомнительный тип кривой)	0,493	<0,001*
Мекониальное окрашивание околоплодных вод	0,415	<0,001*
Длительный безводный промежуток	0,236	0,034*
Наличие хронической плацентарной недостаточности по данным гистологического исследования	0,212	0,056*

*- различия показателей статистически значимы (p<0,05)

Благодаря полученным данным было показано, что наличие сомнительного паттерна по данным кардиотокографии имело относительно сильную прямую связь с исходом для плода по шкале Rea & Parker. Прямые корреляционные взаимосвязи средней силы наблюдались между оценкой по шкале Апгар на 1 минуте жизни и мекониальным окрашиванием околоплодных вод, длительным безводным промежутком и наличием морфологически доказанной

субкомпенсированной плацентарной недостаточности. Все указанные взаимосвязи были статистически значимы ($p < 0,05$).

После получения результатов диагностических тестов сравнивали концентрацию NSE, ARNT/HIF-1 β и нейротрофических факторов среди исследуемых групп. На основании полученных данных изучали взаимосвязи между нейротрофическими факторами и маркерами гипоксии NSE, ARNT/HIF-1 β , а также их связи с факторами перинатального риска, степенью структурных изменений в плаценте.

Совокупность полученных данных позволила установить роль нейротрофических факторов в реализации компенсаторно - приспособительных механизмов у плода во время беременности и в родах.

Лабораторные методы

Уровень BDNF и GDNF в экспериментальной части исследования определяли методом иммуноферментного анализа. С этой целью использовали коммерческие наборы BDNF DY248 (R&D Systems, США) и GDNF CSB-E07341M (Cusabio, США).

Уровень нейротрофических факторов в клинической части исследования определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов BDNF DY248 (R&D Systems, США) и GDNF DY212 (R&D Systems, США).

Уровень NSE был определён с помощью реактивов NSE-ИФА-БЕСТ (кат. 8476, Вектор-бест, Россия), а уровень HIF-1 β (ARNT) с помощью SED470Hu (Cloud-Clone, Китай).

Методика ультразвукового исследования плода, доплерометрии

Ультразвуковое исследование (I, II, III скрининги) проводилось пациенткам в условиях женской консультации на амбулаторном этапе. Ультразвуковая фетометрия и доплерометрия при поступлении в стационар проводились в отделении функциональной диагностики клиники акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «ПСПБГМУ им. И.П Павлова» Минздрава России.

Ультразвуковую фетометрию и доплерометрию плодово-плацентарного и маточно-плацентарного кровотока проводили на ультразвуковом диагностическом приборе экспертного уровня «Voluson 730 Expert» (GE, USA), оснащённым доплеровским блоком, с функцией триплексного сканирования: ультразвуковое изображение, цветное доплеровское картирование кровотока в исследуемом сосуде и одновременную регистрацию доплерограммы. Использовался конвексный трансабдоминальный датчик, работающий в импульсном режиме.

Методика кардиотокографии

Проводилось всем пациенткам на стационарном этапе в отделении патологии беременности и в родильном отделении клиники акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «ПСПБГМУ им. И.П Павлова» Минздрава России. Использовались фетальные мониторы Philips Avalon FM 20/30. Во

всех исследуемых случаях использовали непрямой метод КТГ. Оценка КТГ производилась согласно классификации, предложенной перинатальным комитетом FIGO (2015 г).

Определение исхода родов для плода и степени течения периода адаптации новорождённых

Показатель исхода родов для плода определяется как среднее арифметическое между баллами по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни.

Для определения степени осложнений периода адаптации у новорождённых была введена система баллов, представленная в таблице 2.

Таблица 2 - Определение степени осложнений периода адаптации новорождённых

Баллы	Осложнения течения периода адаптации
0	Течение периода адаптации гладкое, выписка новорождённого в срок
1	Требовалось динамическое наблюдение за новорождённым, контроль клинико-лабораторных показателей. Выписка новорождённого в срок.
2	Требовалось динамическое наблюдение за новорождённым, проводилось лечение и инфузионная терапия. Выписка новорождённого домой в срок.
3	Требовалось динамическое наблюдение за новорождённым, проводилось лечение и инфузионная терапия. Выписка новорождённого домой с задержкой
4	Требовалось динамическое наблюдение за новорождённым, проводилось лечение и инфузионная терапия. Перевод в детскую городскую больницу для дальнейшего наблюдения и лечения
5	Требовались реанимационные мероприятия и интенсивная терапия после рождения или в течение периода адаптации, перевод в детскую городскую больницу

Методика гистологического исследования плаценты

Кусочки плаценты объёмом 1 см³ вырезались колонками через все слои в центральной, парацентральной и периферической части плаценты. Далее материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (рН 7.2), обезвоживали с помощью автоматической станции подводки материала. Гистологическое исследование плаценты проводили методом полутонких срезов (Leica, Нидерланды), окрашивали гематоксилин-эозином, анализировали в микроскопе Nikon Eclipse E400 (Япония) и фотографировали с помощью фотокамеры Nikon-DXM 1200 (Япония). При характеристике плацентарной недостаточности отмечали как длительность существования (острая и хроническая), так и степень компенсации недостаточности (компенсированная, субкомпенсированная). Отсутствие морфологических признаков плацентарной недостаточности расценивалось как компенсированное состояние плаценты. Для статистического анализа степень структурных изменений плаценты выражали в баллах (Таблица 3).

Таблица 3 - Определение степени структурных изменений плаценты

Баллы	Структурные изменения плаценты
0	Зрелая плацента, соответствующая сроку гестации, с начальными инволюционно-дистрофическими изменениями
1	Зрелая плацента, с выраженными компенсаторно-дистрофическими изменениями
2	Плацента соответствует срокам гестации, с признаками хронической субкомпенсированной плацентарная недостаточность

Статистическая обработка результатов исследования

Статистический анализ результатов произведён с использованием пакета SPSS 20 и программы StatTech v. 2.1.0.

