

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский
университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения
Российской Федерации

На правах рукописи

РОЖДЕСТВЕНСКАЯ

Ольга Викторовна

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

3.1.4. – акушерство и гинекология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Беженарь Виталий Федорович
доктор медицинских наук, профессор

Санкт-Петербург – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ГИПОКСИЯ ПЛОДА – СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	21
1.1. Современные аспекты этиологии и патогенеза гипоксии плода.....	21
1.1.2. Особенности течения беременности, родов и состояние фетоплацентарной системы у беременных и рожениц с признаками дистресса плода.....	26
1.2. Методы диагностики функционального состояния плода во время беременности и в родах.....	27
1.3. Экспериментальные исследования в акушерстве.....	50
1.4. Патофизиологические механизмы биологического действия нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза нейронов плода.....	54
1.5. Нейротрофины в регуляции гомеостаза нейронов плода и их роль в диагностике функционального состояния плода.....	57
ГЛАВА 2. ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП И РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	59
2.1. Характеристика групп в экспериментальной части исследования.....	59
2.2. Значения нейротрофических факторов BDNF и GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей с хронической гипобарической гипоксией.....	61
2.3. Оценка влияния хронической гипоксии на уровень BDNF, GDNF и определение роли нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза на фоне гипоксии	62
ГЛАВА 3 ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП В КЛИНИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ	66
ГЛАВА 4. ЗНАЧЕНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (BDNF, GDNF) У НОВОРОЖДЕННЫХ.....	76
4.1. Значения и взаимосвязи маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорожденных.....	76

4.1.1. Значения маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF- 1 β) в сыворотке пуповинной крови новорожденных.....	78
4.1.2. Значения нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорожденных	88
4.1.3. Взаимосвязи маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF- 1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорожденных.....	95
4.2. Взаимосвязи маркеров гипоксии плода и нейротрофических факторов в сыворотке пуповинной крови новорождённых с методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов.....	101
4.2.1 Взаимосвязи маркеров гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов.....	102
4.2.2. Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых с методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов.....	107
4.3. Роль нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в регуляции компенсаторно - приспособительных механизмов у плода.....	112
ГЛАВА 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	138
ВЫВОДЫ.....	139
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	141
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	143

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Дистресс плода, возникающий как антенатально, так и интранатально является широко распространённой медицинской и социальной проблемой [36]. 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% [71] до 4,4% [84].

Большинство осложнений беременности и родов патогенетически связаны между собой общим 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 [21]. 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 [58, 70].

Существует значительное количество стресс-факторов, которые могут оказывать влияние на функциональное состояние и исход родов для плода. Подчеркнем, что прежде всего естественным, базовым, стресс-фактором для плода является акт родов. Вследствие сдавления предлежащей 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., 2011года.

Отмечено, что оценка функционального состояния плода во время беременности и в родах остается непростой задачей современной диагностики,

определяющей постнатальное развитие детей [21]. 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 [21].

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 работ, представленных экспериментальными (модели острой/хронической гипобарической гипоксии, глобальной ишемии) [99, 116, 195] и клиническими (обсуждение роли фосфокреатин-креатинкиназы, белка bcl-2, глутатионпероксидазы, матриксной металл-протеиназы-9 и др.) [23, 43, 47, 48, 54] исследованиями. Несмотря на многолетние исследования этой проблемы, поиск новых путей реализации компенсаторно-приспособительных механизмов продолжается. Нейроны переднего отдела головного мозга являются наиболее чувствительными клетками организма к различным повреждающим воздействиям, в частности гипоксии/ишемии [80]. В этой связи интересны экспериментальные данные нейробиологов (*in vitro* и *in vivo*) [4], 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 [12]. Они играют решающую роль в нейропротекции, препятствуют развитию апоптотических реакций во многих нейрональных популяциях, оказывая влияние на пре- и постнатальное развитие головного мозга [41, 200]. К ним относят мозговой нейротрофический фактор — BDNF и глиальный нейротрофический фактор — GDNF. При повреждении ЦНС происходит

выделение нейротрофических факторов в периферический кровоток [57], 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.

Изучаемые явления

Влияние хронической гипобарической гипоксии на изменение уровня нейротрофических факторов в сыворотке крови беременных самок мышей.

Изучение уровня нейротрофических факторов в сыворотке пуповинной крови новорождённых после родоразрешения и определение их роли в регуляции гомеостаза плода при наличии и реализации стресс-факторов.

Объекты исследования

1. Сыворотка крови беременных самок мышей
2. Сыворотка пуповинной крови новорождённых
3. Роженицы
4. Новорожденные
5. Медицинская документация

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.

Методология и материалы исследования

Для решения поставленных задач за период с 2017 по 2021 гг. были выполнены экспериментальное исследование и ретроспективное наблюдательное клиническое исследование по типу «случай-

контроль». Экспериментальное исследование было выполнено на базе ФГБОУ ВО ЦНИЛ «ПИМУ» Минздрава России (Нижний Новгород).

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. Средний возраст обследованных женщин составил $29,22 \pm 4,23$ лет.

Критерии включения в исследование

1. Возраст рожениц старше 18 лет
2. Родоразрешение при доношенном сроке одноплодной беременности
3. Родоразрешение через естественные родовые пути

Критерии не включения

1. Отсутствие согласия на прохождение исследования

Критерии исключения

1. Ненадлежащее качество собранного материала (гемолиз проб)

Раскрытие темы исследования и реализация поставленных задач потребовали планирования следующих этапов исследования (Рисунок 1).

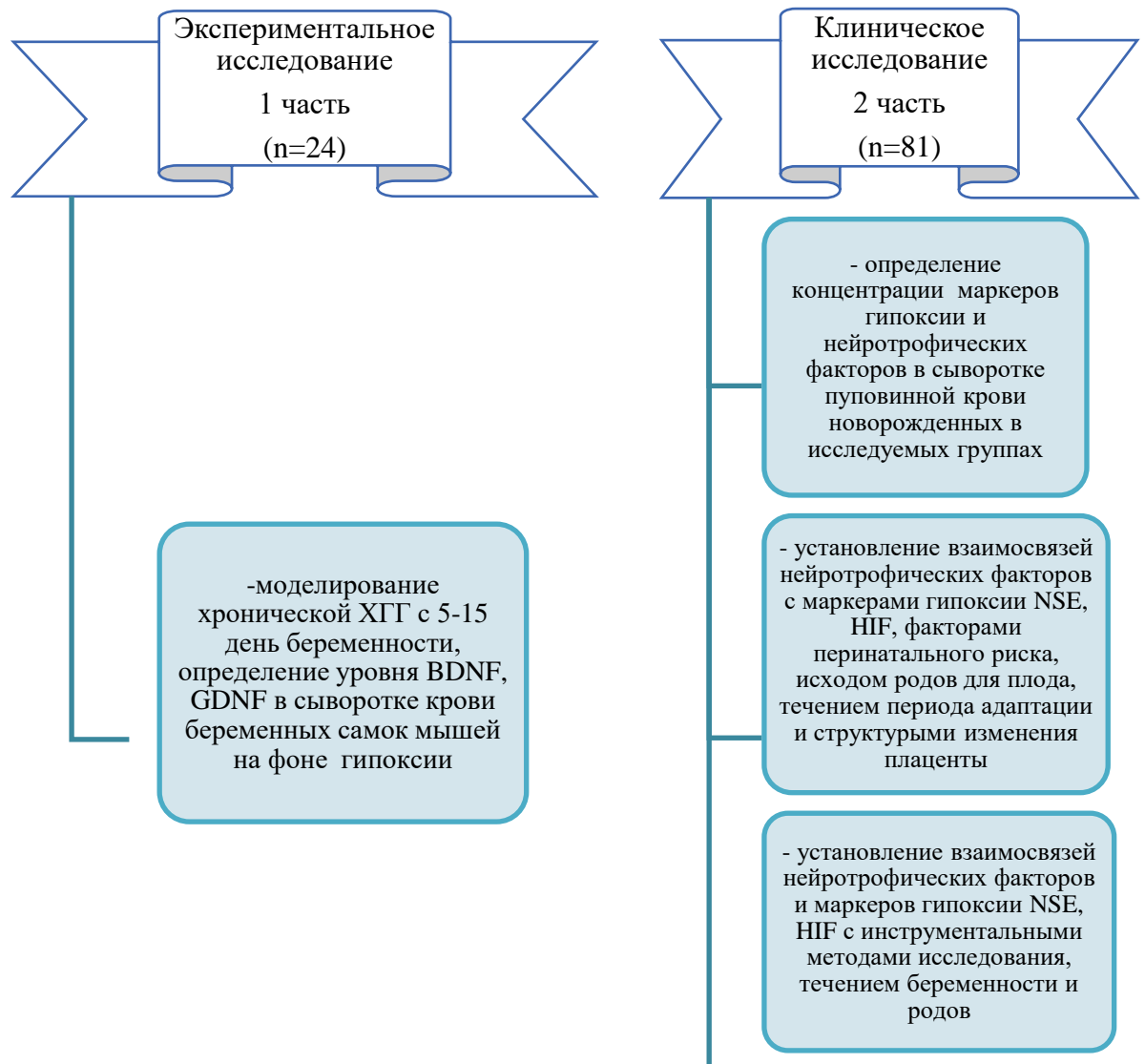


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Экспериментальное исследование.

1-й этап экспериментального исследования.

Задачей данного этапа являлось определить уровень BDNF и GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей. Для решения поставленной задачи моделировали ХГГ 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 ХГТ (n=12). На 19-й день гестации проводили забор крови для определения концентрации нейротрофических факторов BDNF и GDNF.

После декапитации кровь самотёком 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 - 200мкл при необходимости замораживали и хранили при температуре – (-70 °C) до определения уровня BDNF, GDNF. Непосредственно перед определением уровня нейротрофических факторов методом ИФА сыворотка крови однократно размораживалась.

2-й этап экспериментального исследования.

Задачи данного этапа – анализ полученных данных и определение роли нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза нейронов на фоне гипоксии.

Клиническое исследование.

Основной задачей клинического этапа исследования являлось изучение изменения концентрации нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых в зависимости от реализации стресс факторов.

Для решения поставленной задачи 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 объеме 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. При этом, деление пациенток на группы было выполнено в зависимости от степени тяжести гипоксии у плода при рождении (Таблица 1).

Благодаря полученным нами данным мы показали, 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 ($p < 0,05$).

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 ($p < 0,05$), критерий χ^2 -Пирсона

После получения результатов диагностических тестов сравнивали концентрацию факторов гипоксии и нейротрофических факторов среди исследуемых групп. На основании полученных данных изучали взаимосвязи нейротрофических факторов, маркеров гипоксии NSE, ARNT/HIF-1 β с факторами перинатального риска, результатами УЗИ-скринингов, доплерометрии и кардиотокографии, течением беременности и родов, данными гистологического исследования последов.

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 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 (Таблица 2).

Таблица 2 - Классификация FIGO для анта и интранатальной оценки сердечной деятельности плода

Классификация данных КТГ	Базальная ЧСС	Вариабельность/Акцелерации	Децелерации
Нормальные	110-160 уд/мин	5-25 уд/мин >2 акцелераций/1 час	Отсутствие повторяющихся децелераций
Сомнительная	Изменение 1 из показателей, но без наличия патологических маркеров		
Патологическая	Менее 100 уд/мин	Низкая вариабельность, синусоидальный ритм	Повторяющиеся поздние или пролонгированные децелерации в течении 30 мин, длительность децелерации более 5 мин

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. При ультразвуковом исследовании выполнялась фетометрия и доплерометрия с оценкой полученных данных (по справочным таблицам и номограммам The international fetal and newborn grows consortium for the 21st century) [51, 160]. Оценивалось состояние плаценты, ее расположение, наличие соответствия степени зрелости плаценты гестационному сроку, количество околоплодных вод.

Средняя мозговая артерия, артерия пуповины и маточные артерии являются основными сосудами кровоснабжения фетального комплекса во время беременности и родов, а изменение параметров кровотока в этих сосудах несет наиболее значимый прогноз в диагностике дистресса плода.

При выполнении доплерометрии оценивались показатели индекса резистентности (ИР), пульсового индекса (ПИ), систолодиастолического соотношения (СДО). Индекс резистентности (RI) является отношением разности пиковой линейной и диастолической скорости к пиковой линейной скорости кровотока, измеряется в условных единицах, у.е., и описывается по формуле Pourselot: $RI = (PV - VD)/PV$; пульсационный индекс (ПИ) по Gosling: $ПИ = (VS - VD)/VM$; систоло-диастолический коэффициент (отношение) (СДК, СДО) по Stuart: $СДО = VS/VD$, где PV – пиковая линейная скорость кровотока; VD – конечная диастолическая скорость кровотока; VS – систолическая скорость кровотока (максимальная скорость); VM - среднее значение скорости кровотока за сердечный цикл. СДО и ИР использовались

для оценки состояния резистентности периферической части сосудистого русла для артерии пуповины, средней мозговой и в маточных артериях.

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 3.

Таблица 3 - 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 последа

Гистологическое исследование последа проводилось в патологоанатомическом отделении ФГБОУ ВО ПСПБГМУ им. ак. И. П. Павлова Минздрава России. Исследуемые последа взвешивались, оценивались их размеры – длина, ширина, толщина. Оценивалось место прикрепления пуповины, структура оболочек и котиледонов.

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 (pH 7.2), обезвоживали с помощью автоматической станции подводки материала.

Гистологическое исследование плаценты проводили методом полутонких срезов. Полутонкие срезы изготавливали на материале, залитом в парафин. Срезы изготавливали на микротоме (Leica, Нидерланды), окрашивали гематоксилин-эозином, анализировали в микроскопе Nikon Eclipse E400 (Япония) и фотографировали с помощью фотокамеры Nikon-DXM 1200 (Япония). При изучении гистоструктуры плаценты оценивались следующие показатели: зрелость плаценты, степень выраженности инволюционно-дистрофических изменений, компенсаторно-приспособительных реакций, наличие и степень выраженности циркуляторных нарушений, воспалительных изменений в ткани плаценты и внеплацентарных оболочках [5, 30, 66]. 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 4).

Таблица 4 - 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 плацентарной недостаточности

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 хи-квадрат 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.

Математическая модель, отражающая значение нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в регуляции компенсаторно - приспособительных механизмов у плода представлена с помощью метода пересекающихся множеств и построена кандидатом медицинских наук, врачом акушером-гинекологом СПб ГБУЗ «Родильный дом № 16» Кокая А.А.

Основные положения, выносимые на защиту диссертации

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 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.

Апробация диссертации

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 кафедральном совещании 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.

Личный вклад автора в исследование

Личный вклад автора состоит в отборе участников в клинические 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 страницах, 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.

ГЛАВА 1

ОТ ИСТОРИИ К СОВРЕМЕННОСТИ: МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЛОДА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Современные аспекты этиологии и патогенеза гипоксии плода

В акушерской и неонатологической практике под терминами «гипоксия плода» и «асфиксия новорожденного» понимают патологические состояния, проявляющиеся расстройствами деятельности жизненно важных систем (центральной нервной системой (ЦНС), системами кровообращения и дыхания), развивающиеся вследствие кислородной недостаточности и метаболического ацидоза [63]. В международном консенсусе по реанимации новорожденных (МКРН) отмечено: «не менее чем у 10% детей сразу после рождения требуется активная медицинская помощь для того, чтобы они активно закричали, регулярно задышали, приобрели хороший цвет кожных покровов и мышечный тонус, частоту сердцебиений большую, чем 100 в 1 минуту» [159].

Существует 3 основных группы этиологических факторов нарушения функционального состояния плода: материнские, плодовые и плацентарные [33]. Можно выделить несколько ведущих механизмов, приводящих к гипоксии плода:

1. Недостаточная перфузия крови материнской части плаценты (любой этиологии: артериальная гипотензия или гипертензия у матери, в том числе и лекарственная, аномалии сократительной деятельности матки и др.).

2. Гипоксемия и гипоксия матери (тяжелая анемия любой этиологии, шок, сердечно-сосудистая и (или) дыхательная недостаточность, интоксикации и др.).

3. Патология плаценты (кровоизлияния в плаценту, преждевременная полная или неполная отслойка плаценты, предлежание плаценты и др.).

4. Прерывание кровотока через пуповину (истинные узлы пуповины, сдавление пуповины, например, головкой плода в условиях рождения через естественные родовые пути при ягодичном предлежании, тугое обвитие пуповиной вокруг шеи или других частей тела ребенка, выпадение петель пуповины).

5. Недостаточность дыхательных усилий новорожденного при лекарственном угнетении центральной нервной системы в следствии терапии матери, врожденных пороках развития мозга, сердечно-сосудистой и дыхательной систем, недоношенности и незрелости, антенатальной пневмонии.

Акушерство конца XX-XXI века неразрывно связано с глобальными изменениями в тактике и подходе к ведению родов. К особенностям современного подхода можно отнести возрастание роли программированных родов, широкое использование региональных методов анальгезии, утеротонических и других лекарственных средств. Кроме того, увеличилась доля пациентов группы «перво/повторнородящая старшего возраста», а вместе с тем и доля беременных и рожениц с серьезными экстрагенитальными заболеваниями и (или) осложненным течением беременности, родового акта [49, 59]. Как аксиому следует принять то, что любые действия, например, активное ведение родов (индукция родов или их стимуляция, ранняя амниотомия, введение различных лекарственных средств) оказывают влияние как на состояние матери, так и плода, а также характер родовой деятельности, таким образом, можно выделить еще группу ятрогенных факторов риска развития гипоксии плода.

В 1970 году W. A. Liston, A. J. Campbell в своем ретроспективном исследовании показали, что среди рожениц, получавших инфузию окситоцина, увеличивалась частота встречаемости дистресс-синдрома плода, у новорожденных отмечался низкий показатель по шкале Апгар через пять минут после рождения, и чаще возникала необходимость в специальном сестринском уходе [176]. Эти данные подтверждает работа D. Mota-Rojas и

соавт. Исследователи в 2006 году выполнили экспериментальную работу по влиянию окситоцина на внутриутробное состояние плода. Ученые сделали заключения о том, что среди родившихся животных в группе, где был применен окситоцин, было существенно больше новорожденных с ацидозом тяжелой степени, а также частота встречаемости нарушений сердечной деятельности, выражающаяся в брадикардии и децелерациях по типу Dip2 [115].

В исследовании К. R. Simpson 2008 года было показано, что увеличение частоты схваток приводит к увеличению уровня десатурации у плода: учащение маточных сокращений до 6 и более в течение 10 мин снижало сатурацию плода на 29% [215].

В 2019 г L. Selin и соавторы провели многоцентровое параллельное двойное слепое рандомизированное контролируемое исследование, в котором показали отсутствие преимуществ для рутинного использования высоких доз окситоцина с целями стимуляции родовой деятельности или лечения слабости родовой деятельности, так как с увеличением дозы препарата увеличивается риск дистресса плода [148]. Частота операции кесарева сечения в зависимости от использования высоких или низких доз окситоцина была сопоставима по данным исследователей. Отмечено, что при использовании более высоких доз окситоцина чаще наблюдались явления тахисистолии плода [148].

Эпидуральная анальгезия (ЭА) - наиболее эффективный и наиболее часто используемый метод обезболивания во время родов. Некоторые исследователи наблюдали связь между ЭА и повышенной неонатальной заболеваемостью [126–128, 169]. Но в других исследованиях показано, что вводимые лекарства остаются в эпидуральном пространстве матери и не влияют на респираторный статус новорожденных [241]. Также, нельзя не отметить, что интенсивная боль во время родов может приводить к дискоординированным сокращениям матки, увеличению продолжительности родов, увеличивая травматизм новорожденных. Нельзя недооценить и влияние боли на психологический статус матерей: отсутствие адекватного

обезболивание может приводить к посттравматическому стрессовому расстройству или послеродовой депрессии матери, влияющей на нейрокогнитивное развитие детей. Таким образом, общее влияние ЭДА на неонатальные и детские исходы заслуживает дальнейшего изучения, однако складывается представление, что использование традиционных методов обезболивания имеет больше преимуществ, чем отрицательного действия на состояние матери и/или плода [177].

Развитие плода человека во время беременности, а также его рождение—кислородозависимые процессы. Недостаток кислорода у плода влияет на его рост, развитие и органогенез [21].

При кислородной депривации запускается молекулярный каскад реакций, приводящий к выбросу гормонов стресса в кровоток матери и ведущий к структурно-функциональным изменениям в материнской и фетальной частях плаценты.

Кратковременная умеренная внутриутробная гипоксия вызывает включение механизмов компенсации, направленных на поддержание адекватной оксигенации тканей плода. Это обеспечивается несколькими механизмами адаптации плода к нарастающей гипоксии: 1) физиологический — повышение симпатической активности (активация синтеза норадреналина и адреналина параганглиями и мозговым слоем надпочечников плода); 2) метаболический — активация анаэробного гликолиза; 3) фармакологический — повышение синтеза тормозного медиатора в головном мозге — гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), а также эндогенных опиатов, аденозина [81]. Нарастающий дефицит кислорода ведет к централизации кровообращения [78]. Отражением этого компенсаторного механизма является так называемый brain-sparing-феномен, который направлен на обеспечение адекватного функционирования ЦНС, при этом основной поток артериальной крови направляется к головному мозгу плода [26].

При дальнейшем воздействии стресс-фактора, сила альтерации превышает компенсаторные механизмы плода, усугубляется централизация кровообращения. Одновременно с централизацией кровообращения у плода увеличивается общее периферическое сосудистое сопротивление и нарастает тканевая гипоксия, активируется анаэробный гликолиз, происходит накопление кислых продуктов обмена вследствие чего у плода развивается ацидоз (стадия субкомпенсации) [25].

В условиях прогрессирующей гипоксии наблюдается отхождение мекония в околоплодные воды. Длительная гипоксия влечет за собой срыв механизмов компенсации, что проявляется прежде всего истощением симпатoadреналовой системы, уменьшается общее периферическое сопротивление сосудов, развивается гиповолемия, артериальная гипотензия, брадикардия, снижается сердечный выброс [81]. Из-за брадикардии, которая возникает также как механизм попытки адаптации, увеличивается продолжительность диастолы, улучшается кровенаполнение левого желудочка и поддержание ЧСС, временно позволяя сохранить систолическое артериальное давление. Нарушается синтез простагландинов, что приводит к изменению тонуса сосудистой стенки, агрегации тромбоцитов [2]. В результате нарушается ток крови в микроциркуляторном русле, происходит стаз крови и нарушается газообмен. Развивается синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания. Это приводит к отеку тканей и кровоизлияниям в жизненно важные органы [35]. Возникающая гипоперфузия мозга приводит к глубоким нарушениям метаболизма нервной ткани [27]. В органах, наиболее важных для жизнеобеспечения плода развивается ишемия и некроз, что приводит к гибели плода [2]. Клиническая картина стадии декомпенсации выражается в прекращении двигательной активности плода, брадикардии, приглушенности сердечных тонов, затем десинхронизации сердечного ритма и асистолией [25].

Необходимо отметить, что плод более устойчив к гипоксии, нежели взрослый человек. Для этого существует несколько механизмов: увеличенное

средство фетального гемоглобина и кислорода, повышенная способность тканей поглощать поступающий с током крови кислород, а также не маловажна высокая устойчивость тканей к ацидозу [2].

1.1.2. Особенности течения беременности, родов и состояние фетоплацентарной системы у беременных и рожениц с признаками дистресса плода

При выявлении отклонений в функциональном состоянии плода при беременности или интранатально требуется повышенный контроль за его состоянием. Это, с одной стороны, увеличивает шансы на благоприятный исход у плода, с другой повышает риски оперативного лечения (как абдоминального, так и вагинального). Также особенностью при данной патологии является увеличение числа досрочных родоразрешений при сроке беременности менее 37 недель (исходя из интересов плода). Таким образом, при выявлении дистресса плода, отсутствии условий для быстрого и бережного родоразрешения через естественные родовые пути использование утеротонических средств исключается, увеличивая частоту кесаревых сечений, в том числе и в структуре первородящих женщин. При состояниях, не требующих срочного или экстренного родоразрешения широко распространено использование средств, не обладающих доказанной эффективностью [131, 150].

В исследовании Mondal T. R. et al. показано, что при нарушении функционального состояния плода в гистологических исследованиях последов выявлялась плацентарная васкулопатия, которая была статистически значимо связана с низкими оценками по шкале Апгар при рождении плода [149]. В 2018 г Mirza F. G. et al. показали, что связи между УЗ-находками множественных кальцификатов и неблагоприятным исходами для плода не выявлено [227].

Кроме этого, получая информацию о неблагоприятных условиях развития плода в полости матки, беременная испытывает психоэмоциональный стресс,

что приводит к нарушению доминанты беременности и родов. Происходит активация центральных механизмов регуляции артериального давления, симпатoadреналовой системы, вазоконстрикция, нарушение микроциркуляции, оказывая негативное влияние на течение беременности и состояние плода, замыкая порочный круг [44].

1.2. Методы диагностики функционального состояния плода во время беременности и в родах

В 1818 году Francois Mayor, швейцарский хирург предложил метод выслушивания сердцебиения плода ухом в утробе матери: «прикладывая ухо к животу беременной незадолго до родов, с уверенностью можно узнать, жив плод или нет. Если плод жив, то можно слышать совершенно отчетливо удары его сердца, которые легко отличаются от материнского пульса». Через 3 года французский врач Lijumeau Kergaradec впервые применил для выслушивания сердечной деятельности плода стетоскоп, изобретенный основоположником диагностического метода аускультации Рене Лаэннеком и сделал доклад о выслушивании сердцебиения плодов у 8 беременных и клинической значимости этого метода на заседании Медицинской академии в Париже [24].

Этот метод стал широко использоваться акушерами-гинекологами в практике: в течение родов контролировали состояние плода при помощи специального акушерского стетоскопа, кроме того, его использовали как один из достоверных признаков беременности.

В 1848 г врач Герман-Фридрих Киллиан впервые предположил, что ухудшение состояния плода отражается на ЧСС, предположив, что изменение сердечного ритма плода обусловлено внутриутробной гипоксией. Он первым сформулировал показания к наложению акушерских щипцов по данным аускультации плода с помощью акушерского стетоскопа [34].

В конце XIX в., в 1893 г., F.Von Winckel предложил критерии внутриутробного дистресса плода: ЧСС более 160 и менее 100 уд. /мин, выделение мекония и резкая гиподинамия плода [34].

С помощью акушерского стетоскопа врач может оценить частоту, ритмичность и звучность тонов сердца. Это простой, доступный метод изучения функционального состояния плода, однако на качество аускультации оказывают влияние достаточно большое количество факторов: срок гестации, расположение плаценты, количество околоплодных вод, толщина подкожного жирового слоя пациентки, субъективность восприятия звуковых сигналов врачом. Это нашло подтверждение в мультицентровом исследовании, выполненном под руководством R.Venson в 1968 г. Был сделан вывод о том, что аускультация сердцебиения у плода не является эффективным методом обнаружения дистресса, с ее помощью лишь можно уточнить «... жив плод или мертв» [34].

Стремление к объективной оценке функционального состояния плода привело к поиску и внедрению новых методов диагностики в клинической практике.

Первым методом, позволившим зарегистрировать сердечную деятельность плода стала фонокардиография (ФКГ). Первая графическая запись звуковых волн, обусловленных сердечными сокращениями, осуществлена в 1892 г. К. W. Hurtle. В России в середине 1950-х годов в НИИ акушерства и гинекологии АМН СССР (г. Ленинград) под руководством профессора Н. Л. Гармашевой впервые в мире был сконструирован фонокардиограф, позволяющий одновременно регистрировать как сердечный ритм плода, так и сократительную активность матки. Исследования, проведенные в 1960-е годы под руководством Л. С. Персианинова, показали, что метод фоно- и электрокардиографии может с успехом применяться для выявления нарушений ритма сердца плода, установления его предлежания, многоплодной беременности, а также диагностики острой гипоксии во время родов. Данный метод не нашел своего применения в клинической практике для диагностики острой гипоксии плода, поскольку с его помощью невозможно осуществлять регистрацию ЭКГ на протяжении всего родового

акта [9]. Затем, результаты исследований легли в основу современных методов диагностики функционального состояния плода.

В середине XX века Е. Chon et al. вели работу по сбору кардиограмм, ассоциированных с нормальным и нарушенным состоянием плода. Е. Chon и его группа были первыми учеными, описавшими на ЭКГ типы децелераций и предположили, что гипоксия является основным патогенетическим механизмом поздних децелераций (так называемых децелераций по типу DIP 2) [34].

1.2.1. Кардиотокография

С течением времени в клиническую практику были внедрены аппараты, основанные не на регистрации ЭКГ, а на использовании эффекта Допплера. В современном акушерстве КТГ является основным методом оценки состояния кардио-респираторной системы плода, основанном на ультразвуковом феномене [46].

По мере накопления знаний о физиологии и патофизиологии плода и регистрации различных паттернов кардиотокограмм встал вопрос об интерпретации полученных данных. Постепенно, благодаря классическим работам R.Caldeyro-Barcia (1966), Е. Chon (1968), К.Hammacher (1967), Н.Krebs (1979), были разработаны основные параметры визуальной оценки сердечной деятельности плода в сочетании с оценкой маточных сокращений и двигательной активности плода как во время беременности, так и в родах [34]. Знание основных параметров кардиотокограммы и их характеристик позволяет провести визуальную оценку кардиотокографической кривой. Анализ результатов исследования состоит из двух частей:

1) оценка реактивности плода по данным нестрессового теста;

2) подробный анализ кардиотокографической кривой с применением оценочных шкал [82]. На современном этапе используется шкала, предложенная Перинатальным комитетом Международной ассоциации акушеров и гинекологов (FIGO) (2015). Помимо балльных шкал оценки

состояния плода по данным КТГ, предложенных зарубежными авторами, в нашей стране известны разработки отечественных специалистов: шкала Фишера в модификации Г.М.Савельевой, шкала Е.С.Готье, шкала И.О.Макарова [34]. При формировании заключения о состоянии плода необходимо учитывать не только подсчитанную сумму баллов, но и комплексную визуальную оценку кардиотокографической кривой [82]. Однако субъективизм при таком способе анализа мониторных кривых приводил к существенным расхождениям получаемых результатов. Исследователи приводят данные о расхождениях в заключении при интерпретации мониторных кривых КТГ, проведенных различными авторами от 37 до 75% [17]. Для еще более объективной оценки были предприняты первые попытки проведения автоматизированного расчета показателей. В 1970 г. G.Dawes и C.Redman была разработана программа автоматического анализа данных антенатальных КТГ в масштабе реального времени, которая впоследствии получила название Система 8000 [46].

В России первые попытки автоматической оценки КТГ были предприняты проф. В.Н.Демидовым, М.А.Пасынковым и А.Т.Буниным в конце XX века [46].

Метод, помимо положительных характеристик, имеет ряд недостатков. В 2006 году Gonçaves с соавт. показали, что различные настройки мощности прибора: 4 МГц и 2 МГц могут значительно видоизменять кривую [158]. При этом, наша школа подчеркивает, что еще одним существенным несовершенством такого подхода в клинической практике является механистический характер исследования и формальное участие врача в проведении и анализе кардиотокограмм. Решить эту проблему помогает сохранение принципов визуальной оценки кардиотокограмм. В отличие от компьютера, врач, получая данные компьютерной оценки, свидетельствующей о наличии сомнительной или патологической КТГ, может выполнить дополнительные диагностические тесты и вынести обоснованное решение [46].

Кроме того, в статье J. Hornbuckle с соавт. в 2000 году отмечено: постоянное использование КТГ в родах значительно ограничивает движения пациентки, доставляя ей дискомфорт [96].

В современном акушерстве не существует единого мнения относительно необходимости постоянного мониторинга плода в родах. Данный тип исследования применяется у пациенток из группы высокого риска осложненного течения родов: при наличии синдрома задержки роста плода, преэклампсии, многоплодной беременности и др. Часть исследователей полагают, что клиническая польза КТГ ограничена [119, 162]. В частности, обращается внимание на высокий уровень ложноположительных результатов. В одних исследованиях специалисты полагают, что непрерывная кардиотокография ведет к гипердиагностике нарушений функционального состояния плода, и, вследствие этого, увеличивается частота оперативного родоразрешения [86]. В тоже время опубликованные данные показывают, что перманентное КТГ-мониторирование снижает риск тяжелых неврологических осложнений у новорожденных [89].

Таким образом, до сих пор вопрос о целесообразности перманентного КТГ-мониторирования остается окончательно нерешенным. Несмотря на это, ясно, что КТГ имеет неоспоримые преимущества перед аускультацией в диагностике внутриутробной гипоксии и степени ее тяжести.

1.2.2. Прямая электрокардиография плода

После изобретения струнного гальванометра В. Эйнтховеном и записи ЭКГ человека была произведена запись электрической активности сердца плода человека [19]. Учитывая свойства сыровидной смазки плода экранировать и изолировать электрические сигналы, качество записи ЭКГ плода первое время оставалось низким. Но с развитием математических способов обработки сигнала стало возможным выполнять ЭКГ с высоким разрешением [19]. Метод прямой ЭКГ плода инвазивный, предполагает использование скальп-электрода, который был разработан в 1960-х гг.

Внедрение метода привело к проведению исследований, изучающих взаимосвязь исхода родов с изменением показателей на ЭКГ [102, 112]. Например, в 1992 году было опубликовано исследование К. Murphy в котором отмечены тенденции к статистически значимой зависимости между изменениями комплекса T\QRS и оценкой по шкале Апгар, а также рН пуповинной крови. Авторами сделан вывод о том, что необходимы дальнейшие исследования, прежде чем можно будет принять решение о том, следует ли внедрять этот метод мониторинга плода в клиническую практику [112]. В дальнейшем в мире продолжили усовершенствование аппаратов и методики прямой ЭКГ. Изобретен прибор, позволяющий не только регистрировать кардиологическую кривую, но и осуществляющий автоматический анализ ST-сегмента и соотношение T/QRS [21]. Метод является инвазивным: спиральный электрод, с помощью которого получают данные для анализа, устанавливается подкожно на подлежащую часть. Графическое изображение отражает все изменения в сегменте ST (подъем сегмента ST и T-волны интерпретируются как маркеры дистресса) [21].