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1 – Q3]. В некоторых случаях при ненормальном распределении выборки данные были представлены в виде $M \pm SD$, в связи с низкими значениями показателей и высоким разбросом данных, однако сравнение групп производилось с помощью непараметрических критериев анализа. Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение трех групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью критерия Краскела-Уоллиса, апостериорные сравнения – с помощью критерия Данна с поправкой Холма.

Сравнение процентных долей при анализе таблиц сопряженности 2x2 выполнялось с помощью точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10) или критерия χ^2 Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10). Сравнение процентных долей при анализе многопольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными/порядковыми показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена, при оценке двух номинальных показателей был использован коэффициент V-Крамера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика групп и полученные результаты в экспериментальной части исследования. Эксперименты проводили на беременных самках мышей линии C57BL/6 (инбредная линия, окраска шерсти чёрная, генотип, а, H-2b) разного срока гестации (n=24). После

моделирования ХГГ в I - II триместрах беременности был произведён забор крови беременных самок мышей на 19-й день гестации и определены концентрации нейротрофических факторов BDNF, GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей методом иммуноферментного анализа (Таблица 4).

Таблица 4 - Уровень нейротрофических факторов BDNF, GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей на 19-й день гестации после моделирования хронической гипобарической гипоксии, пг/мл (M±SD)

Показатель	Контрольная группа (n=12)	Опытная группа (n=12)	P-value
	Me [Q1-Q3]	Me [Q1-Q3]	
BDNF, пг/мл	0,31 [0,24-0,52]	0,06 [0,04-0,09]	<0,001*
GDNF, пг/мл	0,17 [0,03 -0,28]	0,04 [0,02-0,06]	0,044*

*p <0,05 различия статистически значимы

По представленным в таблице данным видно, что группы статистически значимо отличались по уровню изучаемых нейротрофических факторов. Установлено, что воздействие ХГГ приводит к существенному снижению концентрации обоих факторов в крови беременных самок. В опытной группе уровень BDNF составил 0,06 [0,04-0,09] pg/ml, уровень GDNF — 0,04 [0,02-0,06] pg/ml, в то время как в группе контроля концентрация факторов составила 0,31 [0,24-0,52] и 0,17 [0,03 -0,28] pg/ml соответственно.

При воздействии хронической гипобарической гипоксии в I-II триместрах происходит значительное снижение нейротрофических факторов в конце беременности самок мышей.

Характеристика групп и полученные результаты в клинической части исследования.

В зависимости от уровня перинатального риска по Радзинскому В.Е. и соавт., (2011), данных патоморфологического исследования плаценты, исхода родов для плода и течения периода адаптации новорождённых было выполнено разделение обследованных женщин на 3 группы: *низкого* (группа 1), *умеренного* (группа 2) и *высокого* (группа 3) рисков развития гипоксии плода.

В *группу 1* (n=19) отнесены пациентки, у которых был низкий уровень перинатального риска по шкале В. Е. Радзинского, при гистологическом исследовании плацента соответствовала варианту нормы или имелись начальные признаки инволюции, исход для плода был абсолютно благоприятным (8-9 баллов по шкале Апгар и более), а течение периода адаптации новорождённых было без особенностей.

В *группу 2* (n=49) отнесены пациенты, у которых была преимущественно умеренная степень перинатального риска, при гистологическом исследовании плаценты имелись изменения характерные для компенсированной плацентарной недостаточности, исход для плода был

благоприятным (≥ 8 баллов по шкале Апгар), но имелись особенности в течение периода адаптации у новорождённых.

В *группу 3* ($n=13$) отнесены пациенты с различной степенью перинатального риска по шкале В. Е. Радзинского, при гистологическом исследовании плаценты имелись морфологические признаки субкомпенсированной плацентарной недостаточности, при рождении наблюдали дистресс плода (≤ 7 баллов по шкале Апгар) и осложнения в течении периода адаптации у новорождённых.

В работе проведен анализ факторов, учитываемых при разделении пациентов на группы, который показал статистически значимые ($p < 0,05$) различия между группами, что свидетельствует о корректном формировании групп (Таблица 5).

Таблица 5 – Анализ групп клинического этапа исследования по степени их различия

Факторы	Группа			p
	1	2	3	
¹ Средний показатель степени перинатального риска по В.Е.Радзинскому (M±SD)	8,05±4,10	12,98±7,15	18,54±8,80	P ₁₋₂ =0,032* P ₁₋₃ =0,001* P ₂₋₃ =0,176
² Средний показатель степени, структурных изменений плаценты (M±SD)	0,26±0,45	1,31±0,80	1,31±0,48	P ₁₋₂ <0,001* P ₁₋₃ <0,001* P ₂₋₃ =0,992
³ Средний показатель исхода родов для плода по шкале Апгар (M±SD)	8,40±0,20	8,36±0,22	7,73±0,48	P ₁₋₂ =1,000 P ₁₋₃ <0,001* P ₂₋₃ <0,001*
⁴ Средней показатель осложнений периода адаптации (M±SD)	0,00±0,00	0,31±0,50	1,77±1,69	P ₁₋₂ =0,096 P ₁₋₃ <0,001* P ₂₋₃ <0,001*
Примечание: ¹ – определяется как показатель степени перинатального риска по шкале Радзинского. ² – степень гистологических изменений плаценты ранжируется от 0 до 2, где нормальная гистологическая картина плаценты принимает значение «0». ³ - показатель исхода родов для плода определяется как среднее арифметическое между баллами по шкале Апгар на 1 и 5 минутах жизни. ⁴ – показатель осложнений периода адаптации ранжируется от 0 до 5, где отсутствие каких-либо особенностей течения периода адаптации новорождённых принимает значение «0».				