При начинающемся дефиците кислорода происходит выброс катехоламинов в кровь плода, вследствие этого происходит подъем сегмента ST и волны T, а также увеличение соотношения T/QRS, отображаемом на приборе, как ST-событие [21].

Периодически на электрокардиограммах отмечается двухфазный сегмент ST. А. В. Михайлов и соавт. в 2001 году отмечали, что двухфазный сегмент ST наблюдается при ишемии кардиомиоцитов в отсутствии компенсаторных реакций или при снижении адаптационных возможностей плода [38]. Также причиной двухфазного сегмента ST могут быть пороки сердца плода или наличие внутриутробной инфекции. При анализе ST-сегмента отмечают, что он может быть расположен выше изолинии (1-й тип), пересекать ее (2-й тип) или находится ниже изолинии (3-й тип). При увеличении степени гипоксии и снижении функции миокарда наблюдается сдвиг от 1 типа ко 2 и 3 типам [21].

В настоящее время разработана новая система STAN S31, которая является высокоинформативной в оценке состояния плода в родах [194].

В исследованиях Ragupathy et al. 2010, Doria et al. 2007 показано снижение частоты неонатального метаболического ацидоза при проведении STAN мониторинга плода, в сочетании с непрерывным КТГ-контролем [206, 208]. В статье также отмечено, что при использовании технологии ЭКГ-анализа сегмента ST для внутриутробного мониторинга плода, КТГ все еще следует рассматривать как основной инструмент наблюдения [206].

Квее А. и соавторы в 2010 г отмечали, что перманентное наблюдение за функциональным состоянием плода не было достаточно полезным и лишь увеличивало частоту оперативного родоразрешения, но не снижало перинатальную заболеваемость или смертность. Авторы указывают, что лучшее обучение методике, интерпретации полученных данных и контроль за выполнением исследования могут помочь улучшить результат [217].

Необходимо учитывать, что центральная нервная система плода реагирует на состояние гипоксии раньше, нежели миокард, поэтому КТГ может являться более чувствительным методом диагностики гипоксии, т.к. при этом способе диагностики изменения возникнут раньше по сравнению с ЭКГ [77].

И все же, возможности диагностики существенно расширились с появлением этой технологии. Об этом свидетельствуют полученные результаты, согласно которым при сочетании КТГ с ЭКГ плода специфичность диагностики декомпенсированной хронической гипоксии плода возросла с 56% (только КТГ) до 81% (КТГ плюс ЭКГ) [16].

Таким образом, сочетание совместного анализа различных вариантов ST-событий (STAN) и типов КТГ, а также оценка КОС плода обеспечивают высокую специфичность диагностики и прогнозирования дистресса плода, выбор оптимальной тактики ведения и тактики родоразрешения.

1.2.3. Допплерометрическое исследование кровотока в сосудах системы мать-плацента-плод

Гемодинамические процессы в системе мать-плацента-плод являются одним из ведущих факторов, обеспечивающих нормальное течение беременности, рост и развитие плода. Допплерометрия является базовым методом антенатальной верификации дисфункции плаценты в настоящее время [22].

Длительное время дуплексное сканирование сосудов при беременности выполнялось лишь в III триместре беременности, во время проведения III ультразвукового скрининга. Дальнейшие исследования показали, что в большинстве случаев формирование гемодинамических расстройств в плаценте наблюдается в ранние сроки беременности. Были установлены сроки беременности, значимые для прогноза плацентарной недостаточности и других акушерских осложнений [22].

Использование этого метода в родах пока остается неоднозначным. Во время родов при схватках происходит временное снижение поступления оксигенированной крови к плоду из-за ухудшения маточно-плацентарного кровотока, т.е. при каждом сокращении матки плод испытывает гипоксемию [60].

В конце XX века F. Y. Chan с соавт. оценил взаимосвязь кровотока в родах, была выявлена прямая корреляционная связь между снижением фетоплацентарного кровотока (ФПК) и наличием гипотрофии, однако связи с исходом родов не было выявлено [234].

D. Kassanos с соавт. в 2003 году показали, что при снижении сатурации плода происходило значительное снижение пульсационного индекса (ПИ) и индекса резистентности (ИР) в средней мозговой артерии, а также увеличение интеграла скорости потока FVI. Сделан вывод о том, что оценка формы волны средней мозговой артерии плода во время родов может быть полезна при оценке внутриутробной гипоксии [223]. В 2005 году С. Siristatidis с соавт. продемонстрировали аналогичные результаты в своей работе. Кроме этой

связи было доказано, что показатели доплерометрии коррелировали с перинатальным исходом [87].

В 2011 году Г.Т. Расулова показала, что повышенные показатели сосудистой резистентности в артерии пуповины приводят к повышению перфузионного давления и улучшению обменных процессов в плаценте. Это указывает на срабатывание компенсаторно-приспособительных реакций плода в родах [60].

Значительный шаг вперед в ультразвуковом сканировании сосудов был сделан после описания форм волны в венозном протоке. В настоящее время это признано ключевым исследованием для прогнозирования правожелудочковой недостаточности у плода, подвергшегося гипоксии, и важным предиктором неизбежной гибели плода [233].

В 2014 году J. Morales-Roselló с соавт. пришли к выводу, что перед родами у доношенных плодов отмечается физиологическое снижение кровотока в средней мозговой и позвоночных артериях, однако в артерии пуповины никаких изменений не наблюдалось [190].

В 2021 году Рухляда Н.Н. и соавт. показали, что в группе женщин, роды которых осложнились декомпенсированным состоянием плода, значения ПИ в СМА плода составили $\leq 0,835$, кроме того отражена зависимость оценки по шкале Апгар для новорожденного от величины ПИ [65].

Таким образом, исследование гемодинамических показателей в сосудах плода и пуповины, как антенатально, так и во время родов, является важным прогностическим показателем в оценке функционального состояния плода. В специализированной отечественной и зарубежной литературе работы, посвященные измерениям кровотока плода (артерия пуповины, средняя мозговая артерия, венозный проток, маточные артерии) противоречивы. Однако большое количество научных работ, посвященных этому вопросу, показывает интерес к проблеме, в связи с чем необходимо дальнейшее изучение возможностей использования данного метода.

1.2.4. Фетальная пульсоксиметрия

Одной из главных функций крови является ее газотранспортная функция, отражение которой мы видим в количестве гемоглобина в эритроцитах, переносящего кислород [137, 240]. Методы диагностики, позволяющие оценить количество гемоглобина, носят в медицине обобщенное название методов оксиметрии.

В родах при пульсоксиметрии используют специальный датчик при проведении влагалищного исследования. Сатурацию плода оценивают в течение 2-4 мин при условии открытия шейки матки не менее 3 см, как при целом плодном пузыре, так и при излитии околоплодных вод [35].

Атабиева Д. А. и др. в своей статье указывают, что пороговым значением сатурации, по данным фетальной пульсоксиметрии, которое может свидетельствовать об опасности для плода, является 30% сатурация у плода в родах в течение 3 мин и более [56]. Gorenberg D. M. et al. в 2003 г доказали корреляцию между сатурацией кислорода <30% и снижением значений рН в артериальной крови плода менее 7,13 [136]. Seelbach-Gobel В. и соавторами было доказано, что при снижении SpO₂ менее 30% наблюдается уменьшение рН при заборе крови из предлежащей части плода менее 7,2, однако сразу после родов рН из артерии был в пределах нормы. Авторы связали это обстоятельство с дефектом забора крови или дефектом измерения рН в малом количестве образца. Общая чувствительность фетальной пульсоксиметрии в диагностике гипоксии составила 40% [224]. В исследовании 2002 г Rijnders и соавт. сопоставляли результаты, полученные при фетальной пульсоксиметрии и КОС, взятыми при пробе Залинга или из крови пуповины, но не нашли корреляционных связей [165].

В настоящее время данный метод диагностики пока не включен в протоколы антенатального мониторинга как за рубежом, так и в РФ из-за низкой чувствительности, но методика продолжает изучаться.

1.2.5. Фетальная эхокардиография плода

Еще одним перспективным методом в палитре инструментальных исследований функционального состояния плода является определение индекса Тея при выполнении фетальной эхокардиографии (ЭхоКГ). Индекс Тея является суммой времен изоволюметрического сокращения и изоволюметрического расслабления, разделенной на время выброса желудочка [221]. При ультразвуковом исследовании у новорожденных детей с постгипоксической ишемией миокарда отмечается снижение показателей глобальной систолической функции (ударного объема, фракции изгнания и укорочения левого желудочка, минутного объема сердца, сердечного индекса) [172, 237]. В 2014 г В.В. Деревцов и соавторы изучали морфофункциональные параметры сердца, а также особенности внутрисердечной гемодинамики у новорожденных с задержкой развития плода. Исследователи пришли к выводам о том, что сердце имело несколько удлиненную форму в направлении от основания к верхушке, релаксационная способность миокарда была нарушена, часто сочеталась с изменением внутрисердечной гемодинамики [18]. Т. Miyake с соавт. в 2001 году отметили, что у плодов с СЗРП или с сахарным диабетом у матери чаще встречается диастолическая дисфункция, а также снижение индекса Тея [188]. Индекс Тея может быть легко получен у плода без необходимости точной анатомической визуализации и является полезным инструментом для изучения функции миокарда плода в различных клинических ситуациях [134].

1.2.6. Проба Гаускнехт

Научный интерес представляет предложенная проба, во время которой пациентку просили задержать дыхание и проводили УЗ-мониторинг двигательной активности плода в сагиттальной проекции. При этом определяли продолжительность времени от момента задержки дыхания беременной до регистрации дыхательной экскурсии грудной клетки плода. По данным авторов метод отражает устойчивость плодов к гипоксии и является

высокоинформативным способом прогнозирования перинатальных исходов. Значение пробы Гаускнехт менее 10 сек позволяет прогнозировать асфиксию и церебральную ишемию у новорожденных с чувствительностью 85,19% и специфичностью 88,24%. Прогностическая ценность значений пробы Гаускнехт, превышающих 15 сек, составляет 98,43% [53, 73].

1.2.7. Клинические признаки гипоксии плода

К клинической картине гипоксии плода, кроме зарегистрированного изменения сердечной деятельности плода, относится изменение цвета околоплодных вод, а также их концентрации [185]. Несомненно, околоплодные воды являются одним из наиболее наглядных и доступным объектом исследования функционального состояния плода. Установлено, что меконий выделяется чаще при насыщении кислородом пупочной вены плода ниже 30%. Кроме того, околоплодные воды, густо окрашенные меконием, ассоциировались с более низким насыщением кислородом, нежели околоплодные воды, слегка окрашенные меконием [238]. В большом количестве исследований было показано, что наличие мекония в околоплодных водах ассоциировалось с неблагоприятным исходом для плода, увеличением перинатальной заболеваемости [111, 184].

Krebs H.V. с соавт. отмечал, что наличие мекония следует рассматривать как предупреждающий признак дистресса плода, который требует тщательного внутриутробного наблюдения за пациентом [163]. В конце XX века Manning F. A. и соавт. сообщили, что меконий в околоплодных водах встречается в два раза чаще, если биофизический профиль плода составил ≤ 6 баллов по сравнению с оценкой BPP ≥ 8 баллов [132].

Различные авторы рекомендуют описывать амниотическую жидкость с меконием как жидкую (светло-зеленого цвета), умеренно вязкую (зеленого цвета), густую или консистенции "горохового супа" (от темно-зеленого до черного цвета). Примесь "старого" мекония обуславливает коричневый или желтый цвет околоплодных вод вне зависимости от их вязкости. Это деление

проводят визуально, а также используя метод спектрофотометрии и определения "мекониокрита" [72]. В статье Пестриковой Т. Ю. приведена классификация околоплодных вод по Г.М. Савельевой, Р.И. Шалиной, Л.И. Сичинава и др., 1998 г (Таблица 5).

Таблица 5 - Шкала оценки и густоты мекониальных околоплодных вод

По окраске околоплодных вод:			
Цвет	Зеленоватый	Зелёный	Желто-коричневый
Баллы	1	2	3
По густоте околоплодных вод:			
Густота	Жидкая	Умеренно густая	Густая
Мекониокрит	До 0,6 см	0,6 – 1.8 см	> 1.8 см
Степень	А	Б	В

В обзоре отмечено, что наиболее неблагоприятный прогноз в отношении развития синдрома аспирации мекония, асфиксии или же нарушения мозгового кровообращения гипоксического генеза у новорожденного при стратификации околоплодных вод в группах 2В и 3В. Авторы пришли к выводу о том, что наличие мекония в ОПВ во время родов должно расцениваться как проявление дистресса плода, поэтому в каждой клинической ситуации следует разрабатывать персональный план ведения родов, с учетом данных кардиотокографии плода [50].

1.2.8 Биохимические маркеры гипоксии

Гипоксия плода во время беременности и родов клинически может проявляться изменением паттернов КТГ или ЭКГ, а также мекониальным окрашиванием околоплодных вод. Однако, важны и биохимические изменения в крови плода, подтверждающие нарушения характерные для гипоксического повреждения: наличие ацидоза [212] либо повреждения органов мишеней.

Оценить изменения кислотно-основного состояния крови плода стало возможно благодаря профессору Залингу (1962 г). Для проведения анализа кислотно-основного состояния крови плода (КОС) производился забор относительно большого количества крови (30-50 мкл), затем проводили измерение рН и ВЕ, чувствительность метода составляла 98-99% [232]. Существует несколько позиций для интерпретации полученных результатов: норма ($\text{pH} > 7,25$), преацидоз ($\text{pH} 7,20 - 7,25$), ацидоз ($\text{pH} 7,20$ и менее). При выявлении преацидоза рекомендуется повторить забор крови через 20–30 минут для своевременного родоразрешения в случае развития ацидоза [232]. Goldaber К. G. и соавт. предложили использовать уровни $\text{pH} < 7,20$; $\text{BE} > 12$ в качестве порогового значения для принятия решения об оперативном родоразрешении [196]. М. В. Федорова и Е. А. Чернуха считают, что следует дополнительно выделить уровень рН равный 7,10 и ниже, классифицируя, как тяжелый ацидоз [75, 79].

Часть авторов считает, что забор крови из подлежащей части плода является эффективным методом, позволяющим избежать ненужных оперативных вмешательств, и должен рассматриваться как важная часть интранатального мониторинга за состоянием плода [105, 138, 167, 178].

В других работах отмечено, что проба не может отражать адекватную картину центральной гемодинамики, т.к. кожа подлежащей части головки плода кровоснабжается внемозжечковыми сосудами, которые подвергаются сдавлению во время схваток. Репрезентативность картины уменьшается, т.к. кровь от периферии направляется к центральным органам [67]. Так же стоит отметить, несмотря на высокую чувствительность, у данной методики отмечалось от 11 до 20% ошибочных результатов в связи с дефектом забора [232]. В 2008 г О. Dupuis и соавт. отметили, что ни один из методов для выявления метаболического ацидоза не обладает 100% чувствительностью, в том числе и проба Залинга неэффективна в период изгнания [123].

При всех достоинствах метод безусловно инвазивный, требует дополнительного оборудования и специальных навыков исследователя,

требует достаточно долгого времени на забор материала [212]. Одним их специфических осложнений процедуры является кровотечение из места забора крови, которое может быть коагулопатическим. Так, в 2010 году Н. Sabir представил клинический случай, в котором источником кровотечения оказались два разреза на коже предлежащей части, кровотечение из которых привело к развитию геморрагического шока и анемии у плода с дефицитом IX фактора свертывания крови [199]. Кроме вышеизложенного необходимо отметить, что метод не позволяет дифференцировать характер ацидоза: метаболический или респираторный, следовательно, определение этиологии гипоксии затруднено, как и дальнейшая тактика ведения новорожденного [118].

Необходимость поиска новых маркеров гипоксии привела к изучению роли лактата.

В условиях гипоксии метаболизм переключается на анаэробный путь, происходит повышение образования лактата и уменьшение скорости его распада или элиминации. Этот феномен впервые описал Huckabee в 1961 году [151]. Накопление лактата может уменьшить рН крови и снижает концентрацию бикарбоната, приводя к метаболическому ацидозу. В зависимости от концентрации лактата, возможно определение степени ишемии тканей. Существует прямая зависимость между концентрацией лактата в крови и тяжестью гипоксии. С момента описания в 1927 году J. Meakins и C. Long связи между повышением уровня лактата в крови и наличием признаков тканевой гипоксии уровень лактата оценивается как маркер тканевой гипоксии [183].

В 1999 году К. Крюгер с соавт. в исследовании отмечали, что при исследовании уровня лактата чувствительность и специфичность в целом были выше, чем в группе рН, особенно в отношении оценки по шкале Апгар <4 баллов через 5 минут и гипоксически-ишемической энцефалопатии. Авторы предложили точку «cut-off» для концентрации лактата в головке плода, в качестве показателя асфиксии, она составила 4,8 ммоль / л [170].

S. da Silva и соавт. в публикации 2000 года показали значимость и сопряженность таких параметров, как дефицит оснований и уровень лактата в крови, в качестве прогностических признаков неврологических нарушений после перенесенной интранатальной асфиксии измеренных у новорожденного в течении 30 мин после родов [114]. С другой стороны, A. Paris и соавт. в 2012 году показали, что лактатметрия и рН-метрия одинаково эффективны и сопоставимы по чувствительности и прогностической ценности [157].

В 2008 году E. Wiberg-Itzel с соавт. отметили, что не рекомендуют проводить комбинированный анализ уровня рН и лактата, так как это может увеличить количество вмешательств без снижения метаболической ацидемии при рождении [118].

M. Вестгрен в своем исследовании отмечал - неудачные процедуры забора крови у плода (безрезультатный или ненадежный результат) происходили значительно чаще в подгруппе рН, чем в подгруппе лактата. По сравнению с подгруппой по рН, подгруппа лактата характеризовалась меньшим количеством разрезов на коже головы плода при попытке забора крови и значительно меньшим временем, необходимым для отбора проб [170]. D. Tuffnell в своей работе заметил, что пока не существует стандартного количества попыток получить образец крови плода перед отказом от процедуры. В настоящее время количество попыток зависит от оператора, увеличивая время получения результата пробы. В работе предложен стандарт: после трех неудачных попыток врач должен пересмотреть ситуацию в сторону отказа от процедуры [232].

В 2010 году в работе S. L. Rubak с соавт. была показана прямая корреляционная связь между продолжительностью периода изгнания, уровнем лактата и перинатальным исходом [210].

East C. E. и соавт пришли к выводу о том, что определение уровня лактата более целесообразно, чем уровень рН для оценки функционального состояния плода [164]. T. Linet и соавт. в 2002 году при сравнении концентрации лактата и дефицита оснований и рН, показали, что лактат больше коррелирует с

исходом и дефицитом оснований, чем рН [187]. К аналогичному выводу пришел Н. О. Named, в 2013 году, который отметил, что лактат является более надежным маркером нежели определение рН для диагностики рождения детей с низкой оценкой по шкале Апгар [147].

Во время воздействия гипоксии развивается ишемия ряда жизненно важных органов плода, в том числе миокарда. При повреждении мышцы сердца выделяются маркеры его повреждения - тропонин и натрийуретический пептид. Имеются данные о корреляции повышенной концентрации предсердного и мозгового натрийуретических пептидов и состоянием новорожденного [103].

W. J. Seong с соавторами в 2010 изучили концентрацию про-Натрийуретического пептида (NT-proBNP) в вене пуповины и сравнили данные с концентрацией рН новорожденного. Была доказана обратная корреляция этого белка с низкими баллами по шкале Апгар и уровнем рН. Авторы сделали вывод, увеличение его концентрации отражает наличие гипоксии плода [235]. Аналогичные результаты можно увидеть в работе 2013 года V.N. Costa и соавторов [117].

Кроме приведенных выше маркеров гипоксического повреждения, одним из главных сенсоров ишемии жизненно важных органов является тропонин. Он широко изучен в кардиологической практике [8, 14]. Тропонины – группа небольших регуляторных белков, участвующих в процессе мышечного сокращения. При длительном воздействии гипоксии, возникает дефицит энергии в кардиомиоцитах [52]. Michele Correale указывает в своей статье на то, что тропонин может служить полезным дополнением в оценке масштабов повреждения миокарда у новорожденных, прежде всего, при респираторном дистресс-синдроме и асфиксии [231]. Clark et al. указывают, что уровни тропонина в пуповинной крови плода значительно выше у новорожденных с респираторными расстройствами по сравнению со здоровыми новорожденными. Кроме того, эти исследователи указали тропонин в качестве независимого предиктора развития респираторного дистресса плода [106].

По данным Croatian Medical Journal, опубликованным в ноябре 2005 г у 25-51% новорожденных с перинатальной асфиксией происходит ишемия и некроз миокарда [218].

T. Güneş с соавт. в 2005 сравнили концентрацию тропонина Т у здоровых новорожденных и у детей, подвергнувшихся воздействию гипоксии. Было показано, что концентрация тропонина Т достигла пикового уровня в течении первого дня и оставался высоким в течение недели после воздействия стресс-фактора, к 15 дню жизни его концентрация снижалась до базального уровня [230].

Однако полученные сведения об этом белке противоречивы. Отмечено, что концентрация тропонина Т повышается не только при гипоксии плода, но и при наличии преэклампсии, хронической фето-плацентарной недостаточности [120, 141]. Проведенное в 2007 г. исследование N. Iacovidou с соавторами не выявило достоверных отличий по уровню тропонина в группах здоровых новорожденных и детей, рожденных в состоянии асфиксии, но отметили, что у плодов мужского пола его уровень был значительно ниже [198].

Исходя из выше приведенных данных, сегодня невозможно однозначно утверждать о том, что тропонин - маркер гипоксически-ишемического повреждения миокарда плода.

Vedran Stefanović отмечает, что широко изучаются некоторые маркеры гипоксии плода, такие как эритропоэтин, эндотелин-1, и миоглобин, полученные путем взятия проб амниотической жидкости [218].

Интересна работа С. L. Whitehead, W. T. Teh 2013 года, в которой было показано увеличение гипоксия-индуцированной мРНК в материнской крови при возникновении острой гипоксии плода во время родов. При этом была показана корреляционная связь этого показателя с уровнем ацидемии плода при рождении. Также исследователи отмечают увеличение уровня ГИ-м-РНК при ЗВУР, хронической гипоксии плода. Есть положительная связь между

увеличением уровня ГИ-м-РНК в крови матери и выявлением нарушений гемодинамики в сосудах плода при доплерометрии [110, 205].

В исследовании 2015 года было показано значительное снижение экспрессии микроРНК (hsa-miR-374a) в пуповинной крови у детей с перинатальной асфиксией и развитием гипоксически-ишемической энцефалопатии новорожденных [122].

Shi J-P и соавт. была изучена экспрессия miRNA-21 и HIF-1 α у новорожденных, страдающих гипоксически-ишемической энцефалопатией. Их уровни были выше в сыворотке крови у детей с гипоксически-ишемической энцефалопатией по сравнению с контрольной группой [130].

В 2019 г был опубликован клинический обзор Ponnusamy V и Yip PK о роли микроРНК в развитии гипоксически-ишемической энцефалопатии у новорожденных. В нем были рассмотрены изменения, наблюдаемые при гипоксически-ишемической энцефалопатии в развивающемся мозге новорожденного, происходящие на клеточном уровне, как при физиологических, так и при патофизиологических процессах. Авторы полагают, что дальнейшее изучение вопроса может улучшить диагностику эффективных нейропротекторов [203].

Кроме того, в клинической и экспериментальной медицине, большой интерес вызывает молекула HIF – гипоксия-индуцированного фактора, свойства которого изучаются с 1992 года. HIF состоит из 2 субъединиц – α и β , которые относятся к классу bHLH транскрипционных белков, содержащих basic helix-loop-helix (домен спираль-петля-спираль) [68, 155]. Известно, что при гипоксическом воздействии α -субъединицы факторов, индуцируемых гипоксией (HIF- α), подвергаются конформационным изменениям, стабилизируются и образуют гетеродимеры с ARNT (HIF-1 β), которые регулируют клеточный ответ на низкий уровень кислорода [155]. HIF-1 действует как основной регулятор множества генов, индуцируемых гипоксией и запускает транскрипцию более 60 белков, таких как VEGF и эритропоэтин. Синтезированные пептиды увеличивают доступность кислорода, стимулируя

эритропоэз и ангиогенез, опосредованно влияя на транспорт и метаболизм глюкозы. У млекопитающих в клетках транскрипционный комплекс HIF-1 играет существенную роль в клеточном и системном кислородном гомеостазе [98, 155]. В статье Qi Li и соавт. полагают, что компенсаторно-приспособительные механизмы плода после воздействия гипоксии в значительной степени зависят от индукции HIF-1 α в пораженных клетках. Авторы отмечают, что в проведенных ими ранее экспериментальных исследованиях (клеточные культуры субвентрикулярной зоны и зубчатой извилины мыши C57BL/6 WT и ЕС HIF-1 α -дефицитные мыши, модели гипобарической гипоксии) наблюдали прямую корреляционную связь между уровнем HIF-1 α и уровнями Sox 10, BDNF, VEGF, EPO в нейробластах и эндотелиоцитах субвентрикулярной зоны [189]. В настоящем исследовании авторы демонстрируют аутокринные и паракринные эффекты HIF-1, благодаря которым происходит модулирование пролиферативной и апоптотической активности в нейрогенных областях мозга, в работе также отмечено гендерно-специфическое поведение в условиях нормоксии и гипоксии [225].

Другая группа исследователей изучила свойства HIF-2 α . Полученные данные свидетельствуют о том, что, подобно HIF-1 α , нейрональный HIF-2 α способствует выживанию клеток в мозге мышей при воздействии гипоксии на 9 сутки постнатального периода [192].

На данный момент времени больше принята точка зрения о том, что β -субъединица комплекса HIF «aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator» (ARNT/ HIF-1 β) конституциональная, кислород-нечувствительна и отвечает за активацию других генов. Однако существуют разрозненные исследования, в которых наблюдается частичное сопутствующее увеличение уровня белка ARNT при гипоксическом воздействии [156].

В клинических исследованиях также отмечено увеличение уровня HIF-1 α у пациенток с неблагоприятными перинатальными исходами в условиях

гипоксического стресса [28]. Вероятно, данный фактор будет и в дальнейшем тщательно изучаться в контексте диагностики гипоксии плода.

Еще одной интересной молекулой в диагностике гипоксии и гипоксия-ассоциированных осложнений является нейрон-специфическая енолаза (NSE). Нейронспецифическая енолаза (NSE) является хорошо известным биохимическим маркером повреждения нейронов как у взрослых, так и у новорожденных [108].

В статье X.-H. Zhang и соавт. описали результаты исследования сыворотки периферической крови и пупочной артерии новорожденных. Было отмечено, что нейрон-специфическая енолаза может быть полезными биомаркером для диагностики и прогнозирования неонатального повреждения головного мозга [113]. Nikolaos Efstathiou с коллегами пришли к выводу о том, что динамический мониторинг уровней NSE и др. молекул в сыворотке периферической крови в сочетании с электроэнцефалографией информативны для ранней диагностики, определения тяжести и краткосрочного прогноза повреждения головного мозга, вызванного неонатальной асфиксией [104]. В клиническом исследовании Marisol-Zulema Leo'n-Lozano и соавт. показали, что уровень NSE в спинномозговой жидкости отражает тяжесть гипоксически-ишемического повреждения головного мозга, кроме того имеется зависимость между высоким значением уровня NSE и менее благоприятными неврологическими исходами у детей в возрасте двух лет [108]. Также в статье обоснованно отмечено, что при исследовании уровня NSE в сыворотке крови разные исследователи получают противоречивые результаты. Это связано с рядом недостатков метода: не всегда имеет место нарушение гематоэнцефалического барьера, увеличение уровня NSE может быть связано с другим источником (мышцы, тромбоциты и др.), т.к. тяжелая гипоксия приводит к множественному повреждению органов и ДВС-синдрому, также невозможна интерпретация результатов при гемолизе. С другой стороны, имеется ряд преимуществ по сравнению с забором спино-мозговой жидкости:

забор крови менее инвазивен, и может выполняться чаще, даже когда пациент нестабилен [108].

В исследовании E. Mazarico показано, что чем выше уровень NSE в возрасте ребенка 2 лет, тем менее успешные результаты неврологических тестов (когнитивный, социально-эмоциональный и субтест мелкой моторики), что согласуется с данными других исследователей [95].

На современном этапе науки компенсаторно-приспособительные механизмы у плода мало изучены, а исследования больше носят экспериментальный характер. Одним из клинических исследований, затрагивающих оценку компенсаторных возможностей при воздействии гипоксии, стала работа M. C. Tissot van Patot (2010 г). Были произведены сравнения изменений в плаценте у родильниц, живущих на уровне моря и на высоте 3100 метров от него. Было выявлено, что на высоте 3100 м в структуре плаценты повышается концентрация ПНЖК, фосфокреатина, таурина, инозита, а концентрация МНЖК и отношение АТФ \АДФ становится ниже. Исходя из полученных данных, авторы пришли к выводу о том, что произошла адаптация к хронической гипоксии [154].

Многообещающим подходом для повышения компенсаторно-приспособительных возможностей нервной системы представляется активация эндогенных систем, способствующих выживанию нервных клеток при действии стресс-факторов и поддержанию их функциональной активности. Большой интерес вызывает использование нейротрофинов, например, глиального нейротрофического фактора, мозгового нейротрофического фактора и др. (GDNF, BDNF и др.).

И.В. Острова и М.Ш. Аврущенко в экспериментах *in vivo* показали – способность к синтезу нейротрофина BDNF в нейрональной популяции клеток Пуркинье мозжечка. Авторы полагают, что это свойство является одним из важнейших факторов, повышающих устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде. Исследование позволяет предположить о

возможной роли этого фактора в компенсаторно-приспособительных механизмах плода при гипоксическом повреждении [45].

Митрошина Е. В. и соавт. в 2017 г. опубликовали результаты эксперимента по исследованию воздействия GDNF на устойчивость животных к ишемическому повреждению головного мозга в условиях глобальной ишемии - модель двусторонней окклюзии сонных артерий. Авторы сделали вывод, что GDNF способствует выживаемости животных при моделировании ишемии головного мозга и нормализации неврологического статуса в постишемическом периоде [1].

В экспериментальной работе 2018 года А. Ю. Морозова и соавт. показали, что после пренатальной гипоксии наблюдается существенное снижение уровня BDNF, NGF, а также белка S-100 в структурах мозга крыс (кора, гиппокамп и мозжечок) в раннем онтогенезе [20]. В последующей научной работе авторами было показано негативное влияние пренатальной гипоксии на содержание BDNF и NSE в гиппокампе и сыворотке крови крыс на 5-й, 10-й и 30-й дни жизни. При этом уровень этих факторов в крови животных увеличивался. Авторами сделан вывод о том, что пренатальная гипоксия может приводить к нарушению выполнения функций данных белков, влиять на формирование процессов синаптической пластичности вследствие отставания развития синапсов, а также приводить к нарушению целостности нейронов и нарушению их развития как в раннем онтогенезе, так и нарушению поведения животного на более поздних сроках жизни [13].

GDNF поддерживает эффективность работы дыхательной цепи, функциональное состояние митохондрий, способствуя адаптации клеток к действию ишемии. Механизм протекторного действия GDNF включает в себя снижение количества свободных радикалов, образующихся при ишемии [91, 109, 219].

В ряде исследований показано, что мезенхимальные стволовые клетки оказывают нейропротекторное действие через сложные механизмы, такие как секретирование нейротрофического фактора, ангиогенез, ингибирование

апоптоза и модулирование иммунной системы [90, 152, 202, 228]. В качестве иллюстрации приведем экспериментальное исследование Lee N.M. et al. 2017 года. Исследователи предположили, что нейротрофические факторы, высвобождаемые в среду стволовыми клетками, могут придавать регенеративные способности поврежденным гипоксией органотипическим культурам срезов гиппокампа. Учеными было обнаружено, что стволовые клетки могут экспрессировать различные нейротрофические факторы и факторы роста. Уровни NGF, GDNF, VEGF, GCSF и IGF2 были значительно выше в среде кондиционированной стволовыми клетками, нежели в контрольной группе. Авторы исследования заявляют о том, что NGF, GDNF и VEGF являются нейропротекторами в условиях гипоксического повреждения [171].

В других исследованиях подтверждаются данные о механизмах нейропротективного эффекта мезенхимальных стволовых клеток - секреции нейротрофинов, в том числе мозгового и глиального нейротрофических факторов [124, 186].

T. Ikeda с соавт. опубликовали результаты экспериментальной работы, в которой было смоделировано ишемическое / гипоксическое повреждение головного мозга у 7-дневных крыс. При интрацеребральной инъекции нейротрофического фактора, полученного из глиальной клеточной линии (GDNF; 2 или 4 мкг), в течение 30 минут после инсульта степень повреждения была значительно ослаблена. Авторы отмечают, что более высокая экспрессия GDNF и его мРНК в развивающемся мозге может быть одним из факторов, ответственных за относительную устойчивость к ишемии плода и новорожденного, в отличие от мозга взрослого человека [143].

1.3. Экспериментальные исследования в акушерстве

Роль экспериментальных исследований в развитии различных областей медицины велика, в том числе в акушерстве и гинекологии. Использование животных моделей необходимо для более глубокого понимания

патогенетических механизмов развития патологических состояний как у женщин (беременных, рожениц и родильниц), так и их плодов и, затем, новорожденных детей [145]. Согласно опубликованным статьям последних лет, наиболее широко, в условиях эксперимента, исследователи изучали такие нозологии как преэклампсия, преждевременные роды, гипоксия плода, нарушения сократительной активности матки, сахарный диабет при беременности, эндометриоз и другие [92, 179, 236, 239].