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$)

На основании данных представленных в таблице 1 и 2-я группы, а также 1 и 3-я группы статистически значимо отличаются ($p < 0,05$) по уровню перинатального риска (шкала Радзинского В.Е. и соавт., 2011). В тоже время 2 и 3-я группы имеет тенденцию к увеличению факторов перинатального риска без существенных различий ($p > 0,05$). Необходимо отметить, что среднее значение степени перинатального риска имеет устойчивую тенденцию к увеличению своего значения от первой к третьей группам.

Гистологические изменения плацентарной ткани в 1-й группе отсутствуют или характеризуются умеренными инволюционными изменениями, которые могут являться вариантом нормы. Во 2 и 3-й группах представлены различные гистологические изменения плацентарной ткани, которые варьируют от инволюционно-дистрофических изменений до выраженных проявлений хронической плацентарной недостаточности.

Таким образом, среднее значение степени структурных изменений плаценты во 2 и 3-й группах существенно отличается ($p < 0,05$) от показателя в 1-й группе, где сосредоточены пациенты низкого риска развития гипоксии плода в родах. Между 2 и 3-й группами мы видим отсутствие статистически значимых различий ($p > 0,05$) в показателях степени изменения плаценты. Это, на наш взгляд, указывает на равнозначную силу повреждающего воздействия стресс-факторов вовремя беременности и в родах в данных группах.

При этом средние показатели исходов родов по шкале Апгар в 1 и 2-й группах идентичны, и не имеют статистики значимых различий ($p > 0,05$), в то время как имеются выраженные существенные различия между 1 и 3-й группами ($p < 0,001$) и 2 и 3-й группами ($p < 0,001$). Подобное различие делает 1 и 2-ю группы сопоставимыми по исходу родов для плода. Средний показатель степени осложнений периода адаптации имеет значимые отличия между 2 и 3 группами ($p < 0,001$). Следует отметить, что среднее значение показателя степени осложнений периода адаптации, имеет существенную тенденцию к увеличению своего значения от первой к третьей группе.

При анализе данных была показана сопоставимость изучаемых групп клинического исследования по антропометрическим показателям, данным анамнеза и частоте встречаемости экстрагенитальной и гинекологической патологии ($p > 0,05$). В ходе анализа осложнений течения беременности и родов у женщин между изучаемыми группами в клиническом исследовании был выявлен ряд особенностей (Таблица 6).

Исходя из данных, отмеченных в таблице 6, обращают внимание существенные различия в частоте встречаемости хронической плацентарной недостаточности во 2 и 3-й группах по сравнению с 1-й группой ($P_{1-2} = 0,012$; $P_{1-3} = 0,007$). Высокий процент наличия данной патологии обуславливает закономерное распределение пациентов в группах более высокого перинатального риска, однако между 2 и 3-й группами отсутствуют статистически значимые различия ($p > 0,05$), что может свидетельствовать о равнозначном воздействии данного фактора в исследуемых группах. Также было отмечено увеличение частоты мекониального окрашивания околоплодных вод в 3-й группе ($p = 0,006$) по сравнению со 2-й группой. При изучении других показателей течения беременности среди изучаемых групп статистически значимых различий не было выявлено ($p > 0,05$).

Таблица 6 - Анализ осложнений беременности и родов в исследуемых группах в клинической части исследования

Показатели	Группы			p
	I (n=19) Абс.(%)	II (n=49) Абс.(%)	III (n=13) Абс.(%)	
Угроза выкидыша	1 (5,3)	2 (4,1)	1 (7,7)	0,865
Угроза преждевременных родов	0 (0,0)	2 (4,1)	1 (7,7)	0,514
Преэклампсия	0 (0,0)	2 (4,1)	0 (0,0)	0,512
Хроническая плацентарная недостаточность (по данным гистологического исследования)	2 (10,5)	23 (44,9)	9 (61,5)	P ₁₋₂ = 0,012* P ₁₋₃ = 0,007*
Рубец на матке	0 (0,0)	1 (2,0)	0 (0,0)	0,718
Острые инфекционные заболевания во время беременности	1 (5,3)	4 (8,2)	0 (0,0)	0,935
Аномалии родовой деятельности	0 (0,0)	2 (4,1)	0 (0,0)	0,512
Аномальное количество околоплодных вод (многоводие/маловодие)	0 (0,0)	2 (4,1)	1 (7,7)	0,514
Околоплодные воды, окрашенные меконием	0(0,0)	1 (2,0)	3 (23,1)	P ₂₋₃ = 0,006*
Длительный безводный промежуток (> 18 часов)	2 (10,5)	5 (10,2)	2 (15,4)	0,866

*- различия показателей статистически значимы (p<0,05)

Проведен анализ выявленных отклонений в ходе инструментальных методов обследования в группах клинического исследования (Рисунок 1).

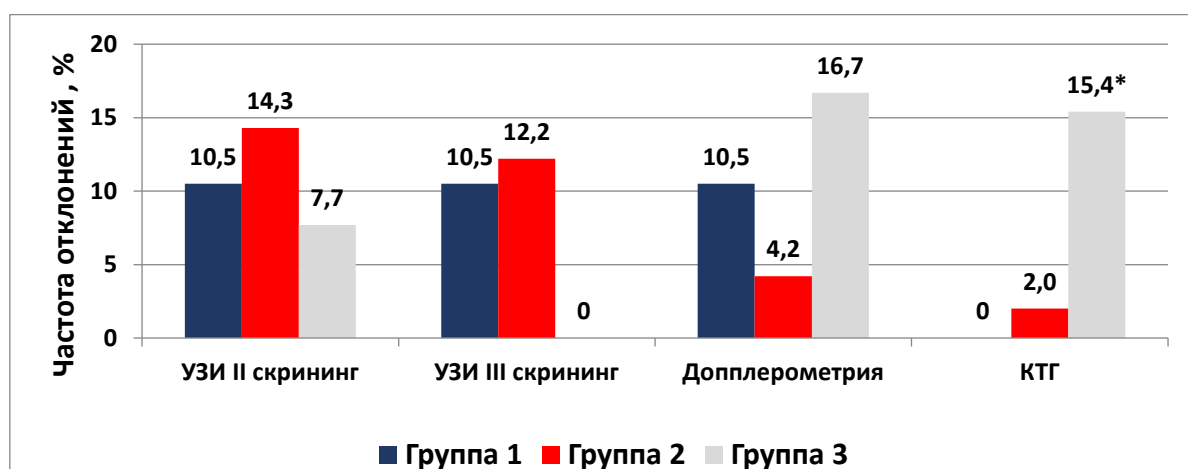


Рисунок 1 - Анализ выявленных отклонений в ходе инструментальных методов между группами клинической части исследования

*- различия показателей статистически значимы (p<0,05)

Согласно представленным на рисунке данным, сравнение результатов, полученных при обследовании функционального состояния плода среди указанных групп показало, что частота встречаемости патологических паттернов кардиоотографии (сомнительный и патологический типы кривых) в 3-й группе была существенно выше по сравнению со 2-й группой ($p_{2-3}=0,048$). Также, при анализе диаграммы мы видим тенденцию к увеличению частоты встречаемости патологических типов доплерометрии в 3-й группе ($p>0,005$). Отсутствие существенных различий может быть связано с небольшим количеством таких наблюдений, обусловленное случайной выборкой.

В выполненном исследовании изучены особенности изменения концентрации факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых в исследуемых группах (Рисунок 2).

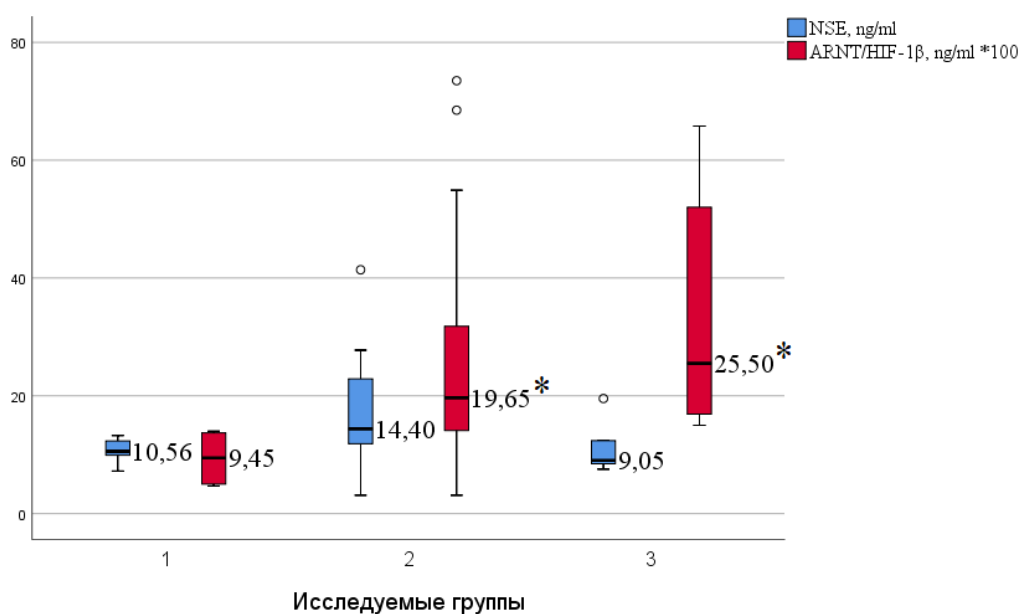


Рисунок 2 - Значения маркеров гипоксии NSE и ARNT/HIF- 1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых на этапе клинического исследования

* – различия показателей статистически значимы по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$)

Среднее значение уровня NSE в сыворотке пуповинной крови новорождённых в 1-й группе составило $10,64 \pm 2,10$ ng/ml, медиана -10,56 [9,91-12,34] ng/ml. В группе умеренного и высокого риска по развитию гипоксии плода (2 и 3-я группы) имеется тенденция к увеличению в сосудистом русле специфического внутриклеточного белка нейронов, нейронспецифической енолазы (NSE) по сравнению с группой низкого риска (1-я группа) без статистически значимых различий ($p>0,05$). Среднее значение уровня NSE в сыворотке пуповинной крови новорождённых во 2-й группе составило $17,6 \pm 9,34$ ng/ml, медиана -14,40 [11,85-22,88] ng/ml. В 3-й группе среднее значение уровня NSE в сыворотке пуповинной крови новорождённых составило $11,39 \pm 4,9$ ng/ml, медиана -9,05 [8,45-12,39] ng/ml.

В свою очередь значения гипоксия-индуцированного фактора ARNT/HIF-1 β имели статистически значимые различия между 1 и 2-й группами ($p=0,026$); а также 1 и 3-й группами ($p=0,022$) и устойчивый тренд к увеличению значений от группы низкого риска к группе высокого риска развития гипоксии плода (Рисунок 2). Различий по уровню гипоксия-индуцированного фактора ARNT/HIF-1 β между 2 и 3-й группами не выявлено ($p>0,05$).

Среднее значение уровня ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых в 1-й группе составило $0,09\pm 0,04$ ng/ml, медиана - $0,09$ [0,05-0,137] ng/ml. Среднее значение уровня ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых во 2-й группе составило $0,28\pm 0,22$ ng/ml, медиана - $0,196$ [0,141-0,318] ng/ml. В 3-й группе среднее значение уровня ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых составило $0,37\pm 0,25$ ng/ml, медиана - $0,255$ [0,169-0,520] ng/ml.