На основании данных, представленных в литературе, нами были проанализированы существующие преимущества и недостатки существующих экспериментальных моделей (грызуны, кролики, овцы, приматы и др.), которые используются для изучения патогенеза заболеваний матери во время беременности и плода [101, 140, 146].

Одной из важных характеристик животной модели для изучения патологий, возникающих во время беременности является тип плаценты [140].

Согласно общей морфологии описано четыре основных типа плаценты: диффузный (свиньи, лошади), многодольный (жвачные), зонарный (плотоядные), дискоидный/двудискоидный (приматы, грызуны, кролики) [140]. Кроме того, у разных видов животных различается гистологическая структура плаценты. В этой системе различают три основных типа плацентации: эпителиохориальный тип, характерный для лошадей и некоторых других жвачных животных, свиней; эндотелиохориальный тип плацентации, характерный для хищников и гемохориальный тип плацентации, встречающийся как у приматов, кроликов и грызунов, так и у человека [140].

Споры о том, какая животная модель лучше всего подходит для изучения болезней, возникающих при беременности и у новорожденных, продолжаются, поскольку возникающие патологии чаще всего имеют многофакторный характер [146].

Помимо типа плацентации важны параметры глубины инвазии трофобласта, характер циркуляции крови в межворсинчатом пространстве, продолжительность беременности, регуляция стероидогенеза в плаценте,

строение матки, количество плодов, размеры и условия содержания экспериментальных животных [107, 146]. По данным литературы считается, что приматы высшего порядка остаются наиболее близкими к людям [146]. Немаловажно, чтобы модель была доступна, и были соблюдены все необходимые условия для содержания животных. Так, например, к преимуществам использования признанных лабораторных животных –мышей, крыс, кроликов в качестве экспериментальных животных, относят их небольшие размеры и короткое время генерации, с другой стороны небольшие размеры обуславливают необходимость наличия опытных исследователей для точного выполнения инвазивных экспериментов, а для функциональных исследований необходимо разрабатывать сложные методы визуализации [107]. При этом они рожают детенышей, которые недоразвиты в момент рождения (альтрициальный вид). Исключением является морская свинка, у которой более длительный срок беременности, меньший помет и хорошо развитые новорожденные (пресоциальный вид) [107]. Инвазия трофобласта у мыши крайне поверхностная, поэтому данное животное лучше не использовать в экспериментах, связанных с изучением преэклампсии, плацентарной дисфункции. Эквивалентная глубина инвазии трофобласта наблюдается у шимпанзе и горилл. По данным литературы описано, что кролик хорошо зарекомендовал себя в качестве лабораторного животного и использовался для исследований плацентарного кровообращения [107].

Полагаем, что «единой идеальной животной модели» для изучения процессов беременности и родов у человека не существует. Все модели имеют свои преимущества и ограничения, поэтому, при наличии возможности, необходимо проверять правильность гипотезы на нескольких наиболее подходящих моделях.

Существенную роль экспериментальные исследования играют при изучении неонатальной гипоксии-ишемии и энцефалопатии новорожденных [88]. Интранатальная гипоксия; осложнения, возникающие в связи с преждевременными родами и инфекциями, оставляют до 80% случаев

перинатальной смертности во всем мире; в тоже время среди выживших новорожденных, после аналогичных осложнений, наблюдается высокая частота неврологических патологий. Она может проявляться как в виде легких состояний (синдром дефицита внимания и гиперактивности), так и изнурительных патологий (детский церебральный паралич) [88].

Так, например, модели неонатальной гипоксии-ишемии у грызунов позволили углубить понимание клеточных механизмов повреждения нейронов в развивающемся мозге, но в полной мере не отражали процессы, происходящие при аналогичном повреждении мозга человека [201]. Исследования перинатальной гипоксии-ишемии, выполненные на моделях крупных животных (частичная или полная асфиксия во время родов эмбрионов обезьян, окклюзия пуповины и гипоперфузия головного мозга на разных стадиях беременности у эмбрионов овец, а также тяжелая гипоксия и гипоперфузия у новорожденных поросят) помогли дополнить уже существующие представления о патогенезе гипоксически-ишемической травмы и экстраполировать полученные данные на человека. Интересно, что при моделировании полной асфиксии у обезьян преимущественно повреждаются мозжечок и первичные сенсорные ядра в стволе мозга и таламусе, тогда как при частичной асфиксии больше повреждаются соматосенсорная и моторная кора, базальные ганглии и таламус. Плоды овец в середине беременности представляют собой ценную модель для изучения уязвимости олигодендроцитов-предшественников. Гипоксия с последующей асфиксией у новорожденных поросят повторяет повреждение систем, наблюдаемое у доношенных новорожденных [201].

Гипотермия была испытана в качестве лечения гипоксически-ишемической энцефалопатии на моделях новорожденных поросят и впоследствии доказала свою эффективность в клинических испытаниях на доношенных новорожденных [85, 201]. Модель гипоксически-ишемической энцефалопатии на поросятах в дальнейшем используется для неонатальных реанимационных и гемодинамических исследований, а также в исследованиях

церебральной гипоксии на клеточном уровне [85]. Важно помнить, что параметры воздействия гипоксии играют значительную роль в типе и тяжести полученной травмы как у новорожденных детей, так и в животных моделях. Таким образом, изменения режимов экспериментов разными исследователями при создании моделей гипоксии и гипоксии-ишемии представляет собой значительную проблему для получения последовательных, сопоставимых и клинически значимых результатов [88].

Можно прийти к заключению, о том, что ни одна существующая экспериментальная модель не может полностью имитировать процессы гипоксического повреждения, возникающие у плода и новорожденного. Однако, необходимо продолжать изучение этой проблемы как клинически, так и с помощью различных экспериментальных моделей, постепенно дополняя уже существующие представления о патогенезе заболевания, его диагностике и лечении.

1.4. Патофизиологические механизмы биологического действия нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза нейронов плода

Патологические реакции в ЦНС, запускаемые при возникновении гипоксического стресса у плода, связаны с разобщением окислительного фосфорилирования, нарушением энергетического обмена клетки, активацией свободно-радикальных процессов, стимуляцией апоптотических реакций. Основное повреждающее действие гипоксии оказывается на уровне микроглиальных клеток головного мозга. При гипоксическом повреждении нарушается работа Na^+/K^+ -насоса, утилизация глутамата и аспартата. Происходит увеличение концентрации внутриклеточного кальция, развивается отек мозга и повреждение нейронов и клеток глии [11]. Структурная организация мозга настолько уникальна, что потеря даже нескольких нейронов может вызвать необратимые нарушения в функционировании нейронных сетей [4]. На современном этапе развития науки складывается представление о нейротрофических факторах как о

белках, играющих главенствующую роль в функционировании нейронных сетей головного мозга в процессе развития и в постнатальный период. Среди нейроспецифических белков на современном этапе развития науки широко изучаются такие молекулы как BDNF, GDNF, NSE, VEGF, GFAP и другие.

GDNF и BDNF регулируют выживание разных типов нейронов, их миграцию и дифференцировку; поддерживают жизнеспособность клеток головного мозга на высоком метаболическом уровне. Изучаемые нейротрофины имеют важное значение для формирования отростков нервных клеток, росте нейронов, развития коры больших полушарий и процессах синаптической пластичности [64, 83]. Перинатальный стресс, испытываемый при рождении, запускает генетически-детерминированную нейротрофическую передачу сигналов, оказывающую влияние на пре- и постнатальное развитие мозга [200].

Механизмы защитного действия GDNF и BDNF взаимосвязаны и реализуются через однонаправленные реакции поддержания гомеостаза нейронных сетей за счет активации защитных MAP-киназных (MAPK) сигнальных путей [4].

GDNF, по данным исследований, оказывает защитное действие на функциональную метаболическую активность нейронных сетей и структуру синаптического аппарата, в то время как гипоксия приводит к полному разрушению сетевой структуры и десинхронизации между ее отдельными элементами [161]. В настоящее время известно, что GDNF активирует несколько внутриклеточных сигнальных путей и киназ. Антигипоксические и нейропротекторные свойства GDNF реализуются через активацию рецептора GFR- α . Данный рецептор передает сигнал к другим белкам, в том числе к RET-тирозинкиназе, и происходит активация внутриклеточных сигнальных каскадов: RAS/MAPK, фосфатидилинозитол-3 киназы (PK3-K)/Akt, фосфолипазы C, что приводит к увеличению выживаемости различных популяций нейронов [4, 161]. В эксперименте было показано, что при введении экзогенного GDNF в культуральную среду первичных клеток

гиппокампа мышей не происходит разрушения структуры отростков митохондрий, таким образом сохраняется функциональная активность нейрональной сети. Авторы исследования объясняют, что данный эффект возможен за счет частичной стабилизации функциональной активности Ca^{2+} в клетках. Также авторы указывают, что дополнительную возможность защитного действия на нейрональную сеть связывают с регуляцией уровня фактора транскрипции HIF-1 α [161].

BDNF контролирует широкий спектр процессов, а его синтез и созревание включает в себя образование нескольких изоформ-предшественников (пре-про-BDNF, пронейротрофина BDNF, m-BDNF), которые взаимодействуют с различными типами рецепторов, инициируя большое количество сигнальных путей и приводя к разным, иногда противоположным, эффектам. В раннем постнатальном периоде характерно преобладание молекул про-BDNF; m-BDNF преобладает во взрослом возрасте [204].

Про-BDNF взаимодействует преимущественно с рецептором нейротрофина p75 (p75NTR), а также с рецептором сортилина; m-BDNF связывает рецептор тирозинкиназы B (TrkB). m-BDNF поддерживает процессы развития нейрогенеза и глиогенеза. Нейрозащитный эффект связан с устранением глутаматергической эксайтотоксичности, возникающей в результате ингибирования внесинаптического NMDAR-опосредованного притока Ca^{2+} . Это предотвращает дисфункцию митохондрий и апоптотическую гибель клеток [64]. Про-BDNF напротив стимулирует процессы апоптоза, отрицательно воздействует на ремоделирование нейронов. Это необходимо для устранения поврежденных клеток или аномальных связей, неэффективных для формирования синаптической пластичности, памяти и познания [97]. BDNF, в постнатальный период, может поддерживать структурно-функциональную организацию нейронов до момента завершения формирования нейронных сетей под действием афферентных стимулов.

1.5 Нейротрофины в регуляции гомеостаза нейронов плода и их роль в диагностике функционального состояния плода.

Одной из наиболее чувствительных к гипоксии тканей является развивающийся головной мозг плода и новорожденного. В конце XX начале XXI века выполнен ряд экспериментальных работ, открыты нейротрофические факторы BDNF, GDNF, VEGF и другие; показана их роль при воздействии гипоксии и следующих за ней восстановительных процессах, а также терапевтический потенциал некоторых молекул [1, 143, 166].

В диссертационной работе Котий С.А. 2006 года были установлены корреляционные связи между низким уровнем VEGF и BDNF в сыворотке крови новорожденных и развитием структурного постипоксического дефекта. Отмечено, что прогностически неблагоприятно снижение BDNF до следовых значений в 1 сутки жизни, а VEGF - в течение первой недели жизни новорожденных. Доказано, что повышение уровня указанных нейротрофинов в 1.5-3 раза указывает на хорошие адаптационные возможности нервной системы. А также отмечено, что наличие преэклампсии у матери имеет прямую корреляционную связь с низким уровнем VEGF к 1 суткам жизни новорожденного, что говорит о высоком риске перинатального гипоксического повреждения головного мозга у данной группы пациентов [31].

Голосная Г.С. и соавторы в своей работе отмечают, что прогностически неблагоприятны как низкие, так и крайне высокие значения концентрации BDNF в сыворотке крови новорожденных детей для формирования структурных поражений головного мозга [40].

В 2007 году в работе Ю.Ю. Поповой и соавт. показано, что комплексное определение уровня нейроспецифической енолазы и BDNF в сыворотке крови у недоношенных новорожденных с гипоксическими поражениями ЦНС может быть использовано для диагностики тяжести поражения и прогноза заболевания, а также отдаленного прогноза развития у детей органических форм поражения ЦНС [76].

В 2015 году в работе М.В. Ведуновой и соавторов отмечено, что наибольшее диагностическое значение для оценки тяжести повреждения головного мозга в раннем неонатальном периоде связано с измерением концентраций NSE и BDNF в плазме новорожденных. А также установлено существенное увеличение NSE у новорожденных с судорожными состояниями [42].

Морозова А. Ю. и соавт. в 2019 году опубликовали результаты, в которых указали, что у доношенных новорожденных, имеющих ЗВУР II–III степеней, определялся повышенный уровень NSE в сыворотке пуповинной крови, при этом содержание BDNF было низким. Полученные данные указывают на наличие повреждения мозга в сочетании с отсутствием адекватных компенсаторных возможностей. В этих условиях с увеличением срока гестации степень повреждения нейрональных структур возрастает [69].

Проведенные исследования открывают возможность поиска принципиально новых, патогенетически-обоснованных путей воздействия при нарушении функции мозга гипоксически-ишемической этиологии, как в неврологии, так и в ряде других специальностей, например, в неонатологии при гипоксически-ишемическом повреждении мозга новорожденного, с помощью применения синтетических аналогов нейротрофинов.

В заключении необходимо отметить - обзор современной литературы показывает, что на сегодняшний день существует широкий диапазон методов, позволяющих оценить функциональное состояние плода во время беременности и первом периоде родов. Данные о чувствительности и специфичности рутинных методов диагностики по-прежнему противоречивы, а компенсаторно-приспособительные механизмы плода, реализующиеся в родах, остаются малоизученными. В последние годы уделяется большое значение уровню белков мРНК, маркеров альтерации органов -мишеней. Большое экспериментальное и клиническое значение в механизме регуляции компенсаторно-приспособительных возможностей отдается нейротрофическим факторам, действие которых генетически-обусловлено.

ГЛАВА 2

ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП И РЕЗУЛЬТАТЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика групп в экспериментальной части исследования

Исследования *in vivo*. Эксперименты проводили на беременных самках мышей линии C57BL/6 (инбредная линия, окраска шерсти чёрная, генотип, а, Н-2b) разного срока гестации (n=24) (Рисунок 2).



Рисунок 2 - Изображение мыши линии C57BL/6

Для оценки влияния хронической гипоксии на уровень BDNF и GDNF и определения роли нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза на фоне гипоксии нами было выполнено экспериментальное исследование и проведён анализ полученных данных (Рисунок 1). Содержание животных в сертифицированном виварии Национального исследовательского Нижегородского государственного университета соответствовало требованиям приказов №1179 МЗ СССР от 11.10.1983 и №267 МЗ РФ от 19.06.2003. Работа выполнялась в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (National Research Council, 2011), при этом неукоснительно соблюдались требования Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 2006). Исследование

было согласовано с Этическим комитетом Национального исследовательского Нижегородского государственного университета.

В качестве удобной экспериментальной модели для исследования антенатальной гипоксии использовалась хроническая гипобарическая гипоксия (ХГГ). Снижение концентрации кислорода, создаваемое в барокамере, приводит к возникновению типового патологического процесса у экспериментального животного, поддается корректировке, что создает возможности для применения ХГГ в различных режимах.

Моделирование гипобарической гипоксии в выбранные нами сроки было проведено с целью влияния на органогенез, в том числе нейрогенез [37]. Мы приняли во внимание тот факт, что уровень BDNF всегда повышен в эмбриогенезе, так как необходим для структурных изменений и развития головного мозга. Следует также отметить, что по данным литературы наибольшая степень повреждения при гипоксическом воздействии возникает в I и II триместрах беременности, как у мышей, так и у человека (П. Г. Светлов, Э.К. Айламазян) [3]. Это можно объяснить тем, что на этапе раннего онтогенеза механизмы адаптации ещё не сформированы, и влияние неблагоприятных факторов (в том числе кислородного голодания) на организм наиболее выражено.

В экспериментальном исследовании беременные самки мышей (n=24) были разделены на 2 равные группы:

Группа 1 (n=12) — I и II триместр беременности с 5 по 15-й дни гестации;

Группа 2 (n=12) — контрольная группа.

Моделирование ХГГ у беременных самок мышей проводили в I и II триместрах беременности (с 5-й по 15-й день гестации). Беременных самок ежедневно в течение 10 дней помещали в гипобарическую барокамеру, в которой на протяжении 30 мин создавали условия, соответствующие подъёму на высоту 6500–7000 м. На 19 день гестации у беременных самок (n=12) проводился забор крови с целью определения концентрации нейротрофических факторов BDNF, GDNF методом иммуноферментного

анализа с использованием коммерческих наборов BDNF DY248 (R&D Systems, США) и GDNF CSB-E07341M (Cusabio, США).

2.2 Значения нейротрофических факторов BDNF и GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей с хронической гипобарической гипоксией

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 6).

Таблица 6 - Уровень нейротрофических факторов BDNF, GDNF в сыворотке крови беременных самок мышей на 19-й день гестации после моделирования хронической гипобарической гипоксии, pg/ml (M±SD)

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

*p <0,05 различия статистически значимы, U-критерий Манна-Уитни

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.

2.3. Оценка влияния хронической гипоксии на уровень BDNF, GDNF и определение роли нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза нейронов на фоне гипоксии

Гипоксия является одним из типовых патологических процессов, запускающих каскад патогенетических изменений в организме, и в ответ на это начинают реализовываться разнообразные компенсаторно-приспособительные механизмы, обеспечивающие гомеостаз нейрональной сети биологических систем. Одним из таких защитных механизмов в ответ на действие стресс-факторов является активация молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети. В настоящее время в нейробиологии и нейромедицине большое внимание уделяется изучению клеточных механизмов регуляции функциональной активности нейрональной сети. Изучение гомеостаза клеток нервной системы даёт возможность коррекции метаболизма в стресс - условиях. Основой сохранения функциональной целостности нейрональной сети в условиях стресса является сбалансированность в системе регуляции жизнедеятельности клеточных элементов и факторов внеклеточной сигнализации.

Исходно факторы синтезируются в лимитированных количествах, активно вырабатываясь в соответствии с функциональной потребностью. Часть этих факторов действует, как правило, локально в пределах ограниченной популяции клеток, другие дистантно, циркулируя с током крови. Структурно ростовые и нейротрофические факторы представлены полипептидами. Они играют ключевую роль в развитии и сохранении структур центральной и периферической нервной системы. Велика их роль в широком спектре явлений, характеризующих деятельность ЦНС в норме и при патологии. Главным можно считать их участие в контроле процессов физиологического развития нейронов, фенотипической дифференциации и сохранения структурной и функциональной целостности нервных или

глиальных клеток. Существенна роль нейтрофинов в апоптотических процессах, связанных с нейродеструкцией.

Пусковым механизмом огромного числа патологических состояний в ЦНС является увеличение выброса глутамата и как следствие увеличение концентрации кальция в постсинаптической терминали. Защитным механизмом при увеличении концентрации кальция является активация фосфолипазы С и выработка эндоканнабиноидов, которые способны влиять на проницаемость каналов в постсинаптической мембране. Активация эндоканнабиноидной системы ведёт к увеличению синтеза BDNF. Связывание BDNF с тирозинкиназным рецептором инициирует внутриклеточные каскады, которые способствуют либо локальному увеличению кальциевых токов, либо напротив торможению последствий эксайтотоксического действия глутамата. Также отмечена роль тирозинкиназного - опосредованного действия BDNF на астроцитарные кальциевые токи. Следовательно, BDNF, действуя дистанционно, не только объединяет нейроны в единое морфофункциональное образование, но и участвует в привлечении астроцитов к механизмам гомеостатической регуляции сети.

Следующим важным внеклеточным регулятором сетевой активности является глиальный нейротрофический фактор (GDNF). Данный нейтрофин способен влиять на гомеостаз клеток, лишенных рецепторов к нему. Внеклеточные сигнальные механизмы GDNF связаны не только с влиянием на апоптотические процессы, но и на выработку эндоканнабиноидов, путем образования активного GDNF-GFL-RET (лиганд-рецепторного) комплекса способного влиять на активность фосфолипазы С. Таким образом, факторы внеклеточной регуляции BDNF и GDNF, и эндоканнабиноидная система вовлечены в единую взаимозависимую систему регуляции гомеостаза нейронной сети в норме и в условиях адаптации к стрессу.

В серии проведённых экспериментальных работ М. В. Ведуновой и соавт. в 2014 году на моделях *in vitro* (диссоциированные культуры

гиппокампа) и *in vivo* были описаны свойства молекул внеклеточной сигнализации нейрональной сети (Рисунок 3).



Рисунок 3 – Свойства молекул регуляции нейрональной сети [10]

В результате проведённой нами работы анализ данных экспериментальной части исследования показал существенное ($p < 0,05$) снижение уровней BDNF и GDNF при воздействии ХГГ (Рисунок 4).

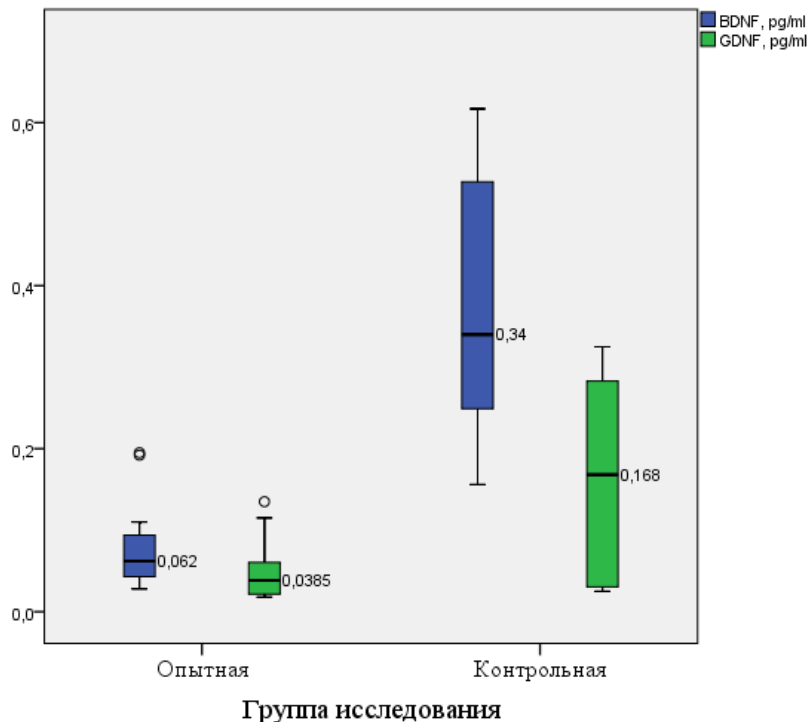


Рисунок 4 - Анализ данных экспериментальной части исследования

Описанные нами выше экспериментальные данные хорошо соотносятся и не имеют противоречий с экспериментальными работами, проведёнными ранее [139].

В экспериментальных работах М. В. Ведуновой и соавт. в 2014 году на моделях *in vitro* (диссоциированные культуры гиппокампа) и *in vivo* (самцы мышей линии C57BL/6j) было показано, что превентивное введение нейротрофических факторов BDNF и GDNF частично нивелировало отрицательное воздействие гипоксии на спонтанную биоэлектрическую активность диссоциированных культур гиппокампа, таким образом способствуя сохранению морфофункциональной структуры нейронных сетей, а также увеличивало устойчивость самцов мышей к условиям острой гипобарической гипоксии и предотвращало нарушение пространственной памяти в постгипоксическом периоде. Авторы отмечали, что совместное применение GDNF и BDNF при гипоксическом воздействии менее эффективно, чем применение каждого из этих нейротрофических факторов по отдельности [4]. В экспериментальном исследовании Митрошиной Е.В. и соавт. 2017 года получены данные, иллюстрирующие способность GDNF частично восстанавливать неврологический статус (модель двусторонней окклюзии сонных артерий самцов мышей) [1].

Таким образом, данные исследования показали, что хроническая гипобарическая гипоксия оказывает существенное негативное влияние на генетически детерминированный уровень BDNF и GDNF у беременных самок мышей.

ГЛАВА 3

ХАРАКТЕРИСТИКА ГРУПП В КЛИНИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ

В период с 2017-2021 гг. было выполнено клиническое исследование, в котором были проанализирован 81 случай.

Целью клинического этапа исследования являлось оценить изменение концентрации маркеров гипоксии и уровня нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых в зависимости от реализации стресс-факторов во время беременности и в родах.

В зависимости от уровня перинатального риска по Радзинскому В. Е. и соавт., 2011 г., данным патоморфологического исследования плаценты, исходу родов для плода и течению периода адаптации новорождённых было выполнено деление обследованных женщин на 3 группы: *низкого* (группа 1), *умеренного* (группа 2) и *высокого* (группа 3) рисков развития гипоксии плода (Рисунок 5).

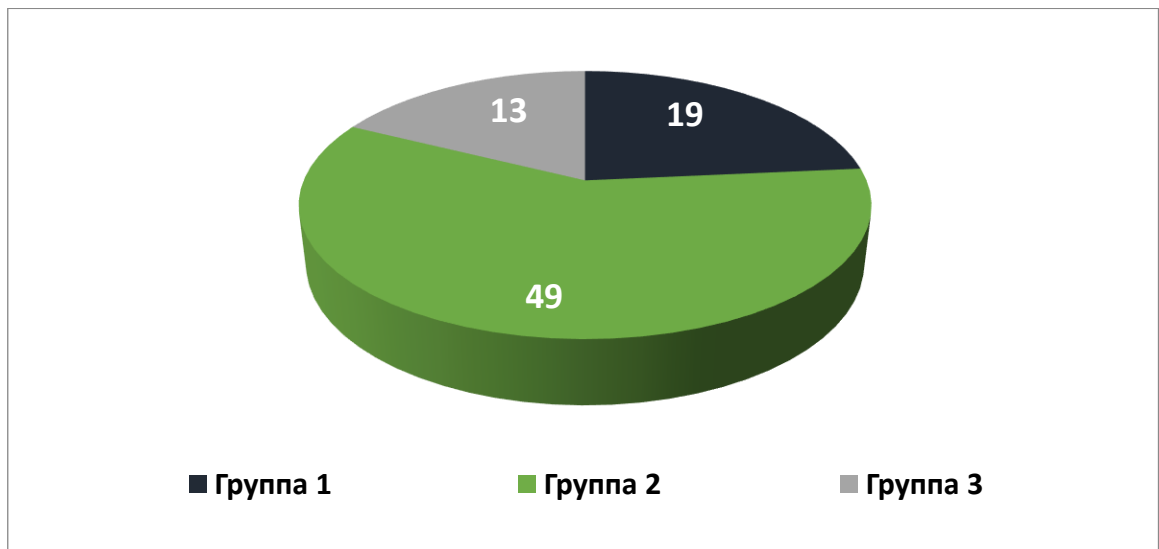


Рисунок 5 - Число наблюдений в группах

В *группу 1* (n=19) отнесены пациенты, у которых был низкий уровень перинатального риска по шкале Радзинского, при гистологическом исследовании плацента соответствовала варианту нормы или имелись начальные признаки инволюции, исход для плода был абсолютно

благоприятным, 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, но имелись особенности в течение периода адаптации у новорождённых.

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

Анализ факторов, учитываемых при разделении пациентов на группы, показал статистически значимые ($p < 0,05$) различия между группами, что свидетельствует о корректном формировании групп (Таблица 7).

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 г). 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.

Таблица 7 – Анализ групп клинического этапа исследования по степени их различия

Факторы	Группа			p
	1	2	3	
	M±SD	M±SD	M±SD	
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 (учтены антенатальные и интранатальные факторы перинатального риска для каждой пациентки). 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), критерий Краскела-Уоллиса

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.

Напротив, 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 ($p < 0,001$). Здесь следует отметить, что среднее значение показателя степени осложнений периода адаптации, имеет существенную тенденцию к увеличению своего значения от первой к третьей группе.

Таким образом, в ходе разделения всех пациентов случайной выборки клинической части исследования на 3 основные группы были получены важные для дальнейшего анализа соотношения между группами (Таблица 7). Группа умеренного и высокого риска сопоставимы по степени перинатального риска и структурным изменениям плаценты; группа низкого и умеренного риска сопоставимы по исходу родов для плода по шкале Апгар. В группах низкого, умеренного и высокого риска происходит последовательное увеличение значения среднего показателя осложнений периода адаптации, достигая максимальных значений в группе высокого риска развития гипоксии плода и осложнений новорождённых. Подобное разделение считаем наиболее корректным для изучения факторов гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF).

Анализ антропометрических данных исследованных групп показал, что выборки были сопоставимы по основным показателям (Таблица 8).

Исходя из полученных данных, при сопоставлении возраста, роста роженицы, веса на момент поступления, индекса массы тела до беременности, прибавки во время беременности статистически значимых различий установлено не было ($p > 0,05$).

Таблица 8 - Антропометрическая характеристика обследованных рожениц

Показатели	Группа 1		Группа 2		Группа 3		p
	M±SD		M±SD		M±SD		
Возраст (полных лет)	30,74±2,47		28,78±4,99		28,69±3,03		0,215
Рост роженицы (см)	167,3±7,0		166,2±6,43		165,4±4,55		0,694
	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3	Me	Q1 – Q3	
Вес на момент поступления (кг)	74,4	65,6-82,7	75,0	69,7-84,8	69,0	68,4-72,5	0,179
ИМТ до беременности (кг/м ²)	22,40	19,8-23,8	22,7	20,8-25,1	21,6	19,4-23,1	0,201
Прибавка во время беременности (кг)	11,5	10,0-13,9	12,3	10,0-15,0	14,0	10,0-16,0	0,634

F- критерий Фишера, F- критерий Уэлча, критерий Краскела-Уоллиса

Таким образом, изучаемые группы в клиническом исследовании были сопоставимы по антропометрическим показателям.

Анамнестические факторы риска развития осложнений беременности и родов среди исследуемых групп клинического исследования представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Сравнительная характеристика данных анамнеза рожениц

Показатели	Группы			p
	I (n=19) Абс.(%)	II (n=49) Абс.(%)	III (n=13) Абс.(%)	
Семейное положение (не замужем)	1 (5,3)	3 (6,1)	1 (7,7)	0,961
Паритет (первородящие)	10 (52,6)	26 (53,1)	7 (53,8)	0,998
Отягощённая наследственность	12 (63,2)	27 (55,1)	9 (69,2)	0,605
Отягощённый акушерско-гинекологический анамнез	13 (65,0)	28 (56,0)	9 (60,0)	0,783

Критерий χ^2 -Пирсона

Согласно данным представленным в таблице, пациенты всех групп клинического исследования не имели статистически значимых различий ($p > 0,05$) в анамнестических факторах риска осложнений беременности и родов.

Общая частота встречаемости экстрагенитальной и гинекологической патологий у женщин, принявших участие в клиническом исследовании не имела статистически значимых различий ($p = 0,805$; $p = 0,836$ соответственно). Все пациентки были в стадии ремиссии имеющихся хронических заболеваний. Структура экстрагенитальных и гинекологических заболеваний в исследуемых группах клинического исследования показана на рисунке 6 и таблице 10.

При анализе структуры соматического статуса и гинекологической заболеваемости различий между группами не выявлено ($p > 0,05$).

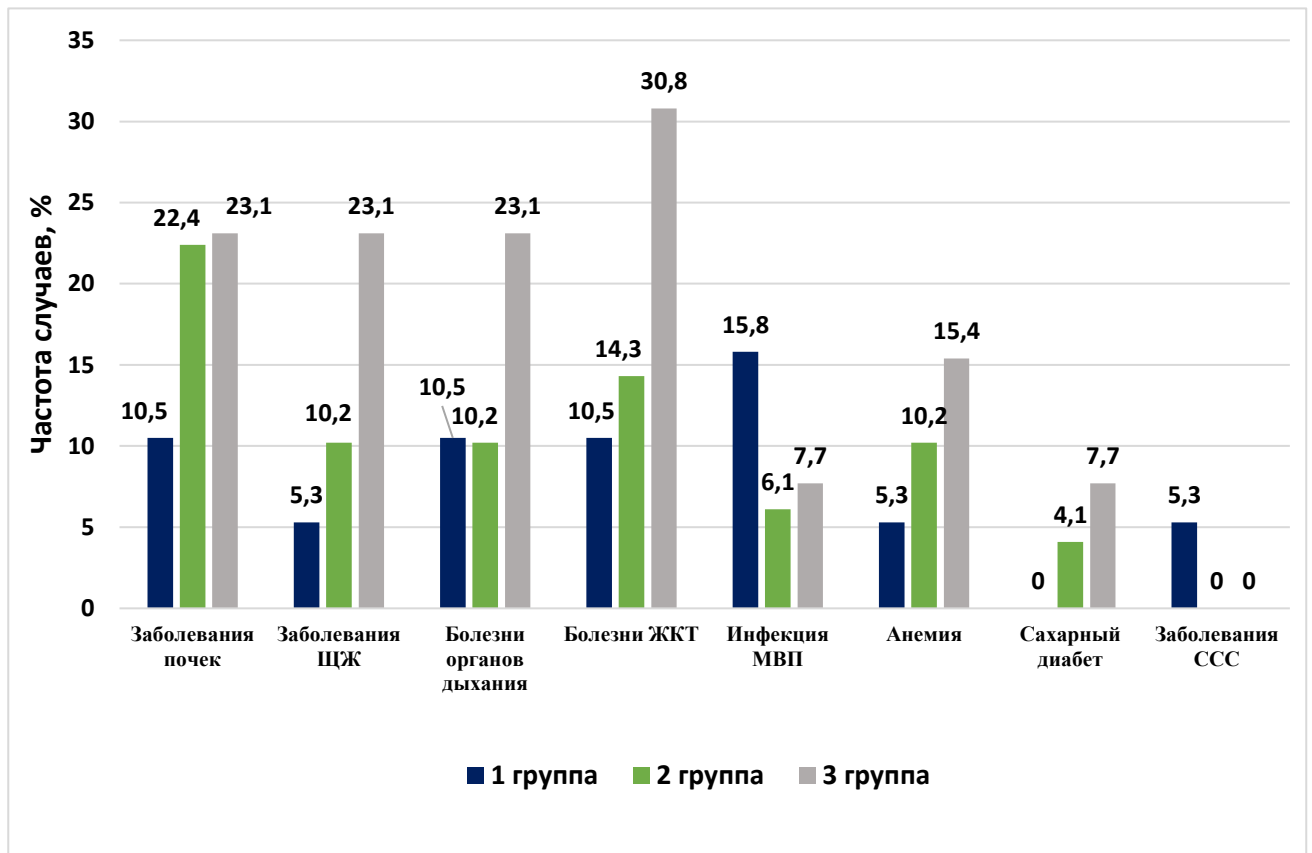


Рисунок 6 - Структура экстрагенитальной патологии среди исследуемых групп, критерий χ^2 -Пирсона

Таблица 10 - Структура гинекологической патологии исследуемых групп

Показатели	Группы			p
	I (n=19) Абс.(%)	II (n=49) Абс.(%)	III (n=13) Абс.(%)	
Эктопия шейки матки	8 (42,1)	11 (22,4)	1 (7,7)	0,072
Неспецифический вагинит	2 (10,5)	3 (6,1)	3 (23,1)	0,189
Миома матки	0 (0,0)	2 (4,1)	0 (0,0)	0,512
Кисты яичников	0 (0,0)	5 (10,2)	1 (7,7)	0,353
Полипы ц/канала	0 (0,0)	2 (4,1)	0 (0,0)	0,512

Критерий χ^2 -Пирсона

В ходе анализа осложнений течения беременности у женщин между изучаемыми группами в клиническом исследовании был выявлен ряд особенностей (Таблица 11).

Таблица 11 - Анализ осложнений беременности между группами 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)	$P_{1-2}=0,012^*$ $P_{1-3}=0,007^*$
Аномальное количество околоплодных вод (многоводие/маловодие)	0 (0,0)	2 (4,1)	1 (7,7)	0,514
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

*- различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$), критерий χ^2 -

Пирсона с поправкой Холма

Исходя из данных, отмеченных в таблице, мы видим 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 говорит о равнозначном воздействии данного фактора в исследуемых группах. При изучении других показателей течения беременности среди изучаемых групп статистически значимых различий не было выявлено ($p > 0,05$).

При выполнении исследования были проанализированы осложнения течения родов и особенности родоразрешения в группах (Таблица 12).

Таблица 12 - Анализ осложнений родов и особенностей родоразрешения в изучаемых группах клинической части исследования

Показатели	Группы			p
	I (n=19) Абс.(%)	II (n=49) Абс.(%)	III (n=13) Абс.(%)	
Аномалии родовой деятельности	0 (0,0)	2 (4,1)	0 (0,0)	0,512
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
Родовозбуждение	4 (21,1)	9 (18,4)	2 (15,4)	0,920

*- различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$), критерий χ^2 -

Пирсона с поправкой Холма

Анализ клинических проявлений, ассоциированных с осложненным течением родов, а также нозологий, патогенетически тесно связанных с гипоксией плода, выявил наличие статистически значимых отличий. Исходя из полученных данных, мы отметили увеличение частоты меконияльного окрашивания околоплодных вод в 3-й группе ($p = 0,006$) по сравнению со 2-й группой.

Проведен анализ выявленных отклонений в ходе инструментальных методов обследования в группах клинического исследования (Рисунок 7).

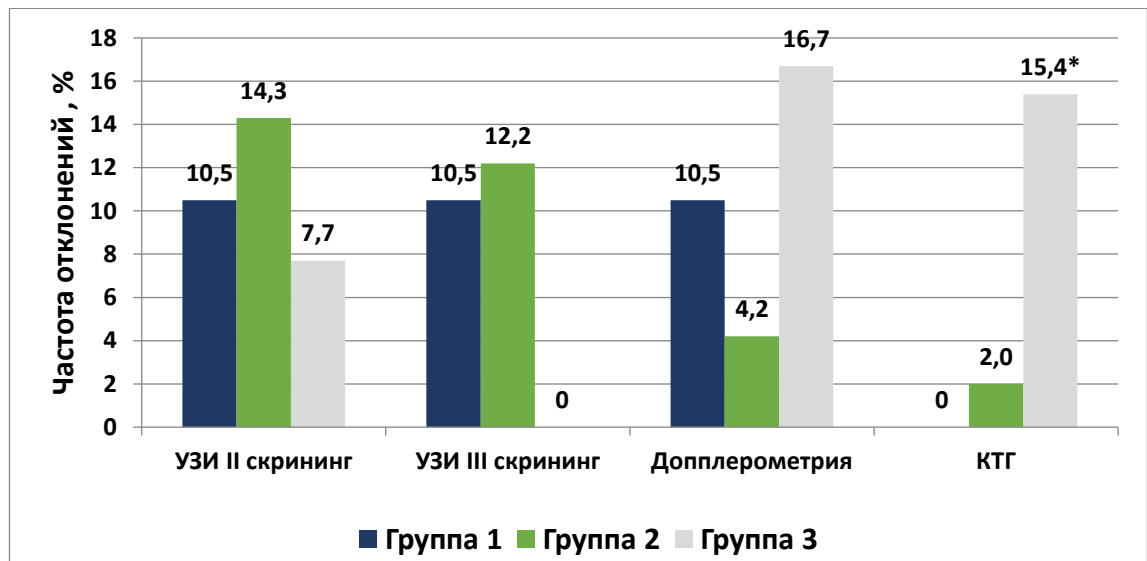


Рисунок 7 - Анализ выявленных отклонений в ходе инструментальных методов между группами клинической части исследования

Согласно представленным на рисунке данным, сравнение результатов, полученных при обследовании функционального состояния плода среди указанных групп показало, что частота встречаемости патологических паттернов кардиотокографии (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. При сравнении частоты патологических заключений по результатам УЗИ II и III триместров существенных различий в результатах не выявлено ($p>0,005$). Отсутствие существенных различий при инструментальных методах исследования функционального состояния плода в исследуемых группах может быть связано с небольшим количеством таких наблюдений, обусловленное случайной выборкой.

Таким образом мы показали сопоставимость изучаемых групп клинического исследования по антропометрическим показателям, данным

анамнеза и частоте встречаемости экстрагенитальной и гинекологической патологии и указали различия этих групп по основным факторам развития гипоксических осложнений во время беременности и в родах (признаки хронической плацентарной недостаточности, изменение цвета околоплодных вод, патологические типы КТГ и тенденция к увеличению частоты выявления нарушений по данным доплерометрии).

ГЛАВА 4

ЗНАЧЕНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ (BDNF, GDNF) В СЫВОРОТКЕ ПУПОВИННОЙ КРОВИ НОВОРОЖДЕННЫХ

4.1. Значения и взаимосвязи маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых

Выбор для исследования гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) обусловлен тем, что гипоксия, вызывает активацию ряда патологических процессов, связанных с гибелью клеток и приводит к увеличению в сосудистом русле специфических внутриклеточных белков, в том числе и нейронспецифической енолазы (NSE). В ряде экспериментальных и клинических работ было показано, что повышение уровня NSE в крови доношенных новорождённых связано с неблагоприятными исходами в результате перинатального поражения ЦНС - гипоксически-ишемической энцефалопатией, судорожными состояниями новорождённых, и может иметь прогностическое значение для неврологических нарушений [42, 113, 191].

С другой стороны, гуморальный фактор гипоксии ARNT/HIF-1 β играет роль основного регулятора транскрипции в клеточном гомеостазе, ряд исследователей полагает, что его уровень повышается за счёт NF-kB зависимых процессов. NF-kB представляет собой ядерный фактор антиапоптотического белкового комплекса [93, 129, 207]. Принимая во внимание тот факт, что ARNT/HIF-1 β играет важную роль в регуляции транскрипции в клеточном гомеостазе и его тесную взаимосвязь с ядерными факторами антиапоптотических белков, можно предположить, что этот фактор, скорее всего, является ранним маркёром гипоксии. В ряде исследований было установлено, что повышенное содержание ARNT/HIF-1 β в сыворотке крови определяли при некоторых видах опухолей [93, 207]. Несмотря на некоторые данные о молекулярно-клеточных механизмах регуляции гомеостаза с участием ARNT/HIF-1 β , роль этого белка остаётся

мало изученной, но на примере опухолевого роста полагаем, что увеличение синтеза этого белка косвенно указывает на то, что этот фактор является ранним маркёром гипоксии, принимая участие в антиапоптотических механизмах, обеспечивающих клеточную пролиферацию низкодифференцированных клеток.

Таким образом, в качестве гуморальных факторов гипоксии в нашей работе мы используем ранние (ARNT/HIF-1 β) и поздние маркёры гипоксии (NSE). Ранним внутриклеточным фактором гипоксии является ARNT/HIF-1 β , который сопряжён с активацией внутриклеточных антиапоптотических механизмов и таким образом, может указывать на гипоксические состояния, но не имеет сильных взаимосвязей с внеклеточной регуляцией гомеостаза нейронов. Поздним внутриклеточным маркёром гипоксии является нейронспецифическая енолаза (NSE). Этот фактор сопряжён с конечными стадиями некроза клеток или её гибелью и соответственно, связан с внеклеточной регуляцией гомеостаза нейронов.

В качестве регуляции гомеостаза нейронов плода нами были изучены молекулы внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF, которые могут быть связаны с поздними маркерами гипоксии, такими как NSE. Эта взаимосвязь может указывать на реализацию компенсаторно-приспособительных механизмов в ответ на действие факторов гипоксии, так как исходно уровень этих факторов лимитирован, а активный синтез молекул происходит в соответствии с функциональной потребностью.

Все обследованные женщины (n=81) на этапе клинического исследования были разделены на 3 группы, согласно группе перинатального риска по шкале Радзинского, исходу родов для плода по шкале Апгар, особенностями течения периода адаптации у новорождённых и степени гистологических изменений плаценты (Глава 3, Таблица 7).

На основании данных, представленных в таблице 7 данное разделение на группы считаем вполне корректным, позволяющим дать адекватную оценку изменения уровня изучаемых факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и

нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых.

4.1.1. Значения маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF- 1 β) в сыворотке пуповинной крови новорождённых

Изменение концентрации факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF- 1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых в исследуемых группах имела ряд особенностей (Рисунок 8).

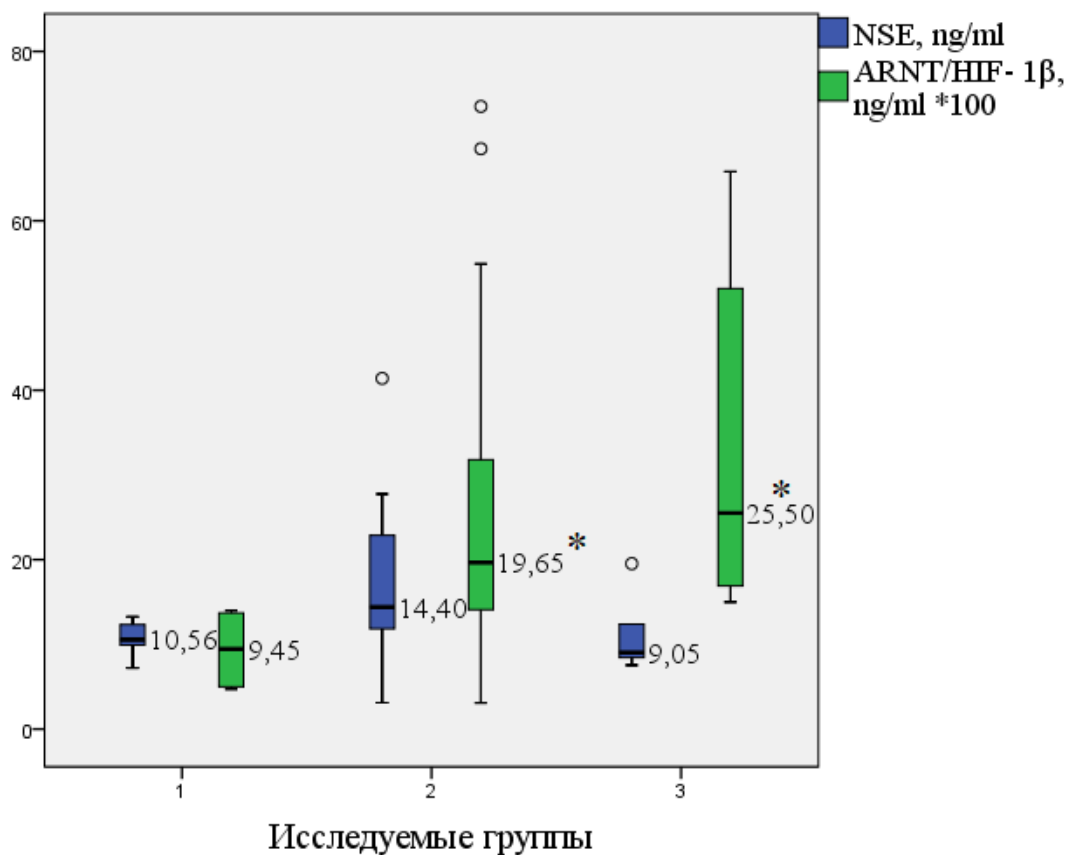


Рисунок 8 - Значения маркеров гипоксии NSE и ARNT/HIF- 1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых

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

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 8).

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. Следует отметить, что наличие или отсутствие существенных различий между группами в значениях NSE при увеличении факторов гипоксии не может в полной мере свидетельствовать о степени повреждения и нарушениях функций нейрональной сети на фоне увеличения гипоксия индуцированного фактора ARNT/HIF-1 β . Этот показатель может лишь свидетельствовать о степени разрушения нейронов в конкретный момент времени при заборе материала для исследования. Однако, в полной мере о реализации апоптоза, запущенного перенесённой гипоксией, уровень значения NSE в сыворотке пуповинной крови новорождённых к моменту рождения свидетельствовать не может.

Анализ взаимосвязей факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF-1 β с факторами перинатального риска по шкале Радзинского и соавт. представлен на рисунках 9 и 10.

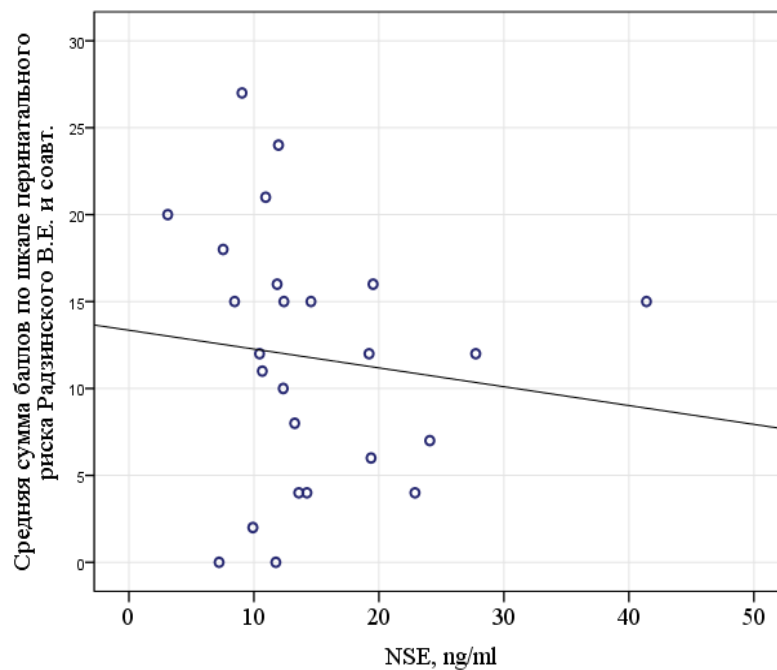


Рисунок 9 - Взаимосвязь уровня NSE в сыворотке пуповинной крови новорождённых с уровнем перинатального риска (шкала Радзинского В.Е. и соавт., 2011)

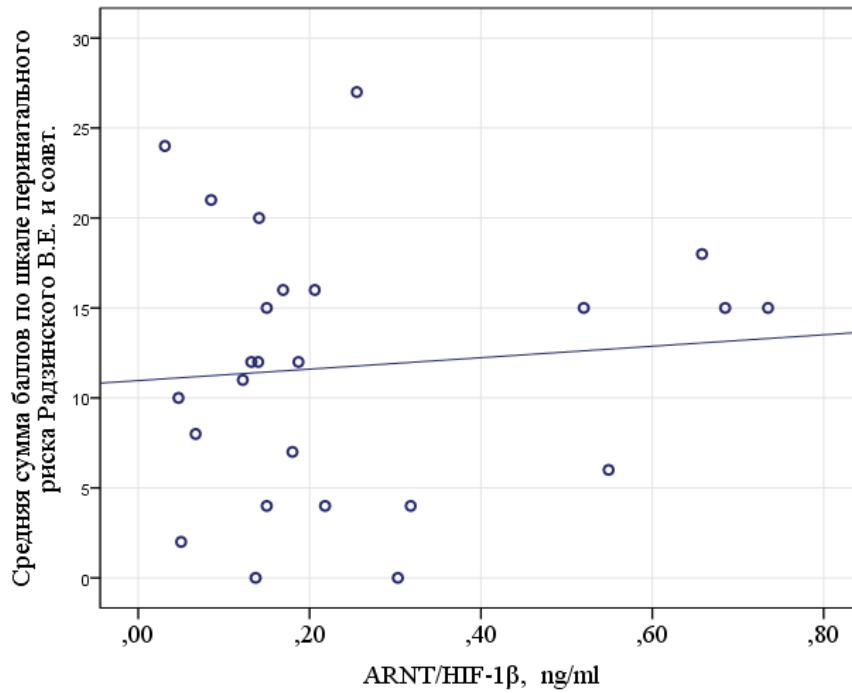


Рисунок 10 - Взаимосвязь уровня ARNT/HIF-1β в сыворотке пуповинной крови новорождённых с уровнем перинатального риска (шкала Радзинского В.Е. и соавт., 2011)

В группе низкого риска развития гипоксии плода (группа 1) в 100% случаев присутствовали женщины, у которых была низкая степень перинатального риска по шкале Радзинского. В группе умеренного риска (группа 2) в 55,1% случаев была низкая степень перинатального риска, в 42,9% средняя и в 2% высокая. В то же время в группе высокого риска развития гипоксии плода (группа 3) присутствовали пациенты с низким или высоким перинатальным риском в 30,8% случаев, умеренная степень перинатального риска отмечена у 38,5% пациенток (Рисунок 11).

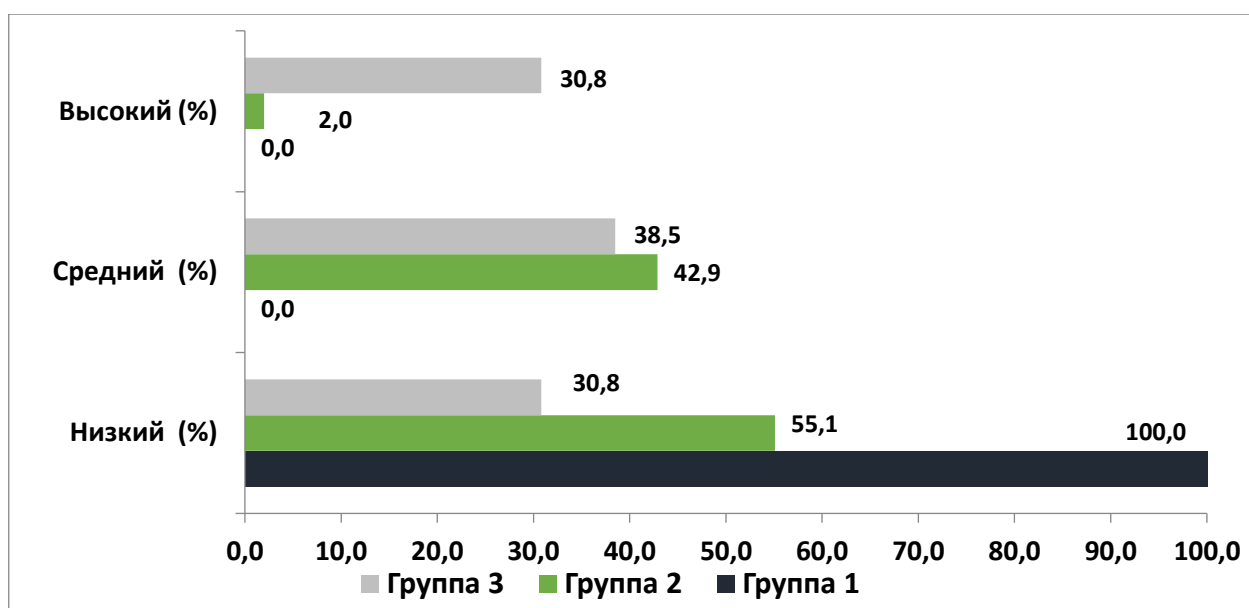


Рисунок 11 - Частота встречаемости различных степеней перинатального риска (шкала Радзинского В.Е. и соавт. 2011) в исследуемых группах

Однако, несмотря на значимое ($p < 0,05$) увеличение показателя степени перинатального риска между группами (Глава 3, Таблица 7) и существенное увеличение ($p < 0,05$) значения ARNT/HIF-1 β в сыворотке пуповинной крови новорождённых была выявлена слабая обратная корреляционная связь между маркерами гипоксии NSE ($\rho_{xy} = -0,194$; $p = 0,352$) и суммой баллов по шкале перинатального риска В.Е. Радзинского и соавт. Связь между ARNT/HIF-1 β и уровнем перинатального риска по Радзинскому В.Е. и соавт. ($\rho_{xy} = 0,047$; $p = 0,825$) не выявлена. С одной стороны, подобный характер связей может указывать на то, что наличие и увеличение степени факторов перинатального риска не обязательно приводит к их реализации. С другой стороны, увеличение уровня ARNT/HIF-1 β между группами указывает на то, что при любой степени перинатального риска могут развиваться повреждения у плода индуцированные гипоксией, влекущие за собой неблагоприятный исход и осложнения течения периода адаптации новорождённых. Подтверждением этому является тот факт, что в 3 группе в равной степени были представлены пациенты с разной степенью перинатального риска (Рисунок 11).

Анализ взаимосвязей факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF-1 β со степенью изменений в плаценте, исходом родов для плода и течением периода адаптации представлен на рисунках 12, 13, 14.

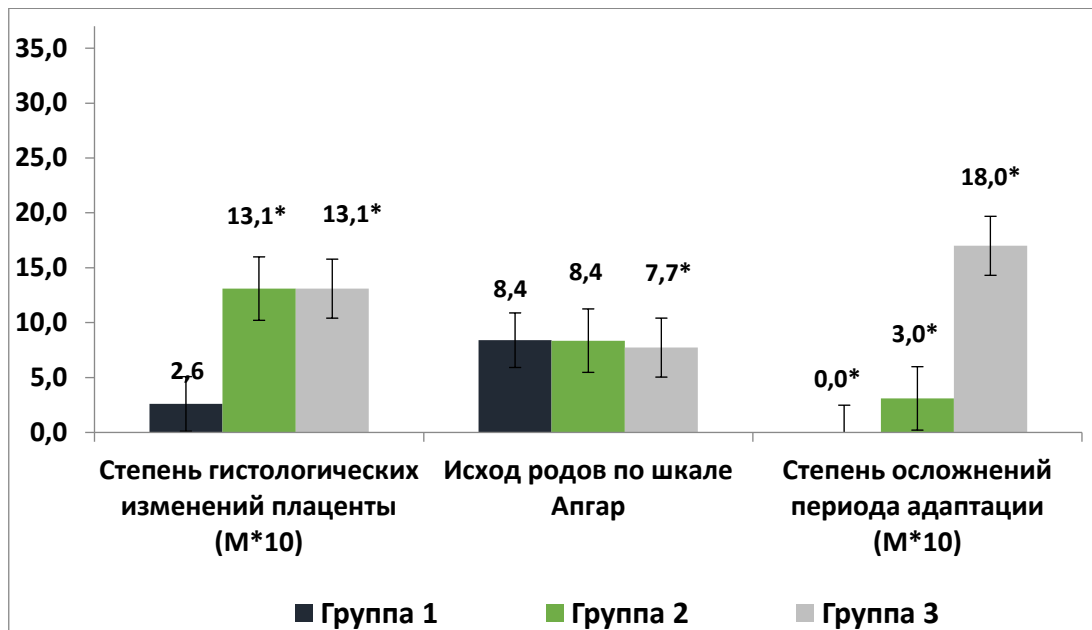


Рисунок 12 - Показатели степени исхода родов для плода, течения периода адаптации новорождённых и гистологических изменений в плаценте в зависимости от исследуемой группы.

* – различия показателей статистически значимы ($p < 0,05$), критерий Краскела-Уоллиса.

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. 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. Это может указывать

на равную степень повреждающего действия факторов, ассоциированных с гипоксией в этих группах (Рисунок 12).

Обращает на себя внимание, что на фоне значительного увеличения показателя ARNT/HIF-1 β во 2 и 3-й группах и равнозначных структурных отклонениях 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 ($p > 0,05$) (Рисунки 8, 12). 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 (Рисунок 12). 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 (Таблица 13).

Таблица 13 – Частота различных исходов родов для новорожденного в исследуемых группах

Исход родов для плода (Средний балл по шкале Апгар)	Группы			p
	I (n=19) Абс.(%)	II (n=49) Абс.(%)	III (n=13) Абс.(%)	
8-9 баллов	15 (78,9)	36 (73,5)	1 (7,7)	$P_{1-3}<0,001^*$ $P_{2-3}<0,001^*$
7-8 баллов	4 (21,1)	13 (26,5)	7 (53,8)	$P>0,05$
< 7 баллов	0 (0)	0 (0)	5 (38,5)	-

*- различия показателей статистически значимы ($p<0,05$), критерий χ^2 -

Пирсона с поправкой Холма

В работе произведен анализ взаимосвязей факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF- 1 β с гистологическим исследованием плаценты (Рисунок 13).

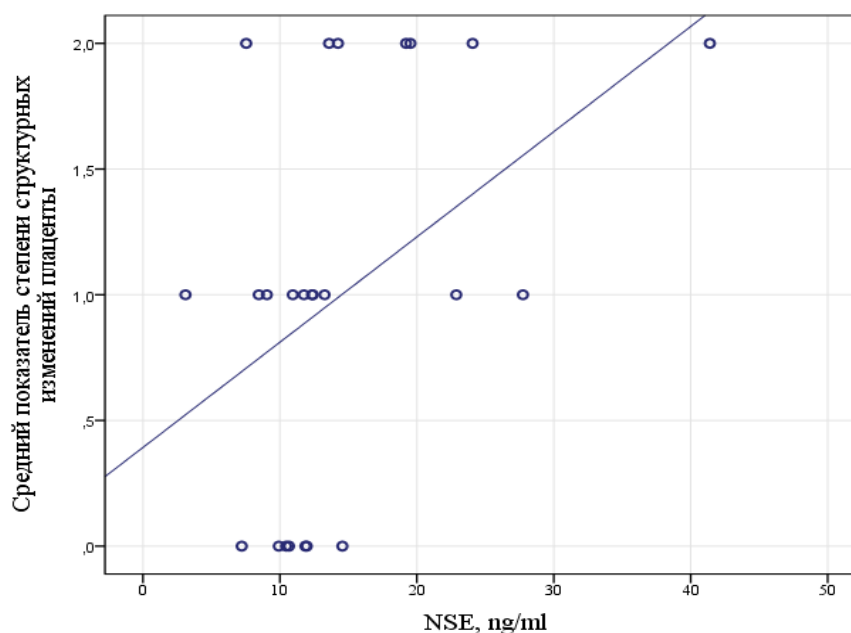


Рисунок 13 - Взаимосвязь между уровнем NSE в сыворотке пуповинной крови и степенью гистологических изменений в плаценте

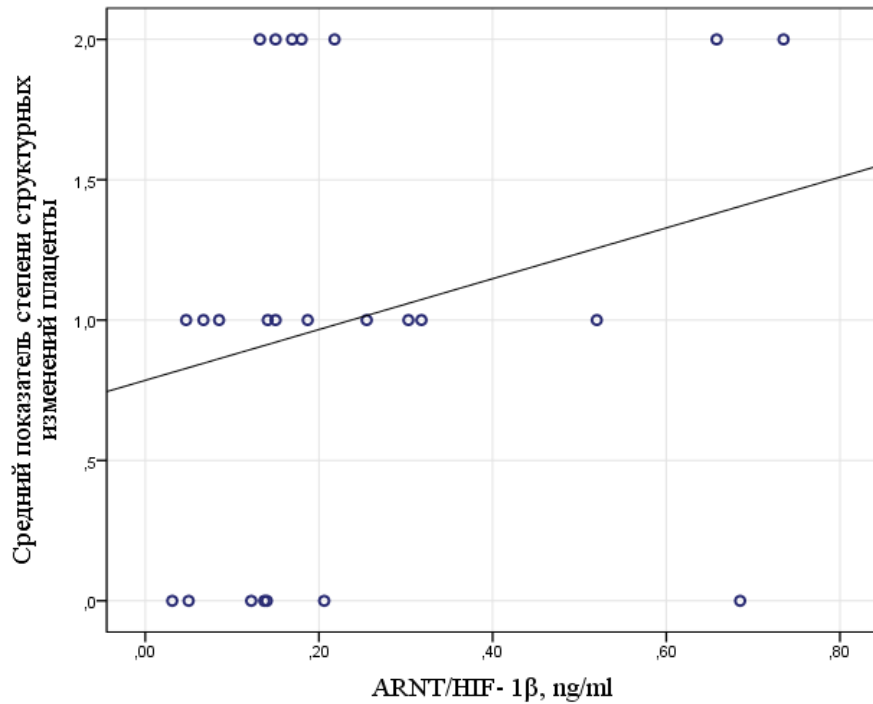


Рисунок 14 - Взаимосвязь между уровнем ARNT/HIF- 1β в сыворотке пуповинной крови и степенью гистологических изменений в плаценте

В ходе исследования установлено, что умеренные корреляционные связи факторов гипоксии NSE ($\rho_{xy}=0,45$; $p=0,028$) и ARNT/HIF-1β ($\rho_{xy}=0,34$; $p=0,110$) были обнаружены только со степенью гистологических изменений плаценты, что морфологически подтверждает реализацию факторов гипоксии во 2 и 3-й группах (Рисунки 13, 14). Здесь заметим, что статистически значимая корреляционная связь была выявлена только с уровнем NSE. Это, в первую очередь подтверждает то, что, ARNT/HIF-1β 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.

В свою очередь, анализ взаимосвязей факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF-1 β с исходом родов для плода, особенностями течения периода адаптации новорождённых выявил ряд особенностей. 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) ($p>0,05$). Отсутствие значимых корреляционных взаимосвязей между гуморальными маркерами гипоксии и исходом родов и течением периода адаптации новорождённых может свидетельствовать о том, что 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.

Учитывая полученные данные и выявленные взаимосвязи, установлено что наличие факторов перинатального риска не свидетельствует о их реализации как факторов гипоксии, а носит вероятностный характер. Наличие маркеров гипоксии в сыворотке пуповинной крови новорождённых указывает на реализацию факторов гипоксии, но не может свидетельствовать о неблагоприятном исходе родов для плода. Разный исход родов и течение периода адаптации в случае реализации факторов гипоксии указывает на наличие или отсутствие регулирующих механизмов, обеспечивающих гомеостаз нейронов плода и благоприятный исход родов, а также течение периода адаптации новорождённых при реализации стресс-факторов.

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

4.1.2. Значения нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых

Концентрация нейротрофических факторов BDNF и GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых среди исследуемых групп имела ряд особенностей (Рисунок 15).

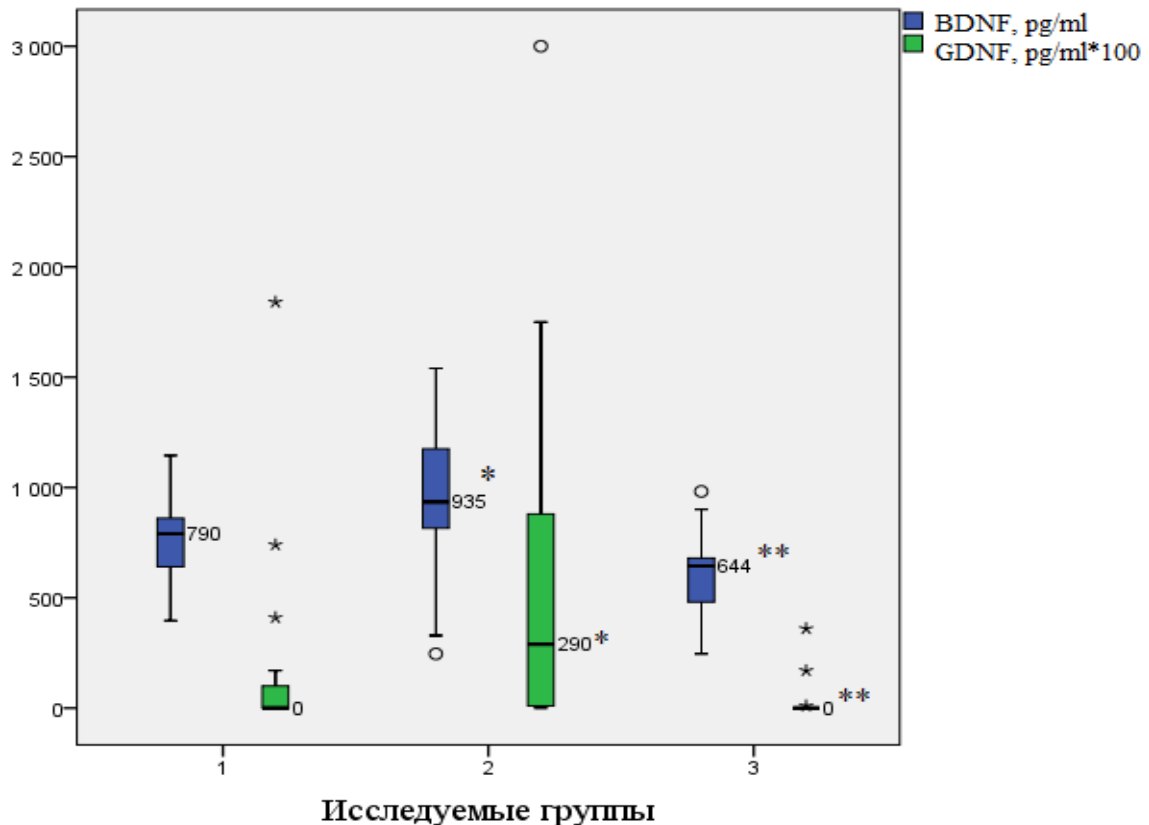


Рисунок 15 - Значения нейротрофических факторов BDNF, GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых

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

В группе умеренного риска по развитию гипоксии плода (группа 2) было отмечено статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение в сосудистом русле уровня мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) нейротрофического факторов по сравнению с 1 группой. В тоже время в группе высокого риска развития гипоксии плода (группа 3) отмечали снижение этих показателей, по сравнению

с 1 и 2-й группами и в большей степени глиального фактора (GDNF). В сравнении со 2-й группой снижение уровня BDNF и GDNF в 3-й группе носили выраженные и статистически значимые различия ($p < 0,001$), в то время как при сравнении с 1-й группой отмечалась только тенденция ($p > 0,05$) к снижению этих показателей.