Подобное изменение концентрации NSE и ARNT/HIF-1 β может свидетельствовать о том, что гипоксию в родах переносит любой плод вне зависимости от наличия или отсутствия, а также реализации факторов, ассоциированных с гипоксией. Причём перенесённая гипоксия сопровождается гибелью нейронов, на это указывает изменение уровня NSE в группах. В свою очередь, отсутствие статистически значимых различий в значениях NSE между группами при устойчивом увеличении концентрации ARNT/HIF-1 β ($p<0,05$) может указывать на то, что не каждая реализованная гипоксия приводит к гибели нейронов к моменту наблюдения. Это может происходить ввиду как временного фактора действия повреждающего агента, так и реализации эндогенных антиапоптотических механизмов, запущенных с участием ARNT/HIF-1 β , так и экзогенных механизмов поддержания гомеостаза нейрональной сети. Далее проведен анализ корреляционных взаимосвязей уровня NSE и ARNT/HIF-1 β со степенью структурных изменений в плаценте (Рисунки 3, 4).

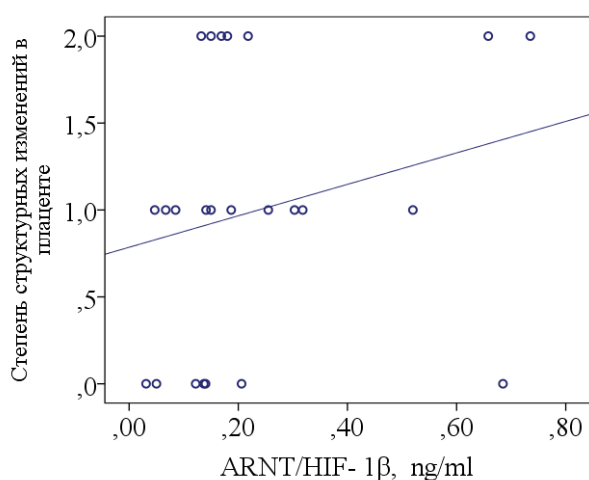


Рисунок 3 - Взаимосвязь между уровнем NSE в сыворотке пуповинной крови и степенью гистологических изменений в плаценте

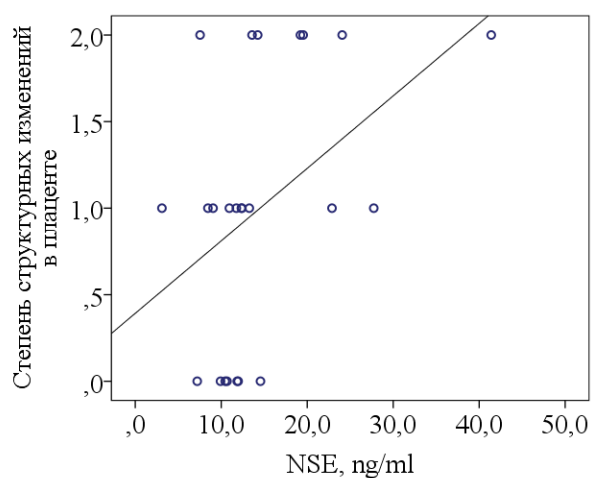


Рисунок 4 - Взаимосвязь между уровнем NSE в сыворотке пуповинной крови и степенью гистологических изменений в плаценте

В ходе исследования установлено наличие прямых умеренных корреляционных связей между уровнем NSE ($\rho_{xy}=0,45$; $p=0,028$) и ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=0,34$; $p=0,110$) со степенью гистологических изменений плаценты, что морфологически подтверждает реализацию факторов гипоксии во 2 и 3-й группах (Рисунки 3, 4).

Здесь заметим, что статистически значимая корреляционная связь была выявлена только с уровнем NSE. Это, в первую очередь может указывать на то, что ARNT/HIF-1 β является ранним маркёром гипоксии, и в некоторых случаях клеточный гомеостаз достигается эндогенными антиапоптотическими механизмами, что не вызывает значительных структурных перестроек плаценты. С другой стороны, статистически значимая связь NSE со структурными изменениями плаценты говорит о том, факторы гипоксии действуют более длительное время, а экзогенная регуляция клеточного гомеостаза начинается при значительных повреждениях клетки, является более сложно организованной и для её реализации задействованы многие системы, в результате чего формируются значительные структурные перестройки плаценты.

Напомним, что показатель степени гистологических изменений плаценты во 2 и 3-й группах статистически значимо ($p<0,05$) отличался от 1-й группы, где гистологическое описание плаценты соответствовало норме или было представлено незначительными компенсаторно-приспособительными реакциями с начальными инволюционно- дистрофическими изменениями (Таблица 5). Напротив, во 2 и 3-й группах степень гистологических изменений плацент варьировала от начальных компенсаторно - приспособительных реакций до структурных изменений характерных для хронической плацентарной недостаточности. Следует отметить, что статистически значимой разницы ($p>0,05$) показателя степени гистологических изменений плаценты во 2 и 3-й группах получено не было, также отсутствовала статистически значимая разница значений ARNT/HIF-1 β между 2 и 3-й группами (Таблица 5, Рисунок 2). Это может указывать на равную степень повреждающего действия факторов, ассоциированных с гипоксией в этих группах. Обращает на себя внимание, что на фоне значительного увеличения показателя ARNT/HIF-1 β во 2 и 3-й группах и равнозначных структурных изменениях в плаценте неблагоприятный исход родов в подавляющем большинстве случаев наблюдали в 3-й группе, что статистически значимо отличалось по сравнению с 1 и 2-й группами ($p<0,05$), среди которых статистически значимых различий установлено не было ($p>0,05$) (Таблица 5, Рисунок 2). Этот факт подчёркивает предположение о том, что при наличии одинаково реализуемых факторов гипоксии исход для плодов и новорождённых может быть разным ввиду реализации или отсутствия компенсаторно-приспособительных механизмов, которые должным образом обеспечивают гомеостаз нейрональной сети.