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 15).

Среди исследуемых групп изменения концентраций мозгового (BDNF) и глиального (GDNF) факторов были аналогичными (Рисунок 15). Среднее значение уровня GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых в 1 группе составило $1,85 \pm 4,4$ pg/ml, медиана показателя 0 [0,0-1,0] 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 $0,41 \pm 1,06$ pg/ml, медиана показателя 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 15).

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 (Глава 3,

Таблица 7), то в этом случае значения показателей BDNF и GDNF можно принять как базовые. Уровень этих факторов, в сочетании с другими компенсаторно-приспособительными механизмами может поддержать гомеостаз нейронов плода во время родов как естественного процесса, в ходе которого, происходит реализация основного естественного стресс фактора для плода – акта родов. В этом случае в ходе успешной реализации компенсаторно-приспособительных механизмов обеспечен абсолютно благоприятный исход родов для плода и гладкое течение периода адаптации новорождённых.

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. Напомним, что во 2-й группе были сосредоточены женщины, у которых степень перинатального риска статистически значимо ($p=0,032$) выше, чем в 1-й группе, в то время как исход родов был абсолютно благоприятный (73,5% случаев) или положительный (26,5% случаев), были незначительные особенности течения периода адаптации, при том, что структурные изменения плаценты носили разный характер от начальных компенсаторно-приспособительных реакционных изменений до существенных структурных перестроек, свойственных длительной плацентарной недостаточности (Глава 3, Таблица 7).

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 (Глава 3, Таблица 7) 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 (Таблица 13). 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 ($p=0,878$; $p=0,969$). Из этого следует, 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 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 (Таблица 13). Это указывает на то, что компенсаторно-приспособительные механизмы реализованы не в полном объёме и нарушено равновесное состояние гомеостаза нейронов плода.

Проведен анализ корреляционных взаимосвязей нейротрофических факторов BDNF и GDNF с факторами перинатального риска по шкале Радзинского и соавт. Установлено, что BDNF и GDNF не имеют корреляционных связей с факторами перинатального риска в группах на этапе клинического исследования ($\rho_{xy}=0,038$ и $\rho_{xy}=-0,033$ соответственно). Это подтверждает данные, полученные в разделе 4.1.1, где описаны слабые корреляционные связи факторов гипоксии NSE и ARNT/HIF-1 β с факторами

перинатального риска (Рисунки 9, 10). Из этого следует, что наличие факторов перинатального риска как факторов гипоксии плода носит вероятностный характер. В то же время наличие или отсутствие факторов перинатального риска в полной мере не может отражать наличие или отсутствие реализации компенсаторно-приспособительных механизмов у плода и указывать на исход родов для плода, а также течение периода адаптации.

Проведен анализ корреляционных взаимосвязей нейротрофических факторов BDNF и GDNF со степенью изменений в плаценте, исходом родов для плода и течением периода адаптации. Показатель степени гистологических изменений плаценты во 2 и 3-й группах существенно ($p < 0,05$) отличался от 1-й группы, однако, в ходе исследования установлена слабая прямая корреляционная связь уровня GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых со степенью гистологических изменений плаценты ($\rho_{xy} = 0,112$; $p = 0,321$) (Рисунок 16) и отсутствие таковой со значением уровня BDNF ($\rho_{xy} = 0,081$; $p = 0,476$). В свою очередь отмечена также слабая прямая корреляционная связь концентрации GDNF с исходом родов для плода ($\rho_{xy} = 0,155$; $p = 0,166$) (Рисунок 17) и отсутствие таковой со значением уровня BDNF ($\rho_{xy} = 0,016$; $p = 0,890$).

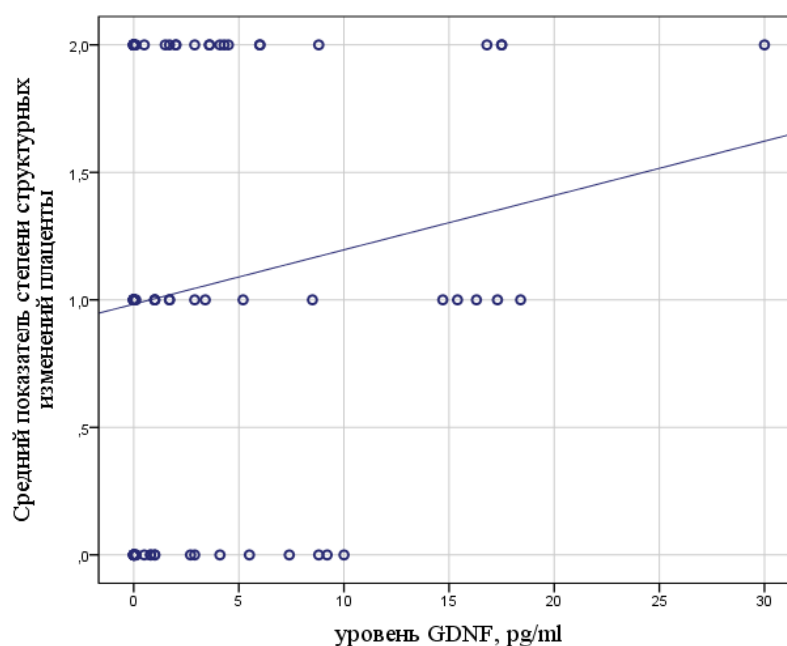


Рисунок 16 - Взаимосвязь между уровнем GDNF в сыворотке пуповинной крови и степенью гистологических изменений в плаценте.

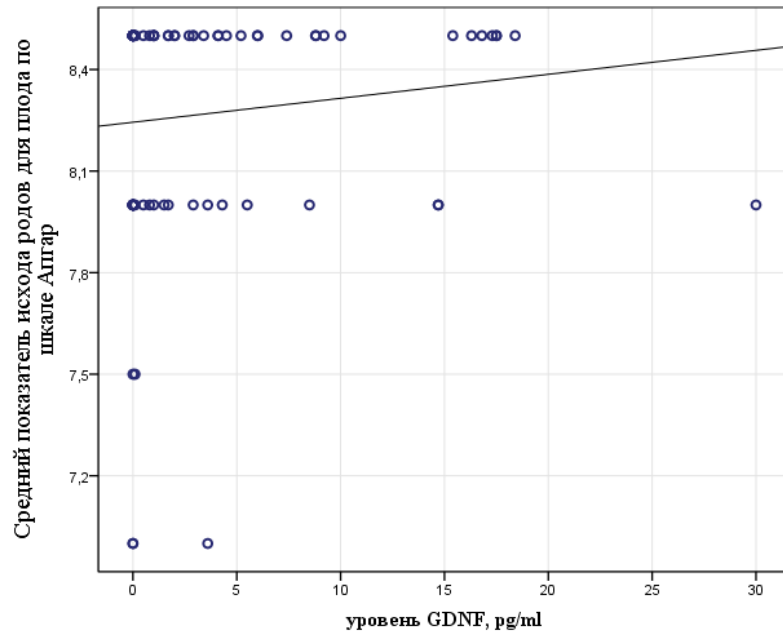


Рисунок 17 - Взаимосвязь между уровнем GDNF в сыворотке пуповинной крови и исходом родов для плода.

Наоборот, уровень значений BDNF в сыворотке пуповинной крови имеет обратную слабую корреляционную связь с течением периода адаптации ($\rho_{xy} = -0,100$; $p=0,375$) (Рисунок 18), в то время как уровень значений GDNF таковой не имеет ($\rho_{xy} = -0,054$; $p=0,633$).

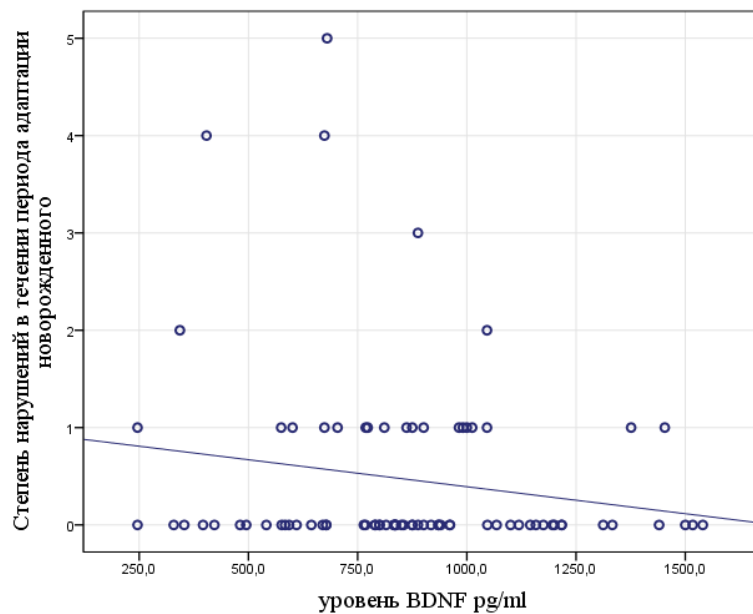


Рисунок 18 - Взаимосвязь между уровнем BDNF в сыворотке пуповинной крови и течением периода адаптации.

Это может свидетельствовать о разных точках приложения патогенетического действия этих факторов - GDNF и BDNF. Это подтверждается наличием статистически значимых отличий между течением периода адаптации в исследуемых группах (Рисунок 12, Глава 3, Таблица 7).

Подобные корреляционные связи могут косвенно указывать на то, что GDNF в большей степени обладает антигипоксическими свойствами и связан с реализацией таких факторов гипоксии, которые действуют в течение длительного периода времени, в результате которых могут сформироваться патоморфологические изменения плаценты, а BDNF реализуется там, где действуют кратковременные факторы гипоксии. В тоже время нейротрофин BDNF в большей степени влияет на функционирование нейрональной сети и ее пластичность, обеспечивая благоприятное течение периода адаптации после реализации стресс-факторов.

Полученные данные хорошо согласуются с исследованиями, проведенными ранее [42, 69], а отсутствие сильных и статистически значимых корреляционных связей при существенных различиях этих показателей ($p < 0,05$) между группами возможно связано с тем, что экспрессия нейротрофических факторов генетически обусловлена, что говорит о сильной индивидуальной специфичности. Более того, выработка нейротрофических факторов строго лимитирована и имеет тесную взаимосвязь со стадиями гибели нейронов при действии стресс-факторов. Слабые связи могут указывать на то, что помимо экзогенной (внеклеточной) регуляции в поддержании гомеостаза нейронов участвуют внутриклеточные антиапоптотические механизмы, которые были запущены ARNT/HIF-1 β . Индивидуальная специфичность наряду со строго лимитированной экспрессией нейротрофических факторов, а также эндогенные механизмы регуляции гомеостаза нейронов обеспечивают большую вариабельность значений.

Таким образом, в ходе исследования было установлено, что в ответ на действие факторов гипоксии, которое сопряжено со структурными

изменениями плаценты происходит повышение уровня молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF, что в 73,5% случаев обеспечивает абсолютно благоприятный исход родов для плода и гладкое течение периода адаптации. В случае недостаточного синтеза нейротрофинов абсолютно благоприятный исход родов возможен только в 7,7% случаев (Таблица 13), а у новорождённых наблюдаются осложнения периода адаптации.

4.1.3. Взаимосвязи маркеров гипоксии плода (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых

Описанное в разделах 4.1.1 и 4.1.2 изменение уровня гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) и их взаимосвязи с факторами перинатального риска, степенью структурных изменений плаценты, исходом родов для плода, а также течением периода адаптации новорождённых указывает на наличие компенсаторно-приспособительных механизмов в случае реализации стресс-факторов. В ходе анализа было показано, что в поддержании гомеостаза нейронов плода и благоприятного исхода родов в случае реализации факторов гипоксии, не малая роль принадлежит нейротрофическим факторам BDNF и GDNF. В свою очередь анализ взаимосвязей маркеров гипоксии плода и нейротрофических факторов в большей степени может раскрыть патогенетические механизмы этой компенсации (Рисунки 19, 20, 21).

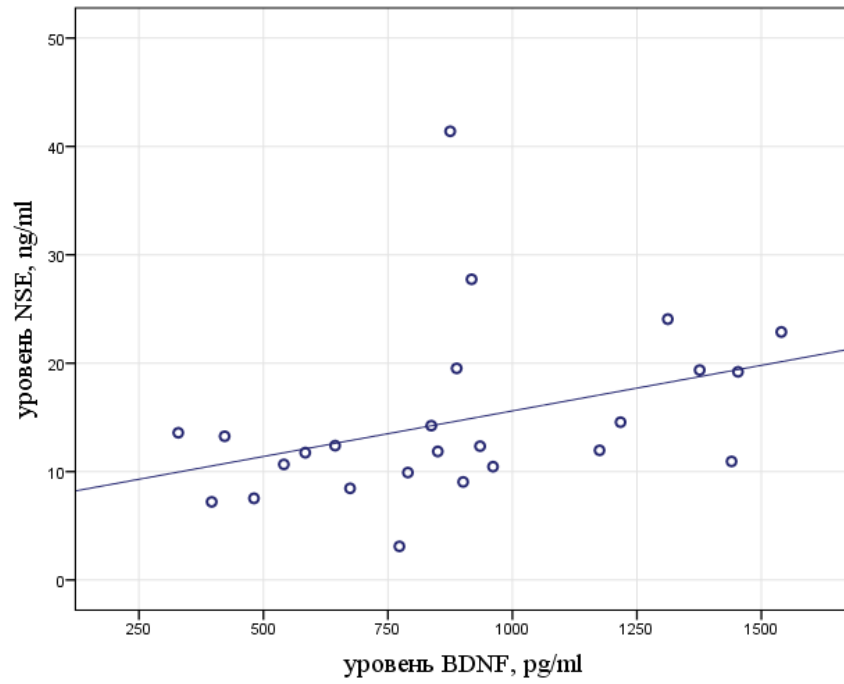


Рисунок 19 - Взаимосвязь между уровнями BDNF и NSE в сыворотке пуповинной крови

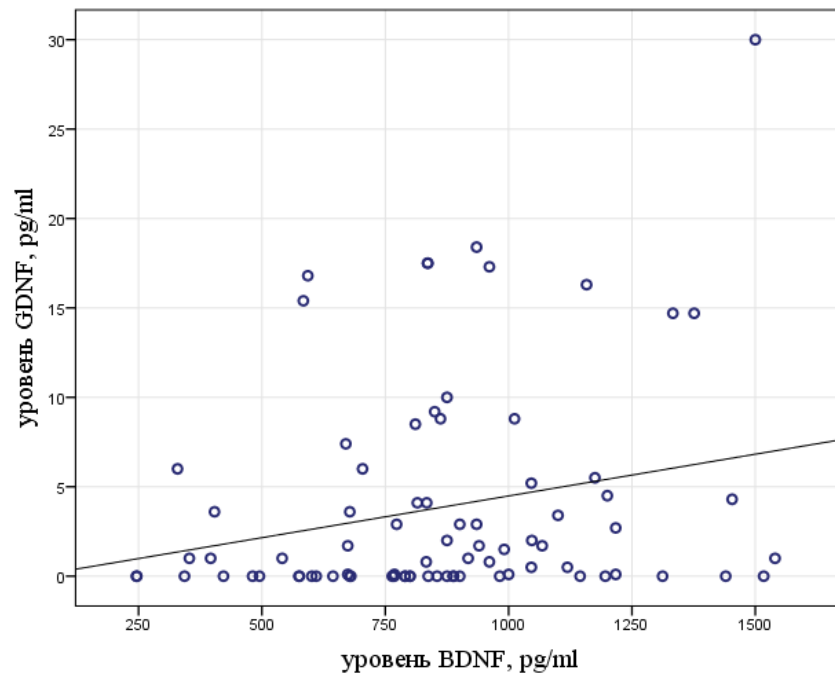


Рисунок 20 - Взаимосвязь между уровнями BDNF и GDNF в сыворотке пуповинной крови

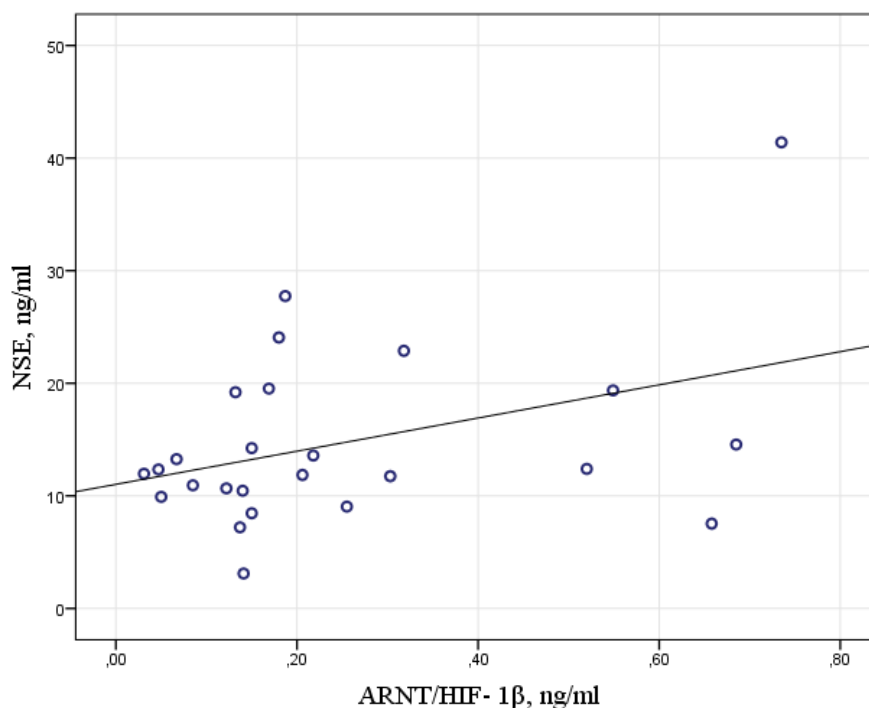


Рисунок 21 - Взаимосвязь между уровнями NSE и ARNT/HIF- 1β в сыворотке пуповинной крови

В группе умеренного риска по развитию гипоксии плода (группа 2) отмечают одинаковые тенденции увеличения факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) причём все значения имеют статистически значимые ($p < 0,05$) различия, за исключением концентрации NSE. В тоже время, в группе высокого риска (группа 3) при реализованных факторах гипоксии, аналогичных 2-й группе, снижается уровень нейротрофических факторов BDNF, и особенно GDNF. Несмотря на то, что снижение BDNF и GDNF не носит статистически значимых различий по сравнению с 1-й группой исход родов для плода и течение периода адаптации новорождённых заметно ухудшаются. В этом случае число случаев абсолютно благоприятного исхода родов для плода не превышает 7,7% (Таблица 13).

Полученные взаимосвязи в совокупности с данными описанными в п. 4.1.1 и 4.1.2 указывают на то, что в случае реализации факторов гипоксии компенсаторно-приспособительные механизмы у плода проходят с участием

нейротрофических факторов BDNF и GDNF, обеспечивающих благоприятный исход родов и течения периода адаптации новорождённых.

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 ($\rho_{xy}=0,476$; $p=0,016$). В тоже время отсутствовали корреляционные взаимосвязи между GDNF и NSE ($\rho_{xy}=0,111$; $p=0,596$), а также между нейротрофическими факторами (BDNF, GDNF) и фактором гипоксии ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=0,005$; $\rho_{xy}=0,059$; $p>0,05$).

Наличие и отсутствие корреляционных связей в этих случаях объясняется эндогенными и экзогенными механизмами регуляции гомеостаза нейронов.

В ответ на действие повреждающего агента в ЦНС и увеличение уровня глутамата происходит активация фосфолипазы C и выработка эндоканнабиноидов, которые способны влиять на проницаемость каналов в постсинаптической мембране. В свою очередь активация эндоканнабиноидной системы ведёт к увеличению синтеза BDNF. Связывание BDNF с тирозинкиназным рецептором инициирует внутриклеточные каскады, которые способствуют локальному увеличению кальциевых токов и торможению последствий эксайтотоксического действия глутамата. Таким образом, 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 эндоканнабиноидная система плода, которая ведёт к увеличению синтеза BDNF. В этом случае в периферическом кровотоке будет увеличиваться как уровень NSE, так и уровень BDNF.

В то время, как BDNF является рецепторным нейтрофином, то GDNF способен влиять на гомеостаз клеток, лишённых рецепторов к нему. В ответ на разрушение нейронов и завершения его апоптоза, начинается рост глиальных клеток, что сопровождается повышенным синтезом GDNF. Глиальный нейротрофический фактор, не имея рецепторов на мембране

нейронов, действует опосредовано. Он обладает более выраженным антигипоксическим эффектом для предотвращения дальнейшего апоптоза. Внеклеточные сигнальные механизмы GDNF связаны не только с влиянием на апоптотические процессы, но и на выработку эндоканнабиноидов, путём образования активного GDNF-GFL-RET (лиганд-рецепторного) комплекса способного влиять на активность фосфолипазы C. Таким образом, исходя из механизма действия молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF следует, что тесных корреляционных связей между GDNF и NSE может и не быть, а скорее следует ожидать корреляционные связи между GDNF и уровнем фосфолипазы C.

Полагаем, что отсутствие корреляционных взаимосвязей между гипоксия-индуцированным фактором ARNT/HIF-1 β и нейротрофическими факторами обусловлено тем, что ARNT/HIF-1 β является ранним маркёром гипоксии, который запускает внутриклеточные антиапоптотические механизмы и может не иметь тесных связей с молекулами внеклеточной регуляции нейрональной сети. Следует отметить, что ARNT/HIF-1 β имеет неоднозначную роль в регуляции гомеостаза клетки в условиях гипоксии, и механизмы этой регуляции недостаточно изучены. Ряд исследователей в экспериментальных работах на клеточных линиях продемонстрировали способность увеличения экспрессии ARNT/HIF-1 β в ответ на гипоксическое воздействие [180, 222], и мы в своей работе видим стойкий тренд к увеличению этого фактора гипоксии при увеличении факторов перинатального риска и их реализации, которые сопряжены со структурными изменениями плаценты. Свидетельством того, что ARNT/HIF-1 β является ранним маркёром гипоксии, является умеренная корреляционная связь между ARNT/HIF-1 β и NSE ($\rho_{xy}=0,331$; $p=0,106$). Отметим, что не каждая гипоксия приводит к гибели нейронов, в то время как активация эндоканнабиноидной системы с увеличением синтеза BDNF наступает при увеличении концентрации глутамата, что соответствует поздним стадиям апоптоза. Поэтому корреляционные связи нейротрофических факторов в данном случае

возможны с маркерами, возникающими на поздних стадиях апоптоза или на этапе полной гибели клетки, сопровождающейся выходом NSE. 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.

На основании проведённых исследований и выявленных взаимосвязей можно сделать следующее заключение:

- наличие факторов перинатального риска не свидетельствует о их реализации как факторов гипоксии и носит вероятностный характер;
- наличие маркеров гипоксии в сыворотке пуповинной крови новорождённых указывает на реализацию факторов гипоксии, но не может свидетельствовать о неблагоприятном исходе родов для плода;
- разный исход родов и течение периода адаптации в случае реализации факторов гипоксии указывает на наличие или отсутствие компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих гомеостаз нейронов плода и благоприятный исход родов, а также течение периода адаптации новорождённых;
- концентрация нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) имеет взаимосвязи со степенью структурных изменений плаценты и поздними

маркерами апоптоза (NSE), которые свидетельствуют о длительном воздействии повреждающих факторов.

- нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) играют важную роль в компенсаторно-приспособительных механизмах плода и течении периода адаптации.

4.2. Взаимосвязи маркеров гипоксии плода и нейротрофических факторов в сыворотке пуповинной крови новорождённых с особенностями течения беременности, родов, наличием патологических паттернов при инструментальных методах исследования

Одной из задач данного исследования является выявление взаимосвязей маркеров гипоксии и уровней нейротрофических факторов в сыворотке пуповинной крови новорождённых с инструментальными методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов.

В разделе 4.1.1. описано изменение уровня значений гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и показаны взаимосвязи этих значений с основными данными групп, которые легли в основу их разделения (степень перинатального риска по Радзинскому, степень структурных изменений плаценты, исход родов для плода при рождении и течение периода адаптации). Здесь следует отметить, что в ходе анализа заметные корреляционные связи факторов гипоксии NSE ($\rho_{xy}=0,449$; $p=0,028$) и ARNT/HIF ($\rho_{xy}=0,335$; $p=0,110$) были обнаружены только со степенью гистологических изменений плаценты, что подтверждает реализацию факторов гипоксии во 2 и 3-й группах. Взаимосвязи BDNF и GDNF с основными факторами, которые легли в основу разделения групп, описанные в разделе 4.1.2, указывают на реализацию компенсаторно-приспособительных механизмов у плода с участием молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети. В тоже время взаимосвязи между BDNF, GDNF и гуморальными факторами гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) указывают на патогенетические механизмы поддержания гомеостаза нейронов плода.

В связи с этим анализ взаимосвязей не только молекул внеклеточной регуляции (BDNF, GDNF), но и гуморальных факторов гипоксии с данными анамнеза, особенностями течения беременности и родов представляется крайне интересным.

4.2.1. Взаимосвязи маркеров гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов

Анализ корреляционных связей гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с основными антропометрическими данными представлен в таблице 14.

Из данных представленных в таблице 14 следует, что NSE имеет слабую обратную корреляционную связь с возрастом ($\rho_{xy}=-0,150$) и прямую слабую корреляционную связь с ИМТ ($\rho_{xy}=0,147$), при этом корреляционная связь с общей прибавкой веса за беременность не была выявлена ($\rho_{xy}<0,1$). Следует отметить, что ARNT/HIF-1 β имеет слабые разнонаправленные корреляционные связи с возрастом ($\rho_{xy}=0,111$), ИМТ ($\rho_{xy}=-0,154$) и общей прибавкой веса во время беременности ($\rho_{xy}=-0,252$). Необходимо отметить, что выявленные корреляционные связи были статистически не значимы ($p>0,05$).

Таблица 14 – Взаимосвязи гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с основными антропометрическими данными

Показатель	NSE (ρ_{xy})	p	ARNT/HIF- 1 β (ρ_{xy})	p
Возраст	-0,150	0,476	0,111	0,599
ИМТ	0,147	0,483	-0,154	0,463
Прибавка веса за беременность	0,079	0,708	-0,252	0,224

В ходе работы проведён анализ взаимосвязей гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с анамнестическими факторами риска развития осложнений беременности и родов у пациенток клинического исследования (Таблица 15).

Таблица 15 – Взаимосвязи гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) с анамнестическими факторами риска развития осложнений беременности и родов у пациенток на этапе клинического исследования

Показатель	NSE (ρ_{xy})	p	ARNT/HIF- 1 β (ρ_{xy})	p
Семейное положение	-0,311	0,130	-0,057	0,788
Паритет	-0,011	0,958	-0,178	0,395
Отягощённая наследственность	0,123	0,559	0,164	0,435
Отягощённый акушерско-гинекологический анамнез	0,178	0,396	0,167	0,426

В результате анализа удалось установить, что уровень NSE имеет умеренную обратную корреляционную связь с семейным положением женщин ($\rho_{xy}=-0,311$; $p=0,130$) и слабую прямую корреляционную связь с отягощенной наследственностью ($\rho_{xy}=0,123$; $p=0,559$) и ОАГА ($\rho_{xy}=0,178$; $p=0,396$). В то же время ARNT/HIF-1 β не имеет корреляционных связей с семейным положением, но имеет слабую обратную корреляционную связь с паритетом ($\rho_{xy}= -0,178$; $p=0,395$), а также слабые прямые связи с отягощенной наследственностью ($\rho_{xy}= 0,164$; $p=0,435$) и ОАГА ($\rho_{xy}= 0,167$; $p=0,426$).

Подобные взаимосвязи указывают на то, что женщины с неблагоприятным семейным положением, отягощенным акушерско-гинекологическим или наследственным анамнезом в большей степени подвержены реализации факторов гипоксии, которые завершаются гибелью клетки, в то время как у повторнородящих женщин чаще наблюдаются ранние маркёры гипоксии и соответственно лучше реализуются компенсаторные механизмы во время беременности.

Отметим, что все выявленные корреляционные связи не имели статистической значимости, что может указывать на то, что подобные факторы, осложняющие беременность и роды, носят вероятностный характер как факторы реализации гипоксии.

Выявить корректные корреляционные взаимосвязи факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с экстрагенитальными заболеваниями не представляется возможным, так как имелось малое число наблюдений в каждом случае заболевания ($n < 6$). Однако, при анализе данных о наличии экстрагенитальной патологии у женщин, без учёта нозологической формы ($n=14$), была показана умеренная прямая корреляционная связь с NSE ($\rho_{xy}=0,268$; $p=0,104$) и слабая обратная корреляционная связь с ARNT/HIF- 1 β ($\rho_{xy}=-0,156$; $p=0,455$). Это указывает на то, что экстрагенитальная патология вносит свой вклад в реализацию факторов гипоксии во время беременности и в родах. Однако, реализация факторов гипоксии, связанная с экстрагенитальной патологией, тоже носит вероятностный характер. Статистически значимое число наблюдений для данного корреляционного анализа ($n=6$) отмечали среди заболеваний почек и щитовидной железы (Таблица 16).

В ходе анализа установлено, что NSE имеет слабую прямую корреляционную связь с заболеваниями почек ($\rho_{xy}=0,250$; $p=0,229$), в то время как ARNT/HIF-1 β – умеренную ($\rho_{xy}=0,347$; $p=0,089$). Также слабые разнонаправленные корреляционные связи имеет NSE и ARNT/HIF- 1 β с заболеваниями щитовидной железы ($\rho_{xy}=0,247$; $\rho_{xy}=-0,104$ соответственно).

Таблица 16 – Взаимосвязи гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF- 1 β) с экстрагенитальными заболеваниями у пациенток на этапе клинического исследования

Экстрагенитальные заболевания	NSE (ρ_{xy})	p	ARNT/HIF- 1 β (ρ_{xy})	p
Заболевания почек ($n=6$)	0,250	0,229	0,347	0,089
Заболевания ЩЖ ($n=6$)	0,247	0,234	-0,104	0,621

Корректный анализ с особенностями течения беременности, родов, особенностями родоразрешения, а также инструментальными методами исследования не представляется возможным ввиду малого числа наблюдений в каждом случае ($n < 6$). Общее число осложнений в течении беременности

имеет слабую прямую корреляционную связь с NSE ($\rho_{xy}=0,159$; $p=0,449$) и слабую обратную корреляционную связь ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=-0,102$; $p=0,628$). Среди наиболее часто встречающихся осложнений беременности была хроническая плацентарная недостаточность (по данным гистологического исследования плаценты), с ней была обнаружена слабая корреляционная связь у NSE ($\rho_{xy}=0,155$; $p=0,458$), а с ARNT/HIF-1 β связь отсутствовала ($\rho_{xy}=-0,022$; $p=0,916$). Между гуморальными факторами гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и особенностями течения родов и родоразрешения не было выявлено корреляционных связей, также не было выявлено связи между изучаемыми факторами гипоксии и инструментальными методами исследования состояния плода. Отсутствие корреляционных связей в этом случае связано с тем, что в выборке было небольшое число наблюдений интересующих нас состояний, на основании которых невозможно дать корректный анализ корреляционных связей.

Таким образом, мы установили, что NSE и ARNT/HIF-1 β имеют слабые или умеренные корреляционные связи с факторами риска развития гипоксии во время беременности и в родах, не имеющие статистической значимости, что говорит о вероятностном характере взаимодействия между событиями. Наличие фактора, ассоциированного с гипоксией, не означает его реализацию, а может быть реализовано в зависимости от фактора с большей или меньшей вероятностью. Полученные данные подтверждают результаты, описанные в разделе 4.1.1 главы 4, где указано, что, несмотря на статистически значимое увеличение степени перинатального риска по шкале Радзинского между группами и тенденцию к увеличению NSE, а также существенное увеличение ARNT/HIF-1 β , имелись слабые корреляционные связи между ними. Здесь следует отметить, что заметные и умеренные корреляционные связи NSE и ARNT/HIF-1 β наблюдали только со структурными изменениями плаценты, что говорит о реализации компенсаторно-приспособительных механизмов в ответ на действие гипоксии, которое имеет отражение на микроскопическом и макроскопическом уровне.

На основании проведённого анализа следует отметить, что наличие факторов, ассоциированных с гипоксией в анамнезе, антропометрических данных, течении беременности, родов, особенностях родоразрешения, инструментальных методах исследования состояния плода (что отражает факторы перинатального риска) не означает их реализацию, а носят вероятностный характер в большей или меньшей степени, в зависимости от фактора.