Отклонения периода адаптации новорождённых, также указывают на реализацию компенсаторно-приспособительных механизмов у новорождённых при равном повреждающем действии факторов гипоксии (Таблица 5). В 1 группе отсутствовали особенности течения периода адаптации у новорождённых, в то время как во 2 и 3-й группе осложнения периода адаптации имели статистически значимую ($p < 0,05$) тенденцию к увеличению и в 3-й группе были представлены максимальным числом патологических состояний у новорождённых. Здесь следует отметить, что во 2-й группе отмечали единичные незначительные нарушения периода адаптации, которые были компенсированы в первые сутки после родов и задержка выписки из роддома по состоянию ребёнка не последовала.

Таким образом, в 1 группе абсолютно благоприятный исход родов для плода наблюдали в 79% случаев (оценка по Апгар при рождении 8-9 баллов, течение периода адаптации новорождённых без особенностей), а в 21% случаев – положительный (оценка по Апгар 8-8 баллов и течение периода адаптации без особенностей). Во 2-й группе, несмотря на реализованные факторы гипоксии, абсолютно благоприятный исход родов наблюдали в 73,5% случаев, а в 26,5% -положительный, в то время как в 3-й группе абсолютно благоприятный исход родов для плода был только в 7,7% случаев ($p_{2-3} < 0,001$).

Однако, между исходом родов для плода, а также осложнениями течения периода адаптации и значениями ARNT/HIF-1 β корреляционных связей не выявлено ($\rho_{xy} = -0,052$; $\rho_{xy} = 0,043$). Также не было выявлено корреляционных связей между теми же состояниями плода и новорождённых с концентрацией NSE ($\rho_{xy} = 0,087$ и $\rho_{xy} = -0,074$ соответственно) ($p > 0,05$). В работе было показано отсутствие статистически значимых корреляционных связей между гуморальными факторами гипоксии и уровнем перинатального риска по шкале Радзинского В.Е. и соавт. ($p > 0,05$). Отсутствие значимых корреляционных взаимосвязей между гуморальными маркерами гипоксии и степенью перинатального риска, исходом родов и течением периода адаптации новорождённых может свидетельствовать о том, что наличие факторов перинатального риска не свидетельствует о их облигатной реализации, при этом реализованные факторы гипоксии не всегда приводят к неблагоприятному исходу родов для плода и новорождённого. Разный исход родов при наличии равнозначных факторов гипоксии указывает на успешную реализацию эндогенных и экзогенных механизмов регуляции клеточного гомеостаза и как следствие поддержание гомеостаза нейронов плода и новорождённых в ответ на действие стресс-факторов.

Полагаем, что частью одного из таких механизмов являются молекулы внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF, синтез которых лимитирован и генетически обусловлен.

В выполненном исследовании изучены особенности изменения концентрации нейротрофических факторов BDNF и GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых среди исследуемых групп (Рисунок 5).

Среднее значение уровня BDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых в 1-й группе составило $750,5 \pm 194,7$ pg/ml, медиана показателя 790,0 [610,0-888,0] pg/ml, во 2-й группе отмечается статистически значимый ($p=0,009$) рост этого показателя и среднее значение достигло $969,5 \pm 301,1$ pg/ml, медиана показателя 935,0 [610,0-888,0] pg/ml. В 3-й группе среднее значение показателя уровня BDNF статистически значимо ($p<0,001$) снижается по сравнению со 2-й группой и составило $622,6 \pm 219,2$ pg/ml, при этом медиана показателя 644,0 [442,0-784,0] pg/ml, однако эти различия не имели статистически значимой разницы ($p=0,878$) при сравнении с 1-й группой (Рисунок 5).

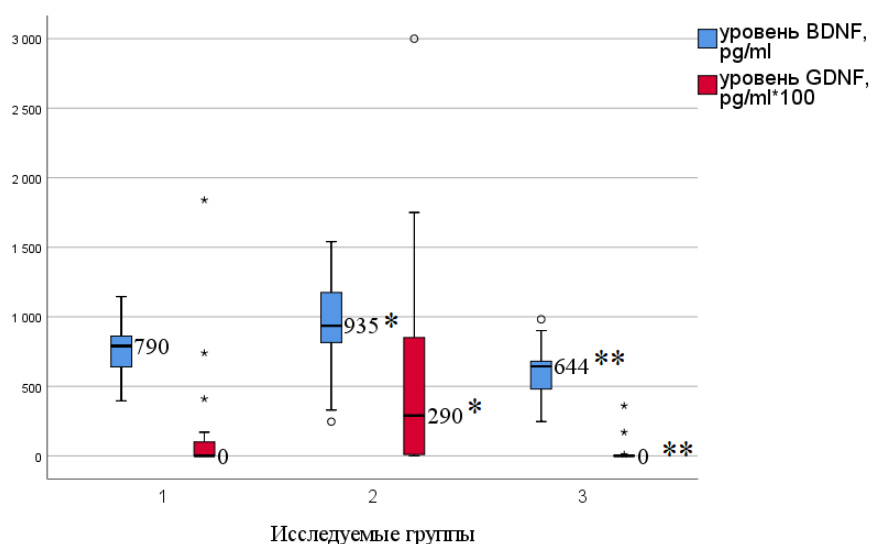


Рисунок 5 - Значения нейротрофических факторов BDNF, GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых

* – различия показателей статистически значимы между 1 и 2 группами ($p < 0,05$);
 ** – различия показателей статистически значимы между 2 и 3 группами ($p < 0,05$)

Среди исследуемых групп изменения концентраций мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) факторов были аналогичными (Рисунок 5). Среднее значение уровня GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых в 1 группе составило $1,85 \pm 4,4$ pg/ml, медиана показателя 0 [0-1] pg/ml, во 2 группе отмечался значительный ($p=0,007$) рост этого показателя и среднее значение достигло $5,53 \pm 6,77$ pg/ml, медиана показателя 2,9 [0,1-8,8] pg/ml. В 3-й группе среднее значение показателя уровня GDNF значительно и статистически значимо ($p<0,001$) снижается по сравнению со 2-й группой и составило $0,41,0 \pm 1,06$ pg/ml, медиана показателя 0,0 [0,0-0,0] pg/ml, однако эти различия не носили статистически значимой разницы при сравнении с 1-й группой ($p=0,969$) (Рисунок 5).