В виду отсутствия устойчивых корреляционных взаимосвязей факторов ассоциированных с гипоксией с ранними (ARNT/HIF-1 β) и поздними (NSE) маркерами гипоксии, и нет возможности указать какие именно факторы могут быть решающими, то суммарное представление различных факторов ассоциированных с гипоксией, выражающиеся в степени перинатального риска по шкале Радзинского в сочетании с инструментальными методами исследования состояния плода, на сегодняшний день является наиболее обоснованными в диагностике гипоксических состояний плода. Однако, отметим, что степень перинатального риска и отклонения в инструментальных методах исследования также носят вероятностный характер как для развития самой гипоксии у плода, так и течения периода адаптации новорождённых.

4.2.2. Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых с методами диагностики состояния плода, особенностями течения беременности и родов

Анализ взаимосвязей нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с основными антропометрическими данными представлен в таблице 17.

Таблица 17 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с основными антропометрическими данными на этапе клинического исследования

Показатель	BDNF (ρ_{xy})	p	GDNF (ρ_{xy})	p
Возраст	-0,018	0,870	-0,035	0,758
ИМТ	-0,005	0,965	-0,030	0,791
Прибавка веса за беременность	-0,081	0,472	-0,131	0,245

Из данных представленных в таблице 17 следует, что GDNF имеет слабую обратную корреляционную связь с прибавкой веса во время беременности ($\rho_{xy}=-0,131$; $p=0,245$). Следует отметить, что фактор гипоксии ARNT/HIF-1 β также имеет слабую обратную корреляционную связь с общей прибавкой веса во время беременности ($\rho_{xy}=-0,252$).

Однако, стоит отметить, что полученные корреляционные взаимосвязи были статистически не значимыми.

Изучение взаимосвязей данных анамнеза с нейротрофическими факторами BDNF и GDNF выявил ряд особенностей (Таблица 18).

При изучении корреляционных взаимосвязей BDNF были выявлены слабая прямая взаимосвязь с паритетом ($\rho_{xy} = 0,117$; $p=0,299$), отягощенной наследственностью ($\rho_{xy} = 0,100$; $p=0,373$) и слабая обратная взаимосвязь с ОАГА ($\rho_{xy}=-0,103$; $p=0,359$), а значения GDNF образовывали слабую обратную связь с семейным положением женщин ($\rho_{xy} = -0,113$; $p=0,315$), а также слабую, обратную связь с отягощённым акушерско-гинекологическим анамнезом ($\rho_{xy} = -0,158$; $p=0,160$).

Таблица 18 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с анамнестическими факторами риска развития осложнений беременности и родов у пациенток клинического исследования

Показатель	BDNF (ρ_{xy})	p	GDNF (ρ_{xy})	p
Семейное положение	0,044	0,697	-0,113	0,315
Паритет	0,117	0,299	-0,078	0,489
Отягощённая наследственность	0,100	0,373	-0,047	0,676
Отягощённый акушерско-гинекологический анамнез	-0,103	0,359	-0,158	0,160

Следует отметить, что полученные корреляционные связи без статистически значимых различий указывают лишь на низкую вероятность связанных событий. В случае реализации этих факторов, как факторов

гипоксии компенсаторные реакции организма плода проходят без увеличения синтеза нейротрофических факторов.

Анализ корреляционных взаимосвязей нейротрофических факторов BDNF и GDNF с экстрагенитальными заболеваниями показал слабую, но статистически значимую прямую корреляционную связь BDNF с наличием экстрагенитальных заболеваний у обследованных пациенток ($\rho_{xy}=0,243$; $p=0,030$) (Таблица 19).

Таблица 19 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с экстрагенитальными заболеваниями

Экстрагенитальные заболевания	BDNF (ρ_{xy})	p	GDNF (ρ_{xy})	p
Заболевания почек (n=18)	0,157	0,163	0,140	0,213
Заболевания ЩЖ (n= 9)	0,172	0,124	-0,058	0,607
Анемия (n= 8)	0,015	0,894	-0,046	0,680
ИМВП (n=7)	-0,114	0,312	0,020	0,857
Заболевания органов дыхания (n=10)	0,052	0,644	-0,074	0,509
Заболевания ЖКТ (n=15)	0,070	0,532	0,005	0,963
Заболеваемость в целом (n=41)	0,243	0,030	0,031	0,783

В ходе анализа концентрации нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с общим уровнем гинекологической заболеваемости корреляционные взаимосвязи установлены не были ($\rho_{xy}= 0,035$; $p=0,755$; $\rho_{xy}= 0,095$; $p=0,399$). При рассмотрении отдельных гинекологических заболеваний выявлена слабая прямая корреляционная связь GDNF с кистами яичников ($\rho_{xy} = 0,114$; $p=0,310$), а также слабая обратная корреляционная связь GDNF с неспецифическим вагинитом ($\rho_{xy} = -0,122$; $p=0,278$) (Таблица 20). Полагаем, что выявить корректные корреляционные взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с гинекологическими заболеваниями не представляется возможным ввиду малого числа наблюдений в каждом случае конкретного

заболевания ($n < 6$). Этот вопрос требует дополнительного набора данных и исследований в этом направлении.

Таблица 20 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с гинекологическими заболеваниями

Гинекологические заболевания	BDNF (ρ_{xy})	р	GDNF (ρ_{xy})	р
Кисты яичников (n=7)	-0,086	0,447	0,114	0,310
Неспецифический вагинит (n= 6)	-0,036	0,748	-0,122	0,278
Заболеваемость в целом (n= 30)	0,035	0,755	0,095	0,399

В ходе работы были оценены корреляционные взаимосвязи уровня нейротрофических факторов и осложненного течения беременности (Таблица 21).

Таблица 21 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с осложнениями течения беременности у пациенток на этапе клинического исследования

Показатель	BDNF (ρ_{xy})	р	GDNF (ρ_{xy})	р
Угроза выкидыша (n= 5)	-0,058	0,604	-0,046	0,681
Хроническая плацентарная недостаточность, по данным гистологического исследования (n= 34)	-0,004	0,973	-0,038	0,738
Острые инфекционные заболевания во время беременности (n= 7)	0,177	0,115	0,091	0,417
Осложнения в целом (n=41)	0,066	0,556	0,035	0,755

Анализ корреляционных взаимосвязей нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с осложнениями течения беременности у пациенток на этапе клинического исследования показал наличие слабой прямой корреляционной связи BDNF с острыми инфекционными заболеваниями во время беременности ($\rho_{xy}=0,177$; $p=0,115$) (Таблица 20). Других взаимосвязей установлено не было.

Отсутствие корреляционных связей нейротрофических факторов с общим количеством осложнений течения беременности и слабая прямая, статистически не значимая, корреляционная связь с NSE ($\rho_{xy}=0,159$; $p=0,449$) указывают, что рассматриваемые клинические состояния могут не сопровождаться развитием выраженных гипоксических состояний и соответственно не требуют реализации компенсаторно- приспособительных механизмов плода с участием молекул внеклеточной регуляции гомеостаза нейронов.

При выполнении работы нами были проанализированы взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с осложнениями родов и особенностями родоразрешения (Таблица 22).

Таблица 22 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с осложнениями родов и особенностями родоразрешения

Показатель	BDNF (ρ_{xy})	p	GDNF (ρ_{xy})	p
Длительный безводный промежуток (> 18 часов) (n= 10)	0,027	0,812	-0,126	0,261
Родовозбуждение (n=15)	0,048	0,669	0,154	0,170
Осложнения в целом (n= 31)	-0,036	0,751	-0,033	0,770

Слабые обратные корреляционные связи глиального нейротрофического фактора GDNF установлены с продолжительностью безводного периода ($\rho_{xy}=-0,126$; $p=0,261$). В то же время, у пациенток с использованием родовозбуждения чаще встречалась повышенная концентрация GDNF, на что указывает слабая прямая корреляционная связь ($\rho_{xy}=0,154$; $p=0,170$) (Таблица 22). Следует отметить, что не было установлено взаимосвязей осложнений родов, особенностей родоразрешения, встречающихся на этапе клинического исследования с мозговым нейротрофическим фактором BDNF.

Обратная корреляционная связь GDNF с длительностью безводного промежутка указывает на то, что при увеличении безводного промежутка способность к выработке глиального фактора снижается. Однако, отсутствие

взаимосвязей маркёров гипоксии с данными осложнениями родов и особенностями родоразрешения наряду со слабыми корреляционными связями GDNF с продолжительностью безводного промежутка и родовозбуждением возможно указывают на то, что эти осложнения могут не сопровождаться выраженными гипоксическими осложнениями и соответственно не требовать выработки молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети.

Обнаружены статистически значимые корреляционные связи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с наличием патологических паттернов при инструментальных методах исследования (Таблица 23).

Мозговой нейротрофический фактор BDNF имеет слабую, но статистически значимую, обратную корреляционную связь с доплерометрией ($\rho_{xy}=-0,234$; $p=0,048$), а GDNF имеет слабую прямую корреляционную связь с общим количеством отклонений в инструментальных методах обследования (выявленных при проведении УЗИ-скринингов, КТГ и доплерометрии) ($\rho_{xy}=0,200$; $p=0,073$).

Таблица 23 – Взаимосвязи нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) с отклонениями в инструментальных методах обследования состояния плода

Показатель	BDNF (ρ_{xy})	p	GDNF (ρ_{xy})	p
УЗИ скрининг 2 триместр (n= 9)	0,075	0,508	0,088	0,433
УЗИ скрининг 3 триместр (n=10)	0,019	0,896	0,170	0,128
КТГ	-0,055	0,629	0,001	0,990
Допплерометрия (n= 6)	-0,234	0,048*	0,046	0,685
Отклонения в целом (n= 22)	-0,026	0,816	0,200	0,073

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

У женщин с наличием отклонений при доплерометрии (нарушения I A степени) концентрация BDNF снижена, в то время как синтез GDNF увеличивается в случае анализа данных общих отклонений в инструментальных методах исследования плода.

4.3. Значение нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в регуляции компенсаторно - приспособительных механизмов у плода

Изменение уровня гуморальных факторов гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в сыворотке пуповинной крови новорождённых в исследуемых группах, описанных в разделе 4.1.1 и 4.1.2 указывают на реализацию компенсаторно-приспособительных механизмов у плода в ответ на действие стресс-факторов. Постараемся разобраться, какое участие принимают молекулы внеклеточной регуляции нейрональной сети (BDNF, GDNF) в реализации компенсаторно-приспособительных механизмов у плода.

Для этого всех рожениц, которые случайным образом были отобраны для исследования, разделим на три пересекающихся множества согласно критериям деления на группы (факторы перинатального риска по Радзинскому, исход родов по шкале Апгар, течение периода адаптации и структурные изменения плаценты) (Глава 3, Таблица 7). Так как факторы перинатального риска во 2 и 3-й группах статистически значимо отличаются от 1-й группы, а между собой различий не имеют, то обозначим их как ПР₁ и ПР_{2,3}. Соответственно, так как исход родов для плода в 1 и 2-й группах сопоставим, но не сопоставим с 3-й группой, то представим это в виде значений ИР_{1,2} и ИР₃. Течение периода адаптации в 1 и 2-й группах значимо отличаются от 3-й группы и их можно представить, как АН_{1,2} и АН₃. В свою очередь, структурные изменения плаценты в 1-й группе значимо отличаются от 2 и 3-й групп и могут быть представлены как СП₁ и СП_{2,3}. Группу 1 представим, как множество А, группу 2 – В, а группу 3 – С. Исходя из принадлежности женщин к каждой группе можно записать – множеству А \in {ПР₁, СП₁, ИР_{1,2}, АН_{1,2}}. В свою очередь множеству В \in {ПР_{2,3}, СП_{2,3}, ИР_{1,2}, АН_{1,2}}, а множеству С \in {ПР_{2,3}, СП_{2,3}, ИР₃, АН₃}. Таким образом, мы видим, что множество А и С не пересекаются, в то время как множество А и В

пересекаются по факторам ИР_{1,2} и АН_{1,2}, а множество В и С пересекаются по факторам ПР_{2,3} и СП_{2,3}, что представлено на рисунке 22.

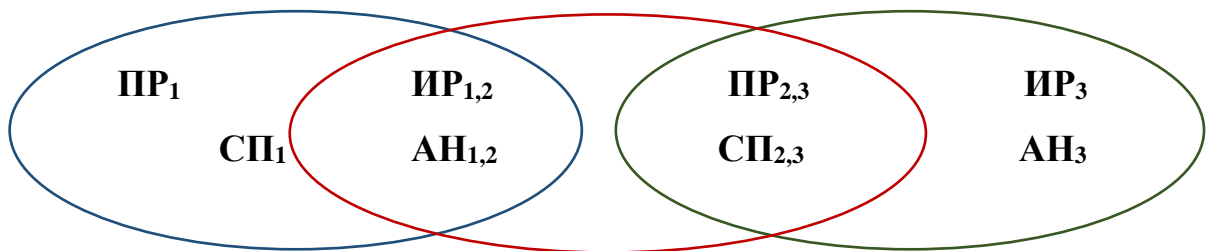


Рисунок 22 - Точки пересечения множеств обследованных женщин

Исходя из данных представленных на рисунке исследуемые множества мы можем представить в виде неравенства $A \leq B \leq C$, где равенство между неравенствами - точки взаимного пересечения множеств. При этом множество А не имеет общих точек пересечения с множеством С, следовательно, $A \neq C$, при том, что $A < C$ по всем основным критериям разделения на группы: $ПР_1 < ПР_{2,3}$; $ИР_{1,2} < ИР_3$; $АН_{1,2} < АН_3$; $СП_1 < СП_{2,3}$. Эти неравенства являются важными для дальнейшего анализа. Разберем множество В, которое имеет взаимные пересечения с множеством А и С. Так как множество В должно соответствовать неравенству $A \leq B \leq C$, при выполнении факторов $ПР_1 < ПР_{2,3}$; $ИР_{1,2} < ИР_3$; $АН_{1,2} < АН_3$; $СП_1 < СП_{2,3}$ то очевидно, что при воздействии на множество фактора Х (факторы гипоксии), ему должен противодействовать фактор Y (изучаемые факторы поддержания гомеостаза нейронов, в нашем случае BDNF, GDNF) таким образом, чтобы поддерживать данное неравенство. Исходя из данных неравенства в ходе решения системы уравнений, мы можем установить, каким условиям должны соответствовать факторы Х и Y. Действие факторов (х, у) на множества А, В и С (1,2 и 3-я группы) можно записать можно записать в виде следующих уравнений:

$$x_1 - y_1 = \{ПР_1, СП_1, ИР_{1,2}, АН_{1,2}\} \equiv A \leq B \quad (1)$$

$$x_2 - y_2 = \{ПР_{2,3}, СП_{2,3}, ИР_{1,2}, АН_{1,2}\} \equiv A \leq B \leq C \quad (2)$$

$$x_3 - y_3 = \{ПР_{2,3}, СП_{2,3}, ИР_3, АН_3\} \equiv B \leq C \quad (3), \text{ при этом } A \neq C \text{ и } A < C.$$

Равновесное состояние гомеостаза нейронов примем за «нуль», в этом случае уравнения (1), (2) и (3) можно представить в виде системы уравнений:

$$\begin{cases} x_1 - y_1 = 0 \\ x_2 - y_2 \leq 0 \\ x_3 - y_3 > 0 \end{cases} \text{ из этого следует } \begin{cases} x_1 = y_1 \\ x_2 \leq y_2 \\ x_3 > y_3 \end{cases} \quad (4)$$

Из системы уравнений (4) следует, что $x_1 = y_1$ удовлетворяет условию – факторам гипоксии (ФГ) противодействуют нейротрофические факторы (НТФ) и состояние гомеостаза нейронов не нарушено ($\text{ФГ} = \text{НТФ}$). Неравенство $x_2 \leq y_2$ означает, что в ответ на действие стресс факторов выработается достаточное или большее количество нейротрофических факторов, таким образом, что гомеостаз нейронов не нарушается ($\text{ФГ} \leq \text{НТФ}$). В свою очередь неравенство $x_3 > y_3$ указывает на то, что действие факторов гипоксии превышает компенсацию нейротрофическими факторами ($\text{ФГ} > \text{НТФ}$). Так как по условию разделения групп между факторами перинатального риска во 2 и 3-й группах статических значимых различий не установлено, факторы гипоксии $x_2 = x_3$, а так как $x_1 < x_2$, то неравенство $x_1 < x_{2,3}$ можно считать верным. Исходя из этого преобразуем систему уравнений (4):

$$\begin{cases} x_1 = y_1 \\ x_{2,3} \leq y_2 \\ x_{2,3} > y_3 \end{cases} \text{ из этого следует неравенство } y_3 < x_{2,3} \leq y_2 \quad (5),$$

а значит $y_3 < y_2$.

Принимая во внимание, что $x_1 < x_{2,3}$, а $x_1 = y_1$, то неравенство (5) можно записать в следующем виде $y_1 < x_{2,3} \leq y_2$ (6), а значит $y_1 < y_2$.

$$\begin{cases} y_1 < y_2 \\ y_3 < y_2 \end{cases} \text{ при этом соотношение величин } y_1 \text{ и } y_3 \text{ может быть}$$

следующим: $y_1 \geq y_3$ и $y_1 < y_3 < y_2$ (7).

Таким образом, мы установили, каким условиям должны соответствовать различия в значениях нейротрофических факторов, при которых будут соблюдаться основные неравенства системы (4), и при этом будут выполняемы

равенства (1), (2) и (3). При этом, что для выполнения всех условий соблюдаться неравенство $x_1 < x_2 \leq x_3$ (8).

Для подтверждения гипотезы о том, что нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) участвуют в компенсаторно-приспособительных механизмах и регуляции гомеостаза нейронов плода и новорождённых при анализе их значений в группах должны быть выполнены условия неравенств (7) и (8). Это значит, что значения показателей BDNF и GDNF во 2-й группе должны быть статистически значимо больше, чем в 1 и 3-й группах. При этом показатели значений между 1 и 3-й группами могут не иметь статистически значимых различий. Значения этих факторов в 3-й группе могут быть больше или меньше значений в 1-й группе, но должны оставаться статистически значимо меньше, чем во 2-й группе. Значения факторов гипоксии во 2-й группе должны быть статистически значимо больше, чем в 1-й группе, но могут быть меньше или равными значениям тех же факторов в 3-й группе. Таким образом, зная основные условия необходимые для подтверждения роли BDNF и GDNF в регуляции гомеостаза нейронов плода, проверим, в какой степени полученные данные соответствуют их выполнению (Рисунок 23).

В ходе исследования установлено, что значения гуморального маркера гипоксии ARNT/HIF-1 β во 2 и 3-й группах статистически значимо отличается от его значений в 1-й группе ($p=0,014$; $p=0,013$), в то время как NSE и ARNT/HIF-1 β устанавливают между собой умеренные корреляционные связи ($\rho_{xy}=0,36$; $p=0,06$). При этом NSE образует стойкую статистически значимую корреляционную связь со структурными изменениями плаценты ($\rho_{xy}=0,52$; $p=0,007$), а ARNT/HIF-1 β умеренную ($\rho_{xy}=0,34$; $p=0,09$). Заметим, что реализованные факторы гипоксии будут сопровождаться структурными изменениями плаценты. Учитывая, что в 1-й группе плаценты представляли собой вариант нормы и не имели структурных изменений, характерных для действия факторов гипоксии, то данные статистические различия и корреляционные связи удовлетворяют условию неравенства (8):

$x_1 < x_2 \leq x_3$. Это означает, что факторы гипоксии, действующие на 2 и 3-ю группы, превышали факторы гипоксии, действующие на первую группу.

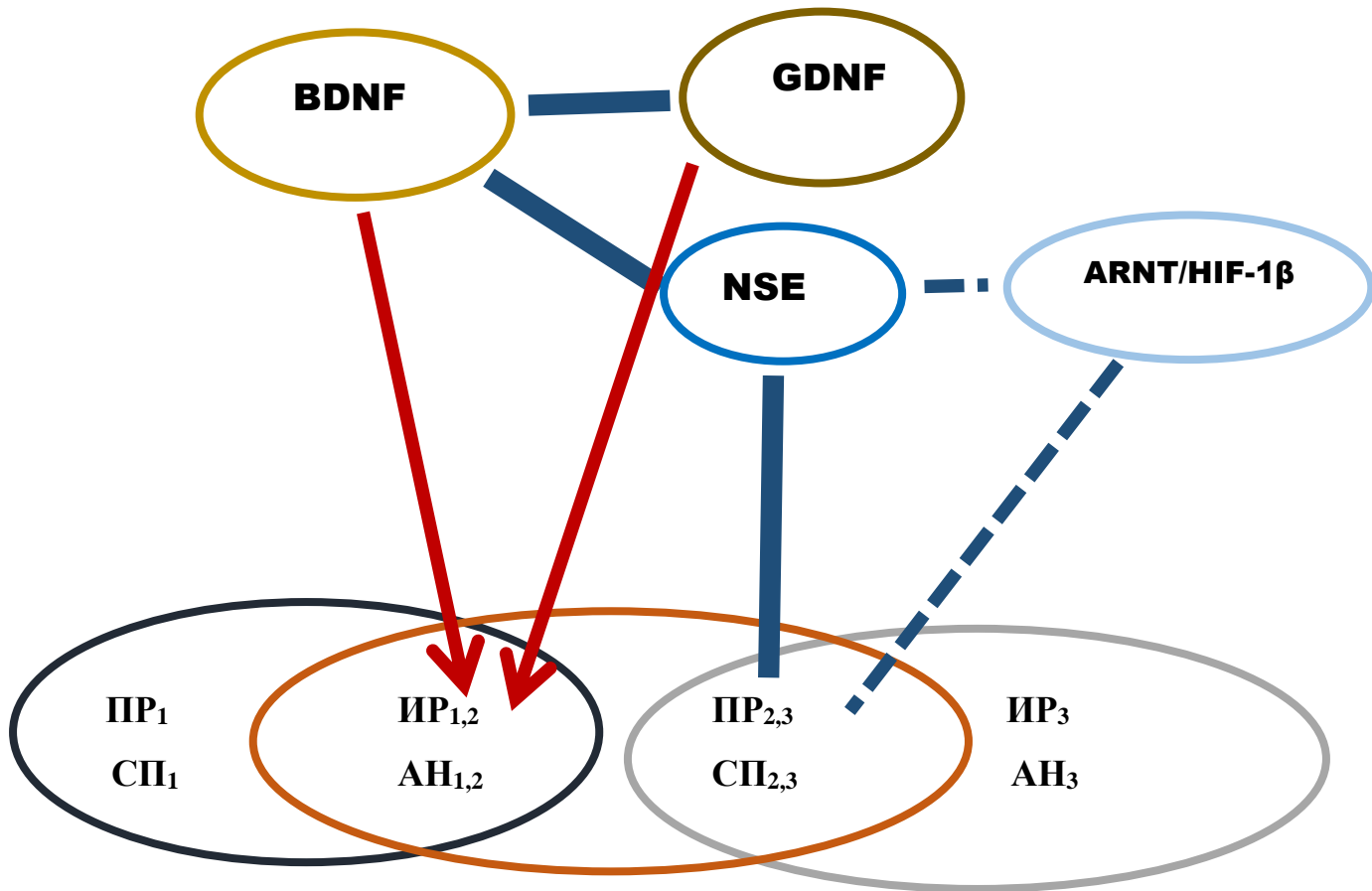


Рисунок 23 - Взаимосвязи гуморальных факторов гипоксии, нейротрофических факторов со значениями во множествах обследованных женщин

■■■■ - сильные корреляционные связи
 ■■■■ - умеренные корреляционные связи
 → - действие НТФ факторов, которые значимо отличны от 1 и 3-й групп

В свою очередь, гуморальный фактор гипоксии NSE образует стойкую статистически значимую корреляционную связь с BDNF ($\rho_{xy}=0,46$; $p=0,036$), при том, что нейротрофических факторов BDNF и GDNF также образуют между собой тесные корреляционные связи ($\rho_{xy}=0,248$; $p=0,022$), что говорит о том, что выработка одного фактора связана с другим. Таким образом,

данные корреляционные связи указывают на то, что в ответ на действие факторов гипоксии повышается синтез BDNF и GDNF. Так как уровень значений BDNF и GDNF во 2-й группе статистически значимо отличается от 1 и 3-й групп, что соответствует условию, выраженному в неравенстве (7), то это указывает на то, что именно с участием BDNF и GDNF реализуются компенсаторно-приспособительные механизмы, которые обеспечивают гомеостаз нейронов плода и новорождённых в ответ на действие стресс-факторов. Данные статистически значимые различия и корреляционные взаимосвязи, удовлетворяющие математически выведенным условиям, подтверждают гипотезу о значении молекул BDNF и GDNF в регуляции гомеостаза нейрональной сети плода (Рисунок 23).

Согласно представленному доказательству, указывающему на значение нейротрофических факторов в регуляции гомеостаза нервных клеток плода можно предположить патогенетический механизм их образования и защитного действия молекул внеклеточной регуляции BDNF и GDNF на нейроны головного мозга плода и новорождённых (Рисунки 24 и 25).

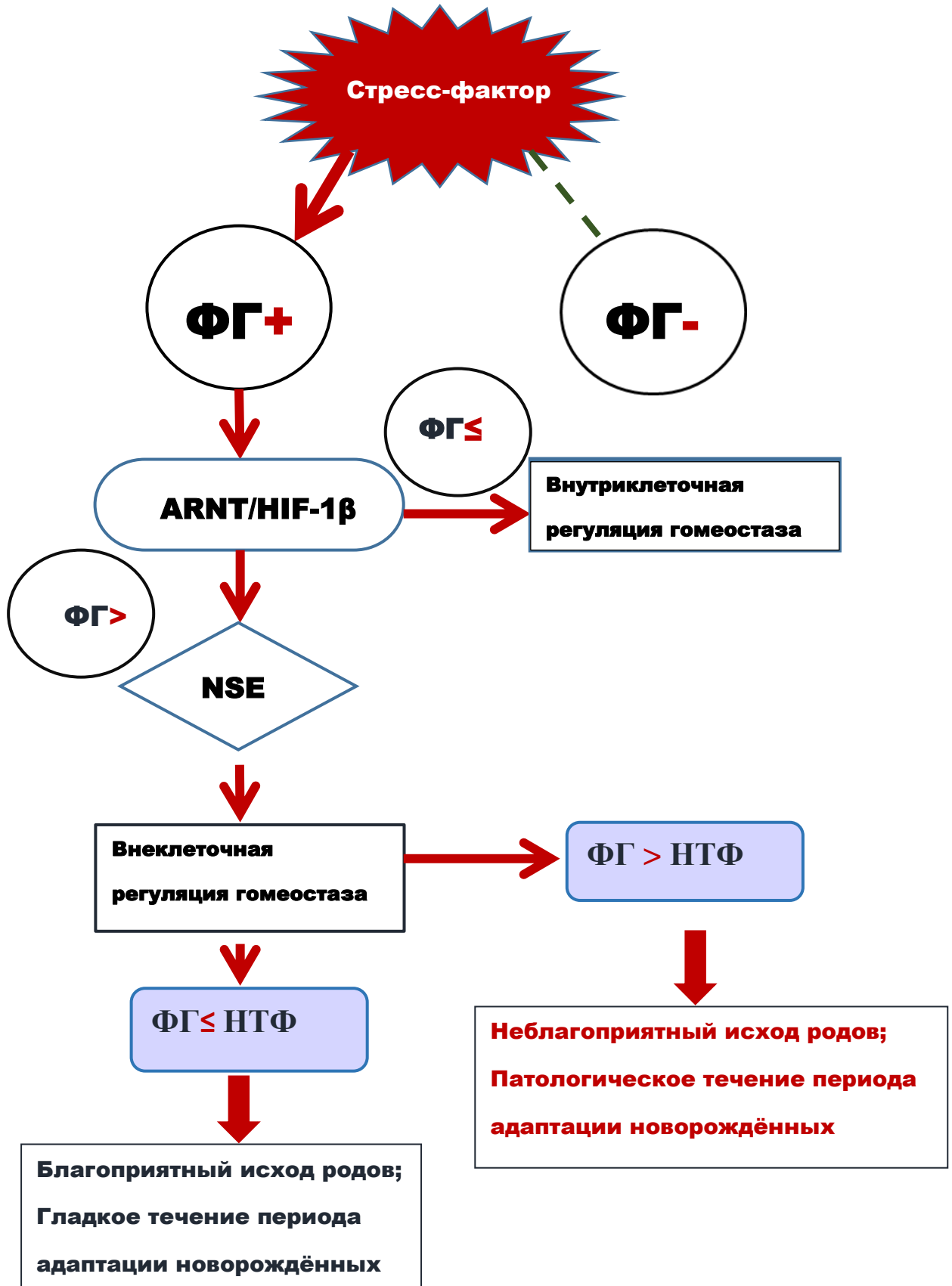


Рисунок 24 - Механизм синтеза нейротрофических факторов в ответ на действие факторов гипоксии.

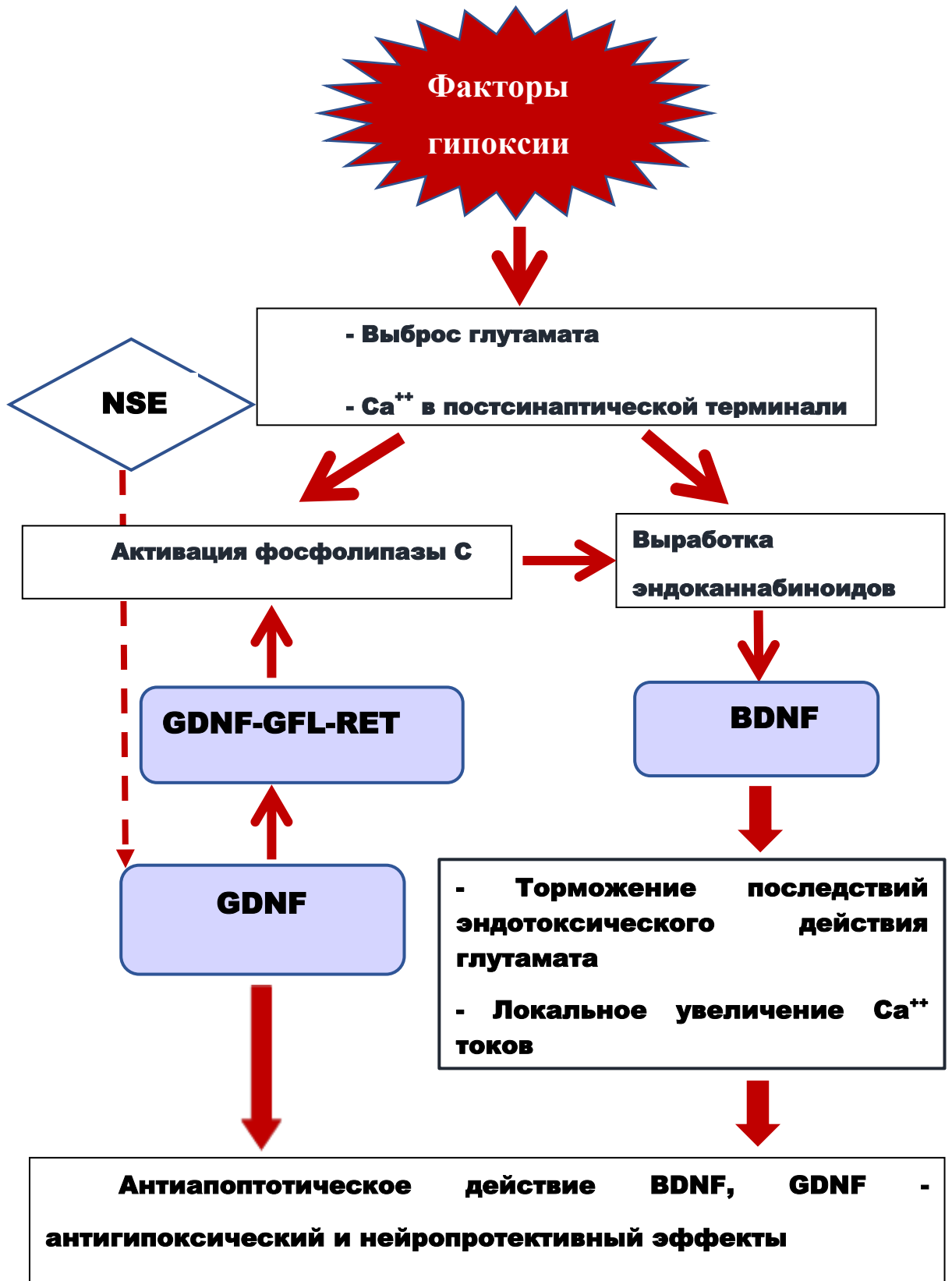


Рисунок 25 – Регуляция гомеостаза нейронной сети в норме и в условиях адаптации к стрессу

Факторы перинатального риска, ассоциированные с гипоксией, носят вероятностный характер. При определённом стечении обстоятельств они могут реализовываться как факторы гипоксии ФГ (+) или ФГ (-). В случае реализации факторов гипоксии на плод сначала реагируют ранние гуморальные маркёры гипоксии и происходит выработка ARNT/HIF-1 β . Принимая во внимание тот факт, что ARNT/HIF-1 β играет важную роль в регуляции транскрипции в клеточном гомеостазе и его тесную взаимосвязь с ядерными факторами антиапоптотических белков, то можно предположить, что в результате синтеза этого фактора, скорее всего, происходит активация внутриклеточных антиапоптотических механизмов. Если внутриклеточные механизмы поддержания гомеостаза уравнивают факторы альтерации, то дальнейшие механизмы «программируемой гибели клеток» не задействованы.

В том случае, если анте/интранатальное воздействие на плод факторов альтерации превышает внутриклеточные механизмы регуляции гомеостаза и клетки (в нашем случае нейроны) достигают конечных стадий апоптоза (выброс глутамата, Ca²⁺ в постсинаптической мембране) или своей гибели, что сопровождается повышением уровня NSE, начинают активироваться механизмы внеклеточной регуляции гомеостаза нейронов.

В ответ на повышение уровня глутамата и Ca²⁺ в постсинаптической мембране происходит активация фосфолипазы C и выработка эндоканнабиноидов, которые способны влиять на проницаемость каналов в постсинаптической мембране [1, 4, 64]. Фосфолипаза C, участвуя в каскаде биохимических превращений арахидоновой кислоты, приводит к увеличению синтеза эндоканнабиноидов. Активация эндоканнабиноидной системы ведёт к увеличению синтеза BDNF. Связывание BDNF с тирозинкиназным рецептором инициирует внутриклеточные каскады, которые способствуют либо локальному увеличению кальциевых токов, либо напротив торможению последствий эксайтотоксического действия глутамата. Мозговой нейротрофический фактор вызывает ингибирование внесинаптического притока Ca²⁺ с последующим устранением

глутаматергической эксайтотоксичности. Данные процессы предотвращает дисфункцию митохондрий и апоптотическую гибель клеток. Также отмечена роль тирозинкиназного-опосредованного действия BDNF на астроцитарные кальциевые токи [64]. Следовательно, BDNF, действуя дистанционно, не только объединяет нейроны в единое морфофункциональное образование, но и участвует в привлечении астроцитов к механизмам гомеостатической регуляции сети.

В свою очередь в случае разрушения нейронов активируется рост глии под действием GDNF. Данный нейтрофин способен влиять на гомеостаз клеток, лишённых рецепторов к нему. Внеклеточные сигнальные механизмы GDNF связаны не только с влиянием на апоптотические процессы, но и на выработку эндоканнабиноидов, путем образования активного GDNF-GFL-RET (лиганд-рецепторного) комплекса способного влиять на активность фосфолипазы C [64]. Таким образом, факторы внеклеточной регуляции BDNF и GDNF, и эндоканнабиноидная система вовлечены в единую взаимозависимую систему регуляции гомеостаза нейронной сети в норме и в условиях адаптации к стрессу. Данная последовательность событий приводит к увеличению выживаемости различных популяций нейронов за счет реализации антиапоптотического (антигипоксического и нейропротекторного) эффекта нейротрофических факторов [1, 4].

В случае если анте/интранатальное воздействие на плод факторов альтерации превышает внутриклеточные и внеклеточные механизмы регуляции гомеостаза нейрональной сети, или по каким-то причинам их выработка нарушена, то исход родов для плода неблагоприятный и значительно повышается риск развития асфиксии новорождённого даже при незначительных факторах альтерации (например, акт родов). В том случае если в ответ на анте/интранатальное действие факторов альтерации на плод происходит адекватная активация внутриклеточных и внеклеточных механизмов регуляции гомеостаза нейронов, то исход родов для плода и

течения периода адаптации новорождённых будут благоприятными вне зависимости от силы действия повреждающего агента.

Сопоставив полученные в ходе исследования результаты с условиями разработанной математической модели, мы получили, что совокупность полученных данных позволила подтвердить гипотезу о значении молекул внеклеточной регуляции гомеостаза нейронов в реализации компенсаторно-приспособительных механизмов у плода и новорожденных.

В нашем исследовании среди множества факторов регуляции гомеостаза нервных клеток мы изучали роль молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети и показали, что BDNF и GDNF проявляя антиапоптотическое действие оказывают антигипоксический и нейропротективные эффекты, что способствует благоприятному исходу родов и течению периода адаптации новорождённых. Полученные экспериментальные и клинические данные, а также теоретические положения позволили предположить возможные патогенетические механизмы регуляции гомеостаза нейронов плода и новорождённых с участием молекул внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF (Рисунки 24, 25)

Таким образом, на основании статистически значимых различий гуморальных маркеров гипоксии (ARNT/HIF-1 β , NSE) и нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) между группами и выявленных корреляционных взаимосвязей между ними, а также с факторами перинатального риска, исходом родов, течением периода адаптации, структурными изменениями плаценты, данными клинического обследования, особенностями течения беременности, родов и методами оценки функционального состояния плода можно сделать заключение:

- Наличие факторов перинатального риска не свидетельствует о их реализации как факторов гипоксии и носит вероятностный характер;
- Наличие маркеров гипоксии в сыворотке пуповинной крови новорождённых указывает на реализацию факторов гипоксии, но не может свидетельствовать о неблагоприятном исходе родов для плода;

- Разный исход родов и течение периода адаптации в случае реализации факторов гипоксии указывает на наличие или отсутствие компенсаторно-приспособительных механизмов, обеспечивающих гомеостаз нейронов плода и благоприятный исход родов, а также течение периода адаптации новорождённых;

- Результаты, полученные в главе 4, демонстрируют важную патогенетическую роль нейротрофических факторов (BDNF, GDNF) в компенсаторно-приспособительных механизмах плода и течении периода адаптации новорожденного. В случае успешной реализации этих механизмов обеспечивается гомеостаз нейронов плода и благоприятное течение периода адаптации новорождённых.

ГЛАВА 5

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Центральная нервная система плода является одной из главных систем, реагирующих первой на гипоксическое повреждение в процессе родов и определяет порог резистентности всего организма к гипоксическим условиям.

Дистресс плода в следствии воздействия неблагоприятных факторов как антенатально, так и во время родов влечет за собой длительно текущий стадийный процесс, особая опасность которого связана с глубокими нарушениями роста и дифференцировки клеток головного и спинного мозга. При недостатке кислорода запускается молекулярный каскад реакций, приводящий к выбросу гормонов стресса в кровь матери и структурно-функциональным изменениям в материнской и фетальной частях плаценты. Гипоксический стресс – достаточно частое явление во время беременности человека, однако на данный момент его влияние на мозг плода остается малоизученным [133].

Диагностика поражений мозга у новорожденных, причиной которых является пренатальная гипоксия/ ишемия бывает затруднительна, а вопрос адаптационных реакций плода на испытываемый родовой стресс остается открытым: требуется разработка собственного арсенала маркеров и критериев. Одним из современных направлений, которое может стать путем для решения проблемы, является исследование роли специфических белков нервной системы в формировании компенсаторно-приспособительных возможностей новорожденного. Нейротрофическая сигнализация критична для пре- и постнатального развития мозга в силу ее влияния на процесс развития нейронов и реакции на перинатальный стресс [200].

Необходимо отметить, что в последнее время патологии клеток глии придается важнейшее значение при возникновении дегенеративных процессов в ЦНС человека, в том числе ишемического/гипоксического генеза [1].

Результаты проведенных исследований определили целесообразность сравнения эффектов экспериментальной и клинической гипоксии, а также

оценки роли специфических белков нервной системы в воздействии гипоксии на плод и его адаптации к ее повреждающему действию.

Молекулярные пути, чувствительные к кислороду или регулируемые гипоксией, непосредственно участвуют в широком спектре критических клеточных функций и выживаемости клеток от эмбриогенеза до зрелого возраста [142]. Внутриутробная гипоксия приводит к нарушению формирования органов, одним из признаков которого является их гипотрофия [33, 125].

В проведенной экспериментальной части исследования нами было изучено влияние ХГГ на уровни BDNF и GDNF ($p < 0,05$) в сыворотке крови беременных самок мышей линии C57BL/6. Отмечено, что уровень нейротрофинов в группе мышей, подвергнутых воздействию хронической гипобарической гипоксии, был статистически значимо ниже по сравнению с группой контроля, что может говорить о декомпенсации адаптационно-приспособительных механизмов в стрессовых условиях. При этом наблюдалось максимальное снижение концентрации нейротрофина GDNF, являющегося экскреторным белком звездчатых клеток глии. Полученные результаты согласуются с результатами, полученными при других экспериментальных исследованиях. Так, например, в экспериментальном исследовании, изучающем уровень белков BDNF в клетках Пуркинье, после оказания реанимационных мероприятий (крысы) наблюдали гибель BDNF-негативных клеток. При этом в популяции выживших нейронов уровень BDNF повышался [45]. В тоже самое время, в экспериментальном исследовании *in vitro* и *in vivo*, при экзогенном введении BDNF и GDNF полученные данные показали, что изучаемые нейротрофины обладают ярко выраженными антигипоксическими и нейропротективными свойствами, их превентивное использование позволяет компенсировать негативные последствия гипоксии как на клеточном, так и на организменном уровнях [4].

Данные проведенной нами клинической части исследования подтверждают полученные результаты экспериментальной части исследования.

В качестве оценки степени оказываемого неблагоприятного воздействия мы выбрали следующие параметры: уровень перинатального риска по шкале Радзинского и соавт., степень структурных изменений плаценты, средний балл по шкале Апгар и степень отклонений течения периода адаптации новорожденных. Дополнительно в части проб (n=25) был оценен уровень NSE и ARNT/HIF-1 β .

Мы полагаем, что появление нейроспецифических белков в крови плода, может служить показателем реализованной гипоксии, приводящих к гипоксия-ассоциированным осложнениям новорожденного в постнатальный период. К похожим выводам приходят S. Wellmann и соавт. в экспериментальном исследовании. Исследователи полагают, что гипоксия (как и гипероксия) могут оказывать повреждающее действие не в следствии окислительного стресса, а из-за глубокого изменения экспрессии различных генов, в том числе HIF 1,2. Использование белковых маркеров NSE и ARNT/HIF-1 β как участников патологических гипоксических процессов на молекулярном уровне в нашей работе позволило более четко соотнести концентрационную зависимость нейротрофических факторов с реализацией адаптивно-приспособительных процессов у новорожденных.

Несмотря на некоторые данные о молекулярно-клеточных механизмах регуляции гомеостаза с участием ARNT/HIF-1 β , роль этого белка остаётся мало изученной, но на примере опухолевого роста можно предположить, как с помощью ARNT/HIF-1 β осуществляется внутриклеточная регуляция гомеостаза. Одна из главных проблем опухолевого роста это нарушения механизма апоптоза клетки. Для реализации антиапоптотических программ нужна ранняя сигнализация о малейших изменениях клеточного гомеостаза. У низкодифференцированных клеток пролиферативный клеточный потенциал повышается, это может быть сопряжено с относительным недостатком

кислорода в клетках, а значит сказываться на их энергообмене. В результате этого происходит сигнализация ранних маркеров гипоксии, таких как ARNT/HIF-1 β . Играя важную роль в регуляции транскрипции клетки и активации ядерных факторов антиапоптотических механизмов с участием этого маркера гипоксии, обеспечивается гомеостаз клеток и их жизнедеятельности в условиях повышенной пролиферации и относительной кислородной недостаточности. При этом выделяются множественные факторы роста клеток, которые обеспечивают поддержание жизнедеятельности уже имеющегося пула клеток и обеспечивают ангиогенез для формирования хорошего кровоснабжения участка опухолевого роста [29]. Подобные молекулярно-клеточные процессы невозможны без сложной реакции иммунной системы, так как помимо эндогенных путей апоптоза клеток существуют экзогенные пути, которые реализуются посредством иммунной системы и обеспечивают контроль клеточной пролиферации и жизнедеятельности клеток. Нарушение механизмов «программируемой гибели клеток» приводит к опухолевому росту [7].

В качестве примера, мы не случайно остановились на опухолевом росте, так как развитие беременности и рост плода невозможен без сбалансированного нейроэндокринного, нейроиммунного взаимодействия, которые обеспечивают клеточную пролиферацию и развитие плода. В свою очередь ввиду активной клеточной пролиферации во время беременности должны быть информативны именно ранние факторы гипоксии, такие как ARNT/HIF- 1 β , которые будут хорошо себя проявлять при любых гипоксических состояниях, и своевременно активировать компенсаторно-приспособительные механизмы, направленные на поддержание гомеостаза плода во время беременности и в родах.

В цитоплазме нейронов происходит синтез NSE. При разрушении клетки в результате повреждающего воздействия уровень нейроспецифической енолазы увеличивается в сыворотке крови. В ограниченном количестве исследований было показано повышение уровня NSE в крови доношенных

новорожденных с ГИЭ по сравнению с новорожденными контрольной группы. Кроме того, высокий уровень NSE также был ассоциирован с неблагоприятными исходами у новорожденных [69, 191, 214]. Отметим, что в нашем исследовании концентрация NSE не превышала 40 мкг/л — значения, которое у новорожденных, по данным литературы, свидетельствует о наличии церебральной ишемии [121]. Отметим, что ограничением к использованию данного маркера является гемолиз, так как кроме нейронов она экспрессируется и на мембране эритроцитов.

Для изучения компенсаторно-приспособительных механизмов у плода во время беременности и в родах нами были выбраны молекулы внеклеточной регуляции нейрональной сети BDNF и GDNF, так как по многочисленным исследованиям было установлено пагубное действие гипоксии в первую очередь на ЦНС плода [15, 62, 135]. Полагаем, что определение BDNF и GDNF в периферическом кровотоке является обоснованным, так как в экспериментальных работах было показано, что нейротрофический фактор BDNF способен проникать через гематоэнцефалический барьер [229] и у новорожденных его уровень в сыворотке крови коррелирует с таковым в коре головного мозга [168]. Значимая элиминация нейротрофических факторов в периферический кровоток младенцев происходит, по-видимому, за счет активации синтеза данных белков, а также вследствие незрелости барьерной функции гематоэнцефалического барьера. Однако, часть выполненных работ говорит о том, что возможна передача BDNF плоду от матери через кровь, амниотическую жидкость и плаценту, где нейротрофические факторы участвуют в процессах плацентарного ангиогенеза и созревания, а также определяют исход беременности [139, 173, 211]. В связи с этим в последующих исследованиях целесообразно изучить уровень НТФ у беременных женщин и установить возможные корреляционные связи с уровнем НТФ новорожденных.

Нами было показано, что в изучаемых группах, имеющих существенные различия по степени перинатального риска, течению периода адаптации у

новорожденных, среднему баллу по шкале Апгар и степени структурных изменений плаценты наблюдалось изменение уровней ARNT/HIF-1 β , BDNF, GDNF ($p < 0,05$) и NSE ($p > 0,05$) в сыворотке пуповинной крови новорожденных (Глава 4, Рисунки 8, 15). Повышенный уровень исследуемых факторов роста и ARNT/HIF-1 β наблюдали во 2-й группе, характеризующейся высокой степенью перинатального риска ($p < 0,05$) и структурных изменений плаценты ($p < 0,05$) по сравнению с 1-й группой. Однако при сравнении с 3-й группой уровень ARNT/HIF-1 β не имел статистически значимых отличий ($p > 0,05$), а значит данные группы были сопоставимы по величине повреждающего воздействия факторов гипоксии. Отметим, что при этом во 2-й группе средний балл по шкале Апгар был сопоставим с 1-й группой ($p_{1-2} = 1,000$) и был существенно выше по сравнению с 3-й группой ($p_{2-3} < 0,001$). Также были отмечены особенности периода адаптации, во 2-й группе значительно чаще наблюдалось его более благоприятное течение ($p_{2-3} < 0,001$) по сравнению с 3-й группой (Глава 3, Таблица 7).

Полагаем, что уровень этих факторов, в сочетании с другими компенсаторно-приспособительными механизмами поддерживает гомеостаз нейронов плода во время родов на фоне реализации стресса в результате гипоксического воздействия. Увеличение уровня BDNF и GDNF обеспечивает успешную реализацию цепи компенсаторно-приспособительных механизмов, приводя к благоприятному исходу родов для плода и физиологическому течению периода адаптации новорождённых в данной группе [3, 142, 181]. Наблюдая изменение концентрации BDNF и GDNF в 3-й группе в сравнении с 1 и 2-й группами, мы отметили статистически значимое ($p < 0,001$) снижение уровня BDNF и GDNF в сравнении со 2-й группой. При этом уровень NSE и ARNT/HIF-1 β в 3-й группе не изменился по сравнению со 2-й группой ($p > 0,05$), что означает равнозначную интенсивность воздействия стресс-факторов. Средняя оценка по шкале Апгар в данной группе была статистически значимо ниже по сравнению с 1 и 2-й группами ($p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$). Также наблюдалось увеличение степени неблагоприятного течения

периода адаптации в сравнении с 1 и 2 -й группами ($p_{1-3} < 0,001$; $p_{2-3} < 0,001$) (Глава 3, Таблица 7). Следует отметить, что при сравнении с 1-й группой уровень BDNF и GDNF в 3-й группе выражено снижается, особенно глиального фактора, но статистических различий не имеет ($p=0,878$; $p=0,969$) (Глава 4, Рисунок 15). Мы полагаем, что даже незначительное снижение уровней BDNF и GDNF по сравнению с базальным уровнем этих факторов не может обеспечить должного гомеостаза нейронов плода при наличии и реализации факторов гипоксии.

Полученные данные хорошо соотносятся с результатами, уже описанными в литературе. Так в клинических исследованиях, выполненных ранее отмечали снижение уровня BDNF в пуповинной крови новорожденных, имеющих задержку внутриутробного развития плода по сравнению с рожденными здоровыми детьми [69]. Анализ новорожденных с перинатальным поражением ЦНС показал, что возникновение более тяжелых форм (перивентрикулярная лейкомаляция и в сочетании с внутрижелудочковым кровоизлиянием) ассоциировано с низкими значениями уровня BDNF [32]. В обзорах литературы отмечены исследования, указывающие на снижение уровня BDNF в зависимости от наличия курения, алкогольной интоксикации матерей, а также отмечены неоднозначные данные по влиянию преэклампсии на уровень BDNF [100, 174, 209]. Однако, также отмечено неблагоприятное влияние повышение значений BDNF выше 4000 пг/мл в плазме крови новорожденных, авторы заявляют, что подобное увеличение может рассматриваться как декомпенсаторная реакция, поскольку у таких пациентов в последствии наблюдается неэффективность применяемой терапии и фиксируется нарастание неврологических нарушений [42].

В ходе исследования показано отсутствие корреляционных связей между уровнем нейротрофических факторов и степенью перинатального риска в группах ($r_{xy}=0,038$ и $r_{xy}=0,033$). При этом выявлены слабые разнонаправленные корреляционные связи между гуморальными маркерами гипоксии NSE ($r_{xy} = -0,154$; $p=0,462$); ARNT/HIF- 1 β ($r_{xy}=0,302$; $p=0,143$) с

уровнем перинатального риска по Радзинскому В.Е. и соавт. (Глава 4, Рисунки 9, 10). Полученные данные говорят о том, что уровень перинатального риска не может гарантировать реализацию этих факторов в индивидуальном случае или ее отсутствие, т.к. невозможно учесть все возможные факторы риска и предугадать, какой именно из них сыграет ключевую роль у конкретной роженицы. При отсутствии реализации факторов риска запуск компенсаторно-приспособительных реакций с участием молекул внеклеточной сигнализации не происходит [6, 62].

При выполнении анализа полученных данных установлена слабая корреляционная связь уровня GDNF в сыворотке пуповинной крови новорождённых со степенью гистологических изменений плаценты ($\rho_{xy}=0,112$), а также с исходом родов для плода ($\rho_{xy}=0,155$). В свою очередь связь уровня BDNF с аналогичными показателями отсутствовала ($\rho_{xy}=0,081$; $\rho_{xy}=0,016$) (Глава 4, Рисунки 16, 17). В тоже время были отмечены умеренные прямые корреляционные связи между уровнями гуморальных факторов гипоксии NSE ($\rho_{xy}=0,45$, $p=0,028$), ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=0,34$; $P=0,110$) и структурными изменениями в плаценте. Отсутствие статистической значимости связи между уровнем ARNT/HIF-1 β и данными гистологического исследования плаценты может свидетельствовать о том, что ARNT/HIF-1 β участвует во внутриклеточных механизмах компенсаторного ответа, при начальных стадиях повреждения, на данном этапе морфологические изменения плаценты не успевают сформироваться. При более длительном патологическом воздействии происходит разрушение нейронов и высвобождение нейрон-специфической енолазы, а в плаценте формируются структурные изменения, видимые при гистологическом исследовании, подтверждением этому является обнаруженная статистически значимая связь между уровнем NSE и степенью структурных изменений плаценты [28, 216].

Мы отметили, что в нашем исследовании отсутствовала связь между исходом родов, а также осложненным периодом адаптации новорожденных и гуморальными факторами гипоксии NSE ($\rho_{xy} =0,087$; $\rho_{xy}=-0,074$) и

ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=-0,052$; $\rho_{xy}=0,043$). Подобные корреляционные связи могут косвенно указывать на то, что реализованные факторы гипоксии не всегда приводят к неблагоприятному исходу родов для плода и новорождённого. В том случае, когда активируются экзогенные компенсаторно-приспособительные реакции, эффект GDNF и BDNF реализуется через разные механизмы ответа на стресс-фактор. GDNF оказывает большее влияние за счет своих антигипоксических свойств и связан с реализацией таких факторов гипоксии, которые действуют в течение длительного периода времени, в результате которых могут сформироваться патоморфологические изменения плаценты. При этом BDNF реализуется там, где факторы гипоксии действуют кратковременно, отметим, что он имеет большее влияние на пластичность нейрональной сети и, таким образом, обеспечивает благоприятное течение периода адаптации после реализации стресс-факторов. В литературе описаны аналогичные характеристики нейротрофических факторов [4, 83, 100].

При анализе данных мы оценивали корреляционные взаимосвязи между гуморальными факторами гипоксии (NSE, ARNT/HIF-1 β) и уровнем нейротрофинов (BDNF, GDNF) (Глава 4, Рисунки 19, 20, 21). Выявлено наличие статистически значимой умеренной прямой связи между увеличением уровня BDNF и NSE ($\rho_{xy}=0,476$, $p=0,016$). При этом связь с уровнем ARNT/HIF-1 β отсутствовала ($\rho_{xy}=0,005$, $p=0,981$). Полагаем, данные результаты показывают, что при разрушении нейрона для реализации компенсаторно-приспособительных механизмов запускаются внеклеточные механизмы регуляции с участием BDNF, при этом отсутствие связи с ARNT/HIF-1 β подчеркивает его возможную роль, как раннего маркера гипоксического повреждения на стадии, когда патологический процесс идет внутриклеточно и не выходит за ее пределы [69].

Наряду с этим, существенные корреляционные взаимосвязи между GDNF и NSE ($\rho_{xy}=0,111$; $p=0,596$), а также с ARNT/HIF-1 β ($\rho_{xy}=0,059$; $p=0,779$) отсутствовали. Это возможно, поскольку BDNF и GDNF различаются по

патогенетическим механизмам действия, GDNF оказывает свое влияние опосредовано, через рецептор GFR α 1, не имеющего внутриклеточного домена. Происходит передача сигнала и активации комплекса GDNF-GFL-RET, который, в свою очередь, запускает другие сигнальные пути, активируя RAS/MAPK, фосфатидилинозитол3-киназу и фосфолипазу C, таким образом оказывая влияние на апоптотические процессы и выработку эндоканнабиноидов. Поэтому, в данном случае, корреляционная связь возможна не с уровнем изучаемых гуморальных факторов гипоксии, а с уровнем фосфолипазы C и других молекул сигнальных путей, активируемых благодаря комплексу GDNF-GFL-RET [175, 220].

При анализе полученных данных мы не получили статистически значимых корреляционных связей между уровнем нейротрофических факторов, а также гуморальных факторов гипоксии с факторами риска по шкале Радзинского. Полагаем, это можно объяснить тем, что рассматриваемые клинические состояния не сопровождались развитием выраженных гипоксических состояний в нашем исследовании и не было необходимости в активации внеклеточных механизмов регуляции гомеостаза нейронов.

Проанализировав осложнения течения родов (Глава 4, Таблица 22), мы обнаружили слабую обратную корреляционную связь глиального нейротрофического фактора GDNF с длительностью безводного периода ($r_{xy}=-0,126$). Помимо этого, мы отметили наличие слабой прямой корреляционной связи уровня GDNF и применения родовозбуждения ($r_{xy}=0,154$). Отсутствие статистической значимости корреляционных связей между уровнем GDNF и продолжительностью безводного промежутка, применением родовозбуждения в совокупности с отсутствием таких связей и с гуморальными факторами гипоксии говорят о том, что изучаемые факторы в нашей работе не привели к развитию существенных гипоксия-ассоциированных осложнений и не требовали активации компенсаторно-приспособительных механизмов.

Важно учитывать, что нарушения, выявленные при анализе паттернов кардиотокографии или изменения, выявленные при проведении доплерометрии, а также мекониальное окрашивание околоплодных вод — частые клинические признаки гипоксии — не всегда определяют конечное состояние новорожденного. Тем не менее, в нашем исследовании мы обнаружили слабую обратную связь между наличием отклонений при выполнении доплерометрии (нарушение кровотока I A степени) и концентрацией BDNF ($\rho_{xy}=0,234$; $p=0,048$) и прямую слабую связь уровня GDNF с общим уровнем отклонений, выявленных при инструментальных методах исследования плода: УЗИ–скринингов, КТГ, доплерометрии ($\rho_{xy}=0,200$; $p=0,073$). Полноценно оценить корреляционные связи между NSE, ARNT/HIF-1 β и инструментальными методами исследования состояния плода не представляется возможным в связи с небольшим числом наблюдений.

В научных работах, изучающих роль этих молекул внеклеточной регуляции на плод при беременности и в родах, высказывают мнение о том, что нарушение регуляции синтеза и высвобождения нейротрофинов может привести к значительному влиянию на здоровье матери и плода [200, 226].

В рамках проведенного клинического исследования показана важная роль молекул BDNF и GDNF в регуляции гомеостаза нейронов у плода интранатально. Полагаем, что при нормальном течении беременности и родов, отсутствии факторов развития гипоксии плода продуцируется базальное количество нейротрофических факторов, за счет которых, частично, обеспечиваются адекватные компенсаторные механизмы плода к акту родов, что обусловлено генетически детерминированным уровнем нейротрофических факторов — BDNF и GDNF [39].

При реализации стресс-факторов в родах (физиологических: гипоксемия и гипоксия плода, развивающаяся в следствии акта родов и патологических) происходит активация эндогенной системы компенсаторных механизмов у плода. В ответ на гибель нейронов плода, через эндоканнабиноидную систему активируется продукция BDNF и в большей степени GDNF, так как

инициируется пролиферация глии на месте погибших нейронов. В нашем исследовании были выявлены статистически значимые различия по уровням BDNF и GDNF между 1 и 2-й группами, а также 2 и 3-й группами ($p < 0,05$). Оба фактора, и в большей степени GDNF, обладают выраженным антигипоксическим и нейропротективным эффектом и оказывают существенное влияние на функциональное состояние нейрональной сети [39, 74].

В ответ на успешную регуляцию гомеостаза нейронов мы наблюдали более высокий уровень BDNF ($p < 0,05$) и GDNF ($p < 0,05$) во 2-й группе, что обеспечивало благоприятный исход родов для плода вне зависимости от степени реализации стресс факторов. При нарушении регуляции гомеостаза нейронов у плода или истощении компенсаторных механизмов мы наблюдали выработку BDNF значительно ниже, чем во 2-й группе, при этом важно отметить, что исход родов и течение периода адаптации новорожденных был существенно хуже ($p < 0,05$). Полученные данные клинического исследования указывают на существование тесной взаимосвязи между уровнями нейротрофических факторов и реализацией фетальных компенсаторно-приспособительных возможностей плода и новорожденных при реализации факторов развития гипоксии в родах. Подобные результаты согласуются с данными экспериментальных и клинических работ в которых установлено, что уровень BDNF, GDNF являются важными факторами, оказывающим существенное влияние на устойчивость нейронов к ишемии-реперфузии [1, 55, 61, 74, 144, 193, 202].

В научных работах I. Giannopoulou и соавт. (2018) и Z. Shen и соавт. (2019) было высказано мнение о том, что нарушение регуляции синтеза и высвобождения нейротрофинов может привести к значительному влиянию на здоровье матери и плода [200, 226].

Плацента является важнейшим транзиторным нейроэндокринным органом на протяжении всей беременности [153]. Молекула внеклеточной сигнализации BDNF способствует пролиферации трофобласта, влияет на

ангиогенез и регулирует развитие плаценты и плода. Изменения уровней нейротрофинов приводят к патологиям плаценты, приводящим к различным осложнениям беременности, таким как преэклампсия, задержка внутриутробного развития и преждевременные роды [174].

Bienertova-Vasku et al., 2013 отмечает отсутствие разницы в уровнях BDNF в плазме крови матери в группах пациенток с наличием преэклампсии и контрольной группой. Однако уровни BDNF в пуповинной крови были значительно выше в группе пациенток с преэклампсией [100]. В другом исследовании уровни BDNF в пуповинной крови при родах у женщин с преэклампсией были ниже, чем у женщин из контрольной группы. Экспрессия гена BDNF в плаценте также была ниже у женщин с преэклампсией, чем у женщин в группе контроля [174]. В нашем исследовании не удалось выявить различие уровней нейротрофических факторов в связи с ограниченным числом пациентов с данной патологией. Данный вопрос крайне интересен для изучения в последующих исследованиях.

В экспериментальном исследовании Kodomari I et al. в 2009 году было доказано, что материнский BDNF достигает головного мозга плода через маточно-плацентарный барьер и может способствовать его развитию [182].

Antonakopoulos N. et al. полагают, что нарушение роста плода вызывает повышенную выработку фактора роста мозга плода как адаптивного механизма в ответ на неблагоприятные условия развития для плода, тем самым ускоряя развитие и созревание мозга плода [94]. Так в нашей работе отмечено, что степень структурных изменений в плаценте существенно различалась во 2 и 3-й группах по сравнению с 1-й группой ($p < 0,05$), аналогичных характер изменений имели уровень BDNF и GDNF ($p < 0,05$).

Christian L.M. et al. у женщин, родивших детей с низкой массой тела по сравнению со здоровой, было выявлено значительно более низкое содержание BDNF в сыворотке пуповинной крови [213]. В исследовании Malamitsi-Puchner A. et al. указано наличие статистически значимых различий в уровне нейротрофинов у новорожденных рожденных в срок и преждевременно.

Авторы связывают это с более зрелой нервной системой у доношенных новорожденных [197]. Необходимо отметить, что в нашем исследовании принимали участие пациенты с доношенным сроком беременности. В ходе работы было показано, что при рождении ребенка со средней оценкой по шкале Апгар ≥ 8 баллов уровень нейротрофических факторов был выше по сравнению с новорожденными имеющими более низкую оценку.

В 2004 году в проведенном Федоровым Г.Н. и соавт. клиническом исследовании было показано, что у детей с минимальными мозговыми дисфункциями уровень BDNF в 1,5 раза был ниже, чем у практически здоровых детей. Эти данные хорошо согласуются с нашими выводами о важной роли нейротрофинов в регуляции компенсаторно-приспособительных механизмов у плода [61].

Необходимо признать, что изучаемые нейротрофины в дальнейшем оказывают многогранное воздействие на организм (играют роль при формировании неврологических нарушениях в развивающемся мозге, предрасполагают к нейро- и психопатологии в дальнейшей жизни)

По существующим данным антенатальная и интранатальная гипоксия плода, акушерские осложнения, связанные с гипоксией, и гипоксия в раннем неонатальном периоде являются основными факторами риска, которые связаны с повышенным риском развития психопатологии у этих детей во взрослом возрасте [200].

Таким образом, в связи с важной ролью НТФ в реализации компенсаторных механизмов плода необходимо проводить дальнейшие экспериментальные и клинические исследования для более детального раскрытия механизмов их действия в перинатальном периоде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На сегодняшний день существует множество методов функциональной оценки состояния плода в родах. Данные о чувствительности и специфичности этих методов диагностики по-прежнему противоречивы, а вопрос верификации гипоксии не является решенным до конца. Но не менее важным остается вопрос о том, как плод и, впоследствии, новорожденный отреагируют на воздействие стресс-факторов, какими резервными возможностями они обладают. Вопросы компенсаторно-приспособительных механизмов плода, реализующиеся в родах, остаются малоизученными. В последние годы большое значение (экспериментальное, клиническое) в механизмах регуляции компенсаторно-приспособительных возможностей отдается нейротрофическим факторам, влияние которых является генетически-обусловленными.

В проведенном нами экспериментальном и клиническом исследованиях была показана важная роль нейротрофических факторов BDNF, GDNF в реализации внеклеточных механизмов регуляции гомеостаза нейронов, в результате которой обеспечиваются компенсаторно-приспособительные механизмы в ответ на неблагоприятное воздействие. Высокий уровень исследуемых нейротрофинов приводил к успешной реализации этих механизмов, обеспечивая гомеостаз нейронов плода и благоприятное течение периода адаптации новорождённых, в то время как их низкий уровень приводит к уменьшению резервных возможностей плода и новорожденного.

Вопросы, связанные с реализацией компенсаторно-приспособительных возможностей плода, требуют дальнейшего изучения для более глубокого понимания патофизиологических механизмов ответа на повреждающее действие, с целью улучшения перинатальных исходов, снижения частоты необоснованно выполненных оперативных вмешательств, оптимизации тактики ведения родов.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие хронической гипобарической гипоксии в 1-м 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 ($\rho_{xy} = 0,34$; $p > 0,05$).