Учитывая, что в 1-й группе были сосредоточены пациентки исключительно с низкой степенью перинатального риска, с абсолютно благоприятным, или хорошим исходом родов,

гладким течением периода адаптации, отсутствием гистологических изменений в плаценте (Таблица 5), то в этом случае значения показателей BDNF и GDNF можно принять как базовые.

Принимая во внимание тот факт, что уровень нейротрофических факторов обусловлен генетически и строго лимитирован, то повышение средних значений уровня BDNF и GDNF во 2-й группе может свидетельствовать о реализации организмом плода неких компенсаторно-приспособительных механизмов с участием нейротрофических факторов в ответ на действие факторов гипоксии, превышающих естественный стресс-фактор – акт родов.

В ходе анализа изменения уровней BDNF и GDNF в 3-й группе в сравнении с 1 и 2-й группами выявлен ряд особенностей. Во-первых, в 3-й группе имеется статистически значимое ($p < 0,001$) снижение уровня BDNF и GDNF в сравнении со 2-й группой. Отметим, что уровень факторов перинатального риска ($p_{2-3} = 0,176$) и степень изменения плацентарной ткани ($p_{2-3} = 0,992$) во 2 и 3-й группах сопоставимы (Таблица 5) при том, что статистически значимо меняется исход родов для плода ($p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$) и течение периода адаптации новорождённых ($p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$) в сравнении с 1 и 2-й группами. Абсолютно благоприятный исход родов в 3-й группе наблюдали только в 7,7% случаев. Во-вторых, следует отметить, что уровень BDNF и GDNF в 3-й группе в сравнении с 1-й группой выражено снижается, особенно глиальный фактор, но статистических различий не имеет ($p = 0,878$; $p = 0,969$). Мы полагаем, что даже незначительное снижение уровней BDNF и GDNF относительно базального может не обеспечить должного гомеостаза нейронов плода при наличии и реализации факторов гипоксии.

Исходя из полученных данных, следует, что при увеличении уровня перинатального риска и реализации факторов гипоксии, имеющих патоморфологическое отражение в изменениях плаценты во 2-й группе, срабатывают компенсаторно-приспособительные механизмы с участием нейротрофических факторов BDNF и GDNF, что обеспечивает равновесное состояние гомеостаза нейронов плода и абсолютно благоприятный исход родов, а также гладкое течение периода адаптации новорождённых в 73,5% случаев.

В свою очередь, при однотипных факторах перинатального риска во 2 и 3-й группах и сниженном уровне BDNF и GDNF абсолютно благоприятный исход родов для плода и течение периода адаптации новорождённых наблюдается только в 7,7% случаев. Это указывает на то, что компенсаторно-приспособительные механизмы реализованы не в полном объёме и нарушено равновесное состояние гомеостаза нейронов плода.

В ходе анализа взаимосвязей факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) установлена статистически значимая умеренная прямая корреляционная связь между увеличением уровня BDNF и NSE ($\rho_{xy} = 0,476$; $p = 0,016$) (Рисунок 6). В ответ на действие факторов гипоксии во время беременности и в родах, приводящих к значительным повреждениям нейронов плода или к их гибели, и как следствие к

увеличению NSE, будет активироваться эндоканабиодная система плода (Сахарнова Т.А, 2012; Ведунова М.В., 2014), которая ведёт к увеличению синтеза BDNF. В этом случае в периферическом кровотоке будет увеличиваться как уровень NSE, так и уровень BDNF.

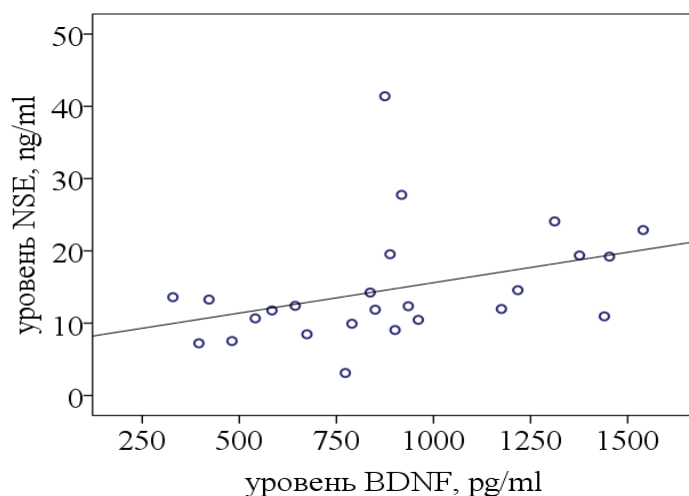


Рисунок 6 - Взаимосвязь между уровнями NSE и BDNF в сыворотке пуповинной крови

Отметим, что не каждая гипоксия приводит к гибели нейронов, в то время как активация эндоканабиноидной системы с увеличением синтеза BDNF наступает при увеличении концентрации глутамата, что соответствует поздним стадиям апоптоза. В тоже время, в ходе исследования мы выявили статистически значимую прямую корреляционную взаимосвязь между BDNF и GDNF ($\rho_{xy}=0,241$; $p=0,030$), что говорит о их тесной совместной регуляции гомеостаза нейронов, обеспечивающей пластичности нейрональной сети плода во время беременности, в родах и течении периода адаптации.

Таким образом, изменение концентрации маркеров гипоксии (ARNT/HIF, NSE) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) и их взаимосвязи между собой с факторами перинатального риска, структурными изменениями плаценты, исходом родов и течением периода адаптации указывают на важную патогенетическую роль нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в компенсаторно-приспособительных механизмах плода и течения периода адаптации. В случае успешной реализации этих механизмов обеспечивается гомеостаз нейронов плода и благоприятное течение периода адаптации новорождённых.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие хронической гипобарической гипоксии в 1 и 2-м триместрах беременности на самок мышей приводит к снижению уровня BDNF (0,06 [0,04-0,09] pg/ml) и GDNF (0,04 [0,02-0,06] pg/ml) в периферической крови по сравнению с группой контроля (0,31 [0,24-0,52] и 0,17 [0,03 -0,28] pg/ml соответственно; $p<0,05$).
2. Уровень ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорожденных детей в группах умеренного (0,028 \pm 0,22 ng/ml) и высокого (0,031 \pm 0,20 ng/ml) риска развития хронической

гипоксии статистически значимо выше по сравнению с группой низкого риска ($0,09 \pm 0,04$ ng/ml) ($p < 0,05$) и коррелирует с развитием субкомпенсированной плацентарной недостаточности в этих группах ($r_{xy} = 0,34$; $p > 0,05$).

3. Показано отсутствие корреляционных связей ARNT/HIF-1 β с изменениями BDNF и GDNF у новорожденного, что указывает на роль внутриклеточных механизмов регуляции гомеостаза нейронов плода в процессе постгипоксической адаптации. Наличие тесной корреляционной связи NSE с BDNF ($r_{xy} = 0,48$; $p < 0,05$) подтверждает реализацию внеклеточных механизмов регуляции гомеостаза клеток при значительном повреждении нейронов.
4. Установлено значимое снижение уровней BDNF ($622,6 \pm 219,2$ pg/ml) и GDNF ($0,41 \pm 1,06$ pg/ml) в сыворотке пуповинной крови новорожденных группы высокого риска развития гипоксии плода, в сравнении с группой умеренного риска ($969,5 \pm 301,1$ pg/ml; $5,53 \pm 6,77$ pg/ml соответственно) ($p < 0,001$). При этом вероятность благоприятного исхода родов и течения периода адаптации новорожденных составляет в группе высокого риска развития гипоксии 7,7% в сравнении с 73,5 % в группе умеренного риска ($p < 0,001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные экспериментальные и клинические данные являются фундаментальной основой для разработки новых методов оценки функционального состояния плода и его компенсаторных возможностей в клинической практике, направленных на возможность прогнозирования исходов хронической внутриутробной гипоксии плода.

2. Выявленные патогенетические взаимосвязи между изменениями нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) у новорожденных различных групп перинатального риска методологически подтверждают необходимость разработки новых методов коррекции внутриутробной гипоксии плода при беременности и в родах.

3. Определение уровня BDNF и GDNF в сыворотке пуповинной крови является перспективным методом оценки степени влияния хронической внутриутробной гипоксии на состояние новорождённого, при этом снижение уровней BDNF и GDNF в пуповинной крови новорождённых может свидетельствовать о том, что данные новорождённые относятся к группе высокого риска неблагоприятного течения постнатального периода.

4. Для подтверждения влияния внутриутробной гипоксии на головной мозг новорожденного целесообразно гистологическое исследование плаценты с оценкой степени её структурных изменений, которые отражают уровень произошедших в ней постгипоксических повреждений.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Рождественская О.В. Поиск предикторов и маркеров гипоксии – стратегическая задача современного акушерства / Рождественская О.В., Кокая А.А., Ведунова М.В. [и др.] // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. - 2018. - №2 – С. 12-13.

2. Рождественская О.В. Роль нейротрофических факторов BDNF и GDNF в регуляции гомеостаза у плода при воздействии стресс-факторов / Рождественская О.В., Кокая А.А., Мамедова М.А. [и др.] // Сборник материалов XII межрегиональной научно-практической конференции «Амбулаторная акушерско-гинекологическая помощь от рождения до старости. Репродуктивный потенциал»: тез. докл. – Санкт-Петербург, 2018. – С. 46-48.

3. Рождественская О.В. Нейротрофины и их роль в реализации компенсаторно– приспособительных возможностей у плода / Рождественская О.В., Кокая А.А., Ведунова М. В. [и др.] // Материалы конгресса «XIII МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС ПО РЕПРОДУКТИВНОЙ МЕДИЦИНЕ: тез. докл. - Москва, 2019 – С. 288-290.

4. Рождественская О.В. Нейротрофины – молекулярный уровень в реализации компенсаторно-приспособительных механизмов плода / Рождественская О.В., Кокая А.А., Ведунова М.В. [и др.] // Перинатальная медицина: от предгравидарной подготовки к здоровому материнству и детству: тез. докл. – Санкт-Петербург, 2020. – С. 48-49.

5. Роль мозгового и глиального нейротрофических факторов при хронической внутриутробной кислородной депривации плода / Н. А. Щелчкова, А. А. Кокая, В. Ф. Беженарь [и др.] // Современные Технологии В Медицине. – 2020. – Т. 12. – № 1. – С. 25-33.

6. Значение показателей молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF в пуповинной крови плода. клиническое исследование / О. В. Рождественская, А. А. Кокая, В. Ф. Беженарь, Н. А. Щелчкова // Уральский медицинский журнал. – 2021. – Т. 20. – № 3. – С. 14-20.

7. Рождественская О. В. Биохимические факторы гипоксии и их роль в оценке функционального состояния плода / О. В. Рождественская, А. А. Кокая, В. Ф. Беженарь // Журнал акушерства и женских болезней. – 2021. – Т. 70. – № 6. – С. 117-126.

8. Особенности эмбрионов и постнатальное развитие потомства у самок мышей при моделировании хронической гипобарической гипоксии / А. А. Кокая, Н. А. Щелчкова, О. В. Рождественская, В. Ф. Беженарь // Естественные и технические науки. – 2021. – Т. 11. – С. 7-21.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ARNT/HIF- 1 β – Hypoxia-inducible aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (гипоксия-индуцированный фактор, субъединица β)

BDNF – Brain-derived neurotrophic factor - мозговой нейротрофический фактор

GDNF – Glial cell line-derived neurotrophic factor - глиальный нейротрофический фактор

NSE – Neuron-specific enolase - нейронспецифическая енолаза