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 ($\rho_{xy} = 0,48$; $p < 0,05$) 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 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 СОКРАЩЕНИЙ

- АККТГ - антенатальной компьютерной томографии
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ГИ-м-РНК - гипоксия-индуцированная мРНК
- ГИЭ – гипоксически-ишемическая энцефалопатия
- ДГБ – детская городская больница
- ИР – индекс резистентности
- КОС - кислотно-основное состояние крови
- КТГ – кардиотокография
- МКРН - Международный консенсус по реанимации новорожденных
- МСК – мезенхимальные стволовые клетки
- НТФ - нейротрофические факторы
- ОПВ – околоплодные воды
- ПИ – пульсационный индекс
- ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
- РД – родовая деятельность
- СЗРП – синдром задержки роста плода
- УЗИ – ультразвуковое исследование
- УЗ- мониторинг – ультразвуковой мониторинг
- ФГ – гуморальные факторы гипоксии (NSE, HIF)
- ФНО- α – фактор некроза опухоли α
- ХГГ - хроническая гипобарическая (высотная) гипоксия
- ЦНС – центральная нервная система
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- ЭА – эпидуральная анестезия
- ЭКГ - электрокардиография
- ЭхоКГ – эхокардиография

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

BDNF – мозговой нейротрофический фактор

BPP – biophysical profile (биофизический профиль плода)

DOR – δ -opioid receptor (дельта-опиоидный рецептор)

FVI - Flow vascularization index (васкуляризационнопоточковый индекс)

FIGO - the International Federation of Gynecology and Obstetrics

(Международная федерация акушеров и гинекологов)

GCSF - granulocyte-colony stimulating factor (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор)

GDNF – глиальный нейротрофический фактор

GFAP - Glial fibrillary acidic protein - глиофибрилярный кислый

протеин

GFR α – GDNF Family Receptor Alpha

HIF - гипоксия- индуцированный фактор

IGF2 - insulin like growth factor 2 (инсулиноподобный фактор роста 2)

MAPK – митоген-активированная протеинкиназа

NGF – nerve grows factor (фактор роста нервов)

NSE – нейронспецифическая енолаза

PK3-K/Akt - фосфатидилинозитол-3 киназа/ протеинкиназа B

Po₂ – парциальное давление кислорода

p75NTR - рецептор нейротрофина p75

STAN - анализатор сегмента ST

TrkB - рецептор тирозинкиназы B

VEGF - vascular endothelial growth factor (эндотелиальный фактор роста)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адаптационная роль глиального нейротрофического фактора при ишемии головного мозга / Е. В. Митрошина, Б. Ж. Абогессименгане, М. Д. Уразов [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 1. – С. 68-76.
2. Айламазян Э. К. Неотложная помощь при экстремальных состояниях в акушерской практике / Э. К. Айламазян. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2007. – 378-397 с.
3. Акушерство, 10-е издание / Э. К. Айламазян, В. С. Баранов, М. А. Тарасова [и др.]. – ГЭОТАР-Мед. – Москва, 2019. – 552 с.
4. Антигипоксические и нейропротективные свойства нейротрофических факторов BDNF и GDNF при гипоксии *in vitro* и *in vivo* / М. В. Ведунова, Т. А. Сахарнова, Е. В. Митрошина [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2014. – Т. 6. – № 4. – С. 38-47.
5. Баринова И. В. Особенности морфологической и пространственной структуры плаценты при антенатальной гипоксии плода / И. В. Баринова, С. В. Савельев, Ю. Б. Котов // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2015. – Т. 1. – С. 25-31.
6. Беженарь В. Ф. Беременность «высокого риска» и перинатальные потери / В. Ф. Беженарь, Л. А. Иванова, С. Г. Григорьев // Акушерство и гинекология. – 2020. – Т. 3. – С. 42-47.
7. Белушкина Н. Н. Заболевания, связанные с нарушением регуляции программируемой клеточной гибели / Н. Н. Белушкина, Т. Н. Хомякова, Ю. Н. Хомяков // Молекулярная медицина. – 2012. – Т. 2. – С. 3-10.
8. Берестовская В. С. Высокочувствительный тропонин: лабораторный критерий инфаркта миокарда или фактор риска? / В. С. Берестовская, Е. С. Ларичева // Медицинский алфавит. – 2013. – Т. 2. – № 21. – С. 59-62.

9. Боташева Т. Л. Методы оценки анатомо-функционального состояния кардиореспираторной системы плода во внутриутробном периоде онтогенеза / Т. Л. Боташева // Журнал фундаментальной медицины и биологии. – 2017. – Т. 3. – С. 41-50.
10. Ведунова М. В. Клеточные механизмы функционирования нейронных сетей гиппокампа в норме и при воздействии стресс-факторов: специальность 03.03.01 "Физиология : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Ведунова Мария Валерьевна; ФГБОУ науки Института теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук. – Пущино, 2015. – С. 1-41.
11. Власюк В. В. Патология головного мозга у новорожденных и детей раннего возраста / В. В. Власюк – Логосфера. – Москва, 2014. – 288 с.
12. Влияние антиоксидантной терапии на нейротрофины и процессы реабилитации после инсульта / Ю. В. Каракулова, Н. В. Селянина, А. В. Желнин [и др.] // Журнал психиатрии и неврологии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116. – № 8. – С. 36-39.
13. Влияние пренатальной гипоксии на содержание нейронспецифической енолазы в структурах головного мозга и сыворотке крови крыс в раннем онтогенезе / А. Ю. Морозова, А. В. Арутюнян, Ю. П. Милютин [и др.] // Нейрохимия. – 2020. – Т. 37. – № 3. – С. 233-239.
14. Высокочувствительный тропонин в диагностике инфаркта миокарда: реальная диагностическая ценность или переоцененные возможности / Л. Ю. Королева, Н. А. Голицына, В. П. Носов [и др.] // Медицинский альманах. – 2017. – Т. 3. – С. 165-168.
15. Гипоксия плода как причина неблагоприятных исходов беременности: систематический обзор методов оценки / Е. А. Макаровская, А. Н. Баранов, Н. Г. Истомина, П. П. Ревако // Экология человека. – 2021. – Т. 7. – С. 4-11.
16. Гудков Г. В. Абдоминальная электрокардиография в диагностике гипоксии плода при плацентарной недостаточности / Г. В. Гудков, В. М.

Покровский, М. В. Дурлештер // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – Т. 144. – № 2. – С. 1-20.

17. Демидов В. Н. Значение одновременного использования автоматизированной кардиотокографии и ультразвуковой доплерометрии для оценки состояния плода во время беременности / В. Н. Демидов, Б. Е. Розенфельд, И. К. Сигизбаева // SonoAce International. – 2001. – Т. 9.

18. Деревцов В. В. Некоторые эхокг показатели у новорожденных с задержкой роста плода / В. В. Деревцов, Д. О. Иванов, Н. Ф. Прийма // Детская медицина Северо-Запада. – 2014. – Т. 5. – № 4. – С. 55-59.

19. Диагностика и лечение нарушений сердечного ритма плода / Г. В. Комарова, П. Б. Цывьян, В. В. Ковалев, Е. В. Сивов // Уральский медицинский журнал. – 2010. – Т. 5. – С. 53-56.

20. Динамика изменения содержания нейротрофических факторов в структурах головного мозга крыс в раннем онтогенезе после пренатальной гипоксии / А. Ю. Морозова, А. В. Арутюнян, Ю. П. Милютин [и др.] // Нейрохимия. – 2018. – Т. 35. – С. 256-263.

21. Еремина О. В. Совершенствование диагностики и тактики ведения родов при интранатальной гипоксии плода: специальность 14.01.01 «акушерство и гинекология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Еремина Ольга Вадимовна; ФГБОУ научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова. – Москва, 2014. – 157 с.

22. Закурина А. Н. Особенности внутриплацентарного кровотока при физиологической беременности / А. Н. Закурина, Н. Г. Павлова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2013. – Т. LXII. – № 2. – С. 29-33.

23. Закурина А. Внутриплацентарный кровоток в III триместре беременности, осложненной плацентарной недостаточностью / А. Н. Закурина, Н. Г. Павлова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. 5. – С. 51-57.

24. Зорин К. В. Диагностика состояния плода до родов и ее отражение в работе медицинского музея / К. В. Зорин // «I всероссийская научно-практическая конференция “медицинские музеи России: состояние и перспективы”» московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова. – 2014. – С. 22-23.
25. Исследование крови из подлежащей части плода в оценке его состояния в родах / О. В. Еремина, Е. М. Шифман, О. Р. Баев, Н. В. Александрова // Акушерство и гинекология. – 2011. – Т. 8. – С. 15-20.
26. Казанцева Е. В. Современные аспекты патогенеза, диагностики и тактики ведения беременных с синдромом задержки роста плода / Е. В. Казанцева, Н. В. Долгушина // ЭНИ Забайкальский медицинский вестник. – 2012. – Т. 2. – С. 8.
27. Клименко Т. М. Перинатальное гипоксическое поражение центральной нервной системы: современный взгляд на проблему / Т. М. Клименко, И. Тарасова, С. Н. Касян // Вопросы практической педиатрии. – 2013. – Т. 8. – № 4. – С. 40-45.
28. Клиническое значение экспрессии маркера адаптации к гипоксии HIF-1 α у беременных с начальными формами заболевания вен / Е. Ю. Юпатов, Л. И. Мальцева, Т. П. Зефирова [и др.] // Акушерство гинекология репродукция. – 2021. – Т. 15. – № 3.
29. Кораблев Р. В. Неоангиогенез и опухолевый рост / Р. В. Кораблев, А. Г. Васильев // Российские биомедицинские исследования. – 2017. – Т. 2. – № 4. – С. 3-10.
30. Коржевский Д. Э. Плацентарная недостаточность — морфофункциональные паралели / Д. Э. Коржевский, Н. Г. Павлова, А. Н. Закурина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX. – № 5. – С. 51-55.
31. Котий С. А. Нейротрофические факторы нервной системы как индикаторы адаптации и повреждения головного мозга при перинатальной гипоксии у новорожденных : специальность 14.00.13 «Нервные болезни» :

диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Котий Светлана Александровна ; ГБОУ ВПО «Российский Государственный Медицинский Университет» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию. – Москва, 2006. – 154 с.

32. Котий С. А. Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) и нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) у новорожденных с перинатальными гипоксическими поражениями ЦНС / С. А. Котий, Г. С. Голосная // Вопросы современной педиатрии. – 2006. – С. 149.

33. Кузнецов П. А. Гипоксия плода и асфиксия новорожденного / П. А. Кузнецов, П. В. Козлов // Лечебное дело. – 2017. – Т. 4. – С. 9-15.

34. Макаров И. О. Кардиотокография при беременности и в родах / И. О. Макаров, Е. В. Юдина. – 4-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2016. – 112 с.

35. Манухин И. Б. Методы прогнозирования дистресса плода в родах / И. Б. Манухин // Пренатальная диагностика. – 2017. – Т. 1. – С. 10-14.

36. Медико-социальные аспекты рождения детей с синдромом задержки развития плода / Л. Герасимова, Т. Денисова, Т. Сидорова [и др.] // Охрана материнства и детства. – 2015. – Т. 2. – № 46. – С. 13-17.

37. Методы биомедицинских исследований Влияние острой гипобарической гипоксии крыс и мышей / Х. Х. Семенов, Н. Н. Каркищенко, Е. Л. Матвеев, Г. Д. Капанадзе // Биомедицина. – 2012. – Т. 3. – С. 6-8.

38. Михайлов А. В. Асфиксия плода / А. В. Михайлов, Р. Тунелл А. – Санкт-Петербург : Петрополис, 2001. – 100 с.

39. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотонинергическая система мозга / Н. К. Попова, Т. В. Ильчибаева, В.С. Науменко // Биохимия. – 2017. – Т. 82. – № 3. – С. 449-459.

40. Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) в ранней диагностике внутрижелудочковых кровоизлияний и перивентрикулярной лейкомаляции у новорожденных детей / Г. С. Голосная, А. С. Петрухин, А. А.

Терентьев, А. Б. Дуленков // Вопросы соврем. педиатрии. – 2005. – Т. 4. – № 3. – С. 13-18.

41. Новые аспекты адаптации центральной нервной системы к пренатальной гипоксии / М. Д. Уразов, Т. А. Астраханова, Т. А. Мищенко [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10. – № 4. – С. 60-68.

42. Определение концентрации нейротрофических факторов и нейрон-специфической енолазы в крови новорожденных с повреждениями центральной нервной системы как новый подход в клинической диагностике / М. В. Ведунова, К. А. Терентьева, Н. А. Щелчкова [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2015. – Т. 7. – № 2. – С. 25-30.

43. Особенности артериальной и венозной гемодинамики в функциональной системе мать-плацента-плод при многоплодии / Н. Н. Константинова, Н. Г. Павлова, В. С. Прохорова, А. В. Новикова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2003. – С. 24-31.

44. Особенности психоэмоционального состояния беременных с перинатальными потерями в анамнезе / В. В. Каминский, И. Б. Венцковская, А. И. Жданович [и др.] // Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. – 2020. – Т. 11. – № 1. – С. 66-74.

45. Острова И. В. Экспрессия мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышает устойчивость нейронов к гибели в постреанимационном периоде / И. В. Острова, М. Ш. Аврущенко // Общая реаниматология. – 2015. – Т. 11. – № 3. – С. 45.

46. Павлова Н. Г. Антенатальная кардиотокография - проблемы и возможности / Н. Г. Павлова // Ж. акуш. и жен. болезн. – 2015. – Т. 64. – № 2. – С. 64-67.

47. Павлова Н. Г. Неврология плода - возможности и перспективы исследования / Н. Г. Павлова, Н. Н. Константинова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2003. – Т. 2. – С. 86-94.

48. Павлова Н. Г. Значение ферментов глутатионзависимого звена антиоксидантной защиты для прогноза невынашивания беременности / Н. Г.

Павлова, В. Прокопенко, Г. К. Парцалис // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. 2. – С. 65-68.

49. Палютина Е. Особенности течения беременности и ведения родов, исходом которых было рождение новорожденного в состоянии тяжелой асфиксии / Е. Палютина, И. Козловская, Л. Шубин // Естественные и технические науки. – 2021. – Т. 5. – С. 151-158.

50. Пестрикова Т. Ю. Мекониально окрашенные воды: современные аспекты тактики ведения родов / Т. Ю. Пестрикова, Е. А. Юрасова, В. А. Ткаченко // Лечение и профилактика. – 2016. – Т. 2. – № 18. – С. 55-61.

51. Подходы к стандартизации фетометрии в России: проект INTERGROWTH-21 и его внедрение / А. Холин, А. Гус, З. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – Т. 9. – С. 170-175.

52. Постгипоксическая ишемия миокарда у новорожденных детей: диагностика и терапия тяжелых форм / Ю. Н. Белова, А. А. Тарасова, В. Н. Подкопаев, И. Ф. Острейков // Анестезиология и реаниматология. – 2012. – Т. 1. – С. 65-68.

53. Проба Гауснехт как способ прогнозирования кесарева сечения и реанимации новорожденного / В. Е. Радзинский, Н. А. Уракова, А. Л. Ураков, Д. Б. Никитюк // Архив Акушерства И Гинекологии Им. В.Ф. Снегирева. – 2014. – Т. 1. – № 2. – С. 14-18.

54. Прогнозирование и ранняя диагностика тяжелых церебральных расстройств у недоношенных новорожденных / О. В. Ремнева, Н. И. Фадеева, Ю. Кореновский, Т. Черкасова // Педиатрия. – 2015. – Т. 94. – № 1. – С. 13-18.

55. Прогностическая значимость и терапевтический потенциал мозгового нейротрофического фактора BDNF при повреждении головного мозга (обзор) / И. В. Острова, Н. В. Голубева, А. Н. Кузовлев, А. М. Голубев // Общая реаниматология. – 2019. – Т. 15. – № 1. – С. 70-86.

56. Прогностическое значение методов оценки состояния матери и плода / Д. А. Атабиева, Р. А. Чилова, И. В. Гадаева [и др.] // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2015. – Т. 2. – № 2. – С. 4-10.

57. Прогностическое значение содержания в крови нейротрофического фактора мозга (BDNF) при терапии некоторых функциональных и органических заболеваний нервной системы с применением адаптола / С. А. Живолупов, И. Н. Самарцев, А. А. Марченко, О. В. Пуляткина // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – Т. 4. – С. 37-41.
58. Радзинский В. Е. Акушерская агрессия, v.2.0 / В. Е. Радзинский А. – 2. – Москва : Медиабюро Статус презенс, 2017. – 872 с.
59. Радзинский В. Е. Акушерский риск. Максимум информации–минимум опасности для матери и младенца / В. Е. Радзинский, С. Князев, И. Костин. – Litres. – 2022.
60. Расулова Г. Т. Ультразвуковая доплерометрия маточно плацентарного кровотока при неосложненном течении родов. / Г. Т. Расулова, Н. К. Усманова, Н. П. Артыкова // Медицинская визуализация. – 2011. – № 3. – С. 66-68.
61. Роль определения мозгового нейротрофического фактора человека у детей с ММД / Г. Н. Федоров, В. Н. Григорьева, М. А. Константинова, В. Г. Федоров // Нейроиммунология. – 2004. – Т. 6. – № 3-5. – С. 429.
62. Рысева Л. Л. Прогностическая ценность определения перинатальных факторов риска у новорожденных детей / Л. Л. Рысева, О. Г. Сизова // Вятский Медицинский Вестник. – 2009. – С. 2-4.
63. Савельева Г. М. Библиотека практического врача, актуальные вопросы акушерства и гинекологии. Реанимация и интенсивная терапия новорожденных (родившихся в асфиксии / Г. М. Савельева А. – 2. – Москва : Медицина, 1981. – 176 с.
64. Сахарнова Т. А. Нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) и его роль в функционировании центральной нервной системы / Т. А. Сахарнова, М. В. Ведунова, И. В. Мухина // Нейрохимия. – 2012. – Т. 4. – С. 269-277.

65. Семенова Е. Р. Оценка состояния плода при неосложненной беременности более 40 недель путем измерения амниотического индекса и доплерометрии в средней мозговой артерии плода / Е. Р. Семенова, Н. Н. Рухляда, О. А. Клиценко // Вестник дагестанской государственной медицинской академии. – 2021. – Т. 1. – № 38. – С. 16-24.
66. Синюкова Т. А. Патоморфологические признаки плацентарной недостаточности при различных степенях инфицирования плаценты / Т. А. Синюкова // Научные исследования и разработки молодых ученых. – 2015. – Т. 6. – С. 6-9.
67. Современные методы оценки состояния плода в родах / М. Ю. Долидзе, М. В. Усынин, Н. Д. Трещева, А. Н. Баранов // Журнал Акушерства И Женских Болезней. – 2014. – Т. 63. – № 5. – С. 82-88.
68. Современные представления о патогенезе гипоксии плода и роли в нем гипоксия-индуцируемого фактора (HIF) / М. В. Большакова, В. Ф. Беженарь, Н. Г. Павлова [и др.] // Акушерство и гинекология Санкт-Петербурга. – 2019. – Т. 1. – С. 19-24.
69. Содержание нейронспецифической енолазы и мозгового нейротрофического фактора в пуповинной крови доношенных новорожденных с задержкой внутриутробного развития / А. Ю. Морозова, Ю. П. Милютин, А. В. Ковальчук-Ковалевская, О. В. Арутюнян, И. И. Евсюкова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68. – № 1. – С. 29-36.
70. Соколовская Т. А. Вклад перинатальных причин в формирование детской инвалидности / Т. А. Соколовская // Информационно-аналитический вестник «Социальные аспекты здоровья населения». – 2008. – Т. 4.
71. Суханова Л. П. Перинатальная ситуация в современной России / Л. П. Суханова // Социальные аспекты здоровья населения. – 2007. – Т. 2.
72. Течение и ведение родов при наличии мекония в околоплодных водах / Р. И. Шалина, Е. П. Тищенко, Е. Я. Караганова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 1999. – Т. 5. – С. 3-6.

73. Уракова Н. А. Устойчивость плода к гипоксии и родам / Н. А. Уракова, А. Л. Ураков // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2012. – Т. 4. – № 40. – С. 221-223.
74. Участие эндоканнабиноидной системы в адаптации нейрон-глиальных сетей к факторам ишемии *in vitro* / Е. В. Митрошина, Т. А. Мищенко, Н. В. Воронова [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2017. – Т. 9. – № 4. – С. 66-75.
75. Федорова М. В. Диагностика и лечение внутриутробной гипоксии плода / М. В. Федорова А. – Москва : Медицина, 1982. – 208 с.
76. Характеристика нейроспецифических маркеров у глубоконе доношенных новорожденных с гипоксическим поражением центральной нервной системы / Ю. Ю. Попова, В. А. Желев, Е. В. Михалев [и др.] // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2007. – Т. 22. – № 4. – С. 5-10.
77. Цидвинцева Л. Н. Комплексное исследование состояния плода при беременности и в родах / Л. Н. Цидвинцева // АГ-инфо. – 2006. – Т. 1. – С. 24-27.
78. Цой Е. Г. Влияние хронической внутриутробной гипоксии на постнатальную адаптацию у новорожденных и методы коррекции / Е. Г. Цой // Мать и дитя в Кузбассе. – 2004. – Т. 2. – № 17. – С. 14-19.
79. Чернуха Е. А. Родовой блок / Е. А. Чернуха. – Москва : Триада-Х, 2003. – 89-98, 341-347 с.
80. Чурилова А. В. Исследование влияния различных режимов гипобарической гипоксии на экспрессию транскрипционных факторов и про-адаптивных белков в мозге крыс / А. В. Чурилова. – 2014. – 1-21 с.
81. Шабалов Н. П. Неонатология : Учебн. пособие : В 2 т. / Н. П. Шабалов А. – Москва : МЕДпресс-информ, 2004. – 608 с.
82. Шаргаева Н. В. Диагностика угрожаемых состояний плода во время беременности и в родах / Н. В. Шаргаева // Проблемы здоровья и экологии. – 2005.

83. Шишкина Т. В. Антигипоксическое и нейропротекторное действие глиального нейротрофического фактора при моделировании факторов ишемии: специальность 03.03.01 «Физиология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Шишкина Татьяна Викторовна; Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН. – Санкт-Петербург, 2017. – 1-24 с.
84. Щербакова Е. М. Демографические итоги I полугодия 2021 года в России (часть II) / Е. М. Щербакова // Демоскоп Weekly. – 2021. – Тт. 913-914.
85. A piglet model of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy / K. J. Kyng, T. Skajaa, S. Kernn-Jespersen [et al.] // Journal of Visualized Experiments. – 2015. – Vol. 2015. – № 99. – P. 1-12.
86. Alfirevic Z. Continuous cardiotocography (CTG) as a form of electronic fetal monitoring (EFM) for fetal assessment during labour / Z. Alfirevic, D. Devane, G. M. L. Gyte // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2013. – Vol. 2013. – № 5.
87. Alterations in Doppler velocimetry indices of the umbilical artery during fetal hypoxia in labor, in relation to cardiotocography and fetal pulse oximetry findings / C. Siristatidis, E. Salamalekis, D. Kassanos, G. Creatsas // Archives of Gynecology and Obstetrics. – 2005. – Vol. 272. – № 3. – P. 191-196.
88. Animal models for neonatal brain injury induced by hypoxic ischemic conditions in rodents / N. Hamdy, S. Eide, H. S. Sun, Z. P. Feng // Experimental Neurology. – 2020. – Vol. 334. – № March. – P. 1-20.
89. Antenatal cardiotocography for fetal assessment / R. M. Grivell, Z. Alfirevic, G. M. L. Gyte, D. Devane // Cochrane Database of Systematic Reviews. – 2015. – Vol. 2015. – № 9. – P. 1-39.
90. Anti-inflammatory and immunomodulatory mechanisms of mesenchymal stem cell transplantation in experimental traumatic brain injury. / R. Zhang, Y. Liu, K. Yan [et al.] // Journal of neuroinflammation. – 2013. – Vol. 10. – P. 106.

91. Antiapoptotic and antiautophagic effects of glial cell line-derived neurotrophic factor and hepatocyte growth factor after transient middle cerebral artery occlusion in rats. / J. Shang, K. Deguchi, T. Yamashita [et al.] // *Journal of neuroscience research*. – 2010. – Vol. 88. – № 10. – P. 2197-2206.
92. Antibody against Na/K-ATPase Inhibitor Lowers Blood Pressure and Increases Vascular Fli1 in Experimental Preeclampsia / N. I. Agalakova, V. A. Reznik, O. V. Nadei [et al.] // *American Journal of Hypertension*. – 2020. – Vol. 33. – № 6. – P. 514-519.
93. ARNT/HIF-1 β links high-risk 1q21 gain and microenvironmental hypoxia to drug resistance and poor prognosis in multiple myeloma / C. Wu, T. Yang, Y. Liu [et al.] // *Cancer Medicine*. – 2018. – Vol. 7. – № 8. – P. 3899-3911.
94. Association between brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in 2 nd trimester amniotic fluid and fetal development / N. Antonakopoulos, Z. Iliodromiti, G. Mastorakos [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2018. – Vol. 2018.
95. Associations between neural injury markers of intrauterine growth-restricted infants and neurodevelopment at 2 years of age / E. Mazarico, E. Llurba, L. Cabero [et al.] // *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* ISSN: – 2018. – Vol. 7058. – P. 1-36.
96. Bayesian interpretation of trials: The example of intrapartum electronic fetal heart rate monitoring / J. Hornbuckle, A. Vail, K. R. Abrams, J. G. Thornton // *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2000. – Vol. 107. – № 1. – P. 3-10.
97. BDNF: A Key Factor with Multipotent Impact on Brain Signaling and Synaptic Plasticity / P. Kowiański, G. Lietzau, E. Czuba [et al.] // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2018. – Vol. 38. – № 3. – P. 579-593.
98. Ben-shoshan J. Hypoxia-Inducible Factor-1 and -2 additively promote endothelial vasculogenic properties / J. Ben-shoshan, S. Maysel-auslender // *journal of vascular reserch*. – 2009. – Vol. 46. – P. 299-310.
99. Biomedicine & Pharmacotherapy Intermittent hypobaric hypoxia causes deleterious effects on the reproductive system in female rats / W. Liu, L. Pu,

B. Deng [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2020. – Vol. 130. – № March. – P. 110511.

100. Brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor in maternal plasma and umbilical cord blood from pre-eclamptic and physiological pregnancies / J. Bienertova-Vasku, P. Bienert, F. Zlamal [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2013. – Vol. 33. – № 4. – P. 359-363.

101. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species / B. D. Semplea, K. Blomgrenb, K. Gimlin [et al.] // *Prog Neurobiol*. – 2013. – P. 1-16.

102. Caldeyro-Barcia R. Control of human fetal heart rate during labour. The heart and circulation in the newborn and infant / R. Caldeyro-Barcia // *Grüne and Stratton*. – 1966.

103. Cameron V. A. Minireview: Natriuretic peptides during development of the fetal heart and circulation / V. A. Cameron, L. J. Ellmers // *Endocrinology*. – 2003. – Vol. 144. – № 6. – P. 2191-2194.

104. Can we delineate brain injury in full-term neonates using serum biomarkers ? / N. Efstathiou, A. Slavakis, V. Drossou [et al.] // *Brain Injury*. – 2021. – P. 1-10.

105. Carbonne B. Foetal scalp blood sampling during labour for pH and lactate measurements / B. Carbonne, K. Pons, E. Maisonneuve // *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*. – 2016. – Vol. 30. – № July. – P. 62-67.

106. Cardiac troponin T in cord blood / S. J. Clark, P. Newland, C. W. Yoxall, N. V. Subhedar // *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition*. – 2001. – Vol. 84. – № 1. – P. 34-37.

107. Carter A. M. Animal Models of Human Placentation - A Review / A. M. Carter // *Placenta*. – 2007. – Vol. 28. – P. 41-47.

108. Cerebrospinal fluid levels of neuron-specific enolase predict the severity of brain damage in newborns with neonatal hypoxic-ischemic

encephalopathy treated with hypothermia / M. Leo'n-Lozano, J. Arnaez, A. Valls [et al.] // PloS one. – 2020. – P. 1-18.

109. Cheng H. Ability of GDNF to diminish free radical production leads to protection against kainate-induced excitotoxicity in hippocampus. / H. Cheng, Y.-S. Fu, J.-W. Guo // Hippocampus. – 2004. – Vol. 14. – № 1. – P. 77-86.

110. Circulating MicroRNAs in maternal blood as potential biomarkers for fetal hypoxia in-utero. / C. L. Whitehead, W. T. Teh, S. P. Walker [et al.] // PloS one. – 2013. – Vol. 8. – № 11. – P. e78487.

111. Cleary G. M. Meconium-stained amniotic fluid and the meconium aspiration syndrome: An update / G. M. Cleary, T. E. Wiswell // Pediatric Clinics of North America. – 1998. – Vol. 45. – № 3. – P. 511-529.

112. Clinical assessment of fetal electrocardiogram monitoring in labour / K. W. Murphy, V. Russell, P. Johnson, J. Valente // BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. – 1992. – Vol. 99. – № 1. – P. 32-37.

113. Clinical significance of dynamic measurements of seric TNF- α , HMGB1 , and NSE levels and aEEG monitoring in neonatal asphyxia / X. Zhang, B. Zhang, S. Guo [et al.] // European Review for Medical and Pharmacological Sciences. – 2017. – Vol. 21. – P. 4333-4339.

114. Clinical value of a single postnatal lactate measurement after intrapartum asphyxia / S. da Silva, N. Hennebert, R. Denis, J. L. Wayenberg // Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics. – 2000. – Vol. 89. – № 3. – P. 320-323.

115. Comparative routes of oxytocin administration in crated farrowing sows and its effects on fetal and postnatal asphyxia. / D. Mota-Rojas, M. E. Trujillo, J. Martínez [et al.] // Animal reproduction science. – 2006. – Vol. 92. – № 1-2. – P. 123-143.

116. Comparison of hypobaric hypoxia symptoms between a recalled exposure and a current exposure / M. Tu, K. Chiang, C. Cheng [et al.] // PloS one. – 2020. – Vol. 15. – № 9. – P. 1-11.

117. Cord blood B-type natriuretic peptide levels in placental insufficiency: Correlation with fetal Doppler and pH at birth / V. N. Costa, R. M. Y. Nomura, S. Miyadahira [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2013. – Vol. 171. – № 2. – P. 231-234.
118. Determination of pH or lactate in fetal scalp blood in management of intrapartum fetal distress: Randomised controlled multicentre trial / E. Wiberg-Itzel, C. Lipponer, M. Norman [et al.] // *Bmj*. – 2008. – Vol. 336. – № 7656. – P. 1284-1287.
119. Devane D. Midwives' visual interpretation of intrapartum cardiotocographs: intra-and inter-observer agreement / D. Devane, J. L.-J. of advanced Nursing // *Wiley Online Library*. – 2017. – Vol. 52. – № 2. – P. 133-141.
120. Diagnostic value of troponin T in neonates of mild pre-eclamptic mothers. / N. Narin, N. Cetin, H. Kiliç [et al.] // *Biology of the neonate*. – 1999. – Vol. 75. – № 2. – P. 137-142.
121. Douglas-Escobar M. Biomarkers of hypoxic-ischemic encephalopathy in newborns / M. Douglas-Escobar, M. D. Weiss // *Frontiers in Neurology*. – 2012. – Vol. NOV. – № November. – P. 1-5.
122. Downregulation of umbilical cord blood levels of mir-374a in neonatal hypoxic ischemic encephalopathy / A. M. Looney, B. H. Walsh, G. Moloney [et al.] // *The Journal of Pediatrics*. – 2015. – Vol. 167. – № 2. – P. 269-273.
123. Dupuis O. Fetal monitoring during the active second stage of labor / O. Dupuis, A. Simon // *Journal de Gynecologie Obstetrique et Biologie de la Reproduction*. – 2008. – Vol. 37. – № 93-100.
124. Effect of mesenchymal stem cell transplantation on brain-derived neurotrophic factor expression in rats with Tourette syndrome. / X. Liu, X. Wang, A. Li, X. Jiao // *Experimental and therapeutic medicine*. – 2016. – Vol. 11. – № 4. – P. 1211-1216.
125. Effect of prenatal hypoxia in transgenic mouse models of preeclampsia and fetal growth restriction / C. F. Rueda-Clausen, J. L. Stanley, D. F. Thambiraj [et al.] // *Reproductive Sciences*. – 2014. – Vol. 21. – № 4. – P. 492-502.

126. Effects of labor epidural analgesia on short term neonatal morbidity / K. M. Salameh, V. Anvar Paraparambil, A. Sarfrazul [et al.] // *International journal of women's health*. – 2020. – Vol. 12. – P. 59-70.
127. Effects of maternal analgesia and anesthesia on the fetus and the newborn. / L. Arnaout, S. Ghiglione, S. Figueiredo, A. Mignon // *Journal de gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction*. – 2008. – Vol. 37 Suppl 1. – P. S46-55.
128. Epidural analgesia in labour and neonatal respiratory distress: A case-control study / M. Kumar, S. Chandra, Z. Ijaz, A. Senthilselvan // *Archives of Disease in Childhood: Fetal and Neonatal Edition*. – 2014. – Vol. 99. – № 2. – P. F116-9.
129. Evolutionary conserved regulation of HIF-1 β by nf- κ b / P. van Uden, N. S. Kenneth, R. Webster [et al.] // *PLoS Genetics*. – 2011. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-16.
130. Expression and significance of serum miRNA-21 expression in neonates with HIE / J.-P. Shi, LY-W, G.-M. Sang [et al.] // *Pract. Prev. Med.* – 2018. – Vol. 25. – P. 655-658.
131. Fawole B. Maternal oxygen administration for fetal distress. / B. Fawole, G. J. Hofmeyr // *The Cochrane database of systematic reviews*. – 2012. – Vol. 12. – № 12. – P. CD000136.
132. Fetal assessment based on fetal biophysical profile scoring. III. Positive predictive accuracy of the very abnormal test (biophysical profile score = 0) / F. A. Manning, C. R. Harman, I. Morrison, S. Menticoglou // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1990. – Vol. 162. – № 2. – P. 398-402.
133. Fetal brain sparing in a mouse model of chronic maternal hypoxia / L. S. Cahill, J. Hoggarth, J. P. Lerch [et al.] // *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2019. – Vol. 39. – № 6. – P. 1172-1184.
134. Fetal cardiac function assessed by Doppler myocardial performance index (Tei Index) / D. Friedman, J. Buyon, M. Kim, J. S. Glickstein // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2003. – Vol. 21. – № 1. – P. 33-36.

135. Fetal cerebrovascular response to chronic hypoxia--implications for the prevention of brain damage / A. Salihagić-Kadić, M. Medić, D. Jugović [et al.] // *J Matern Fetal Neonatal Med.* – 2006. – Vol. 19. – № 7. – P. 387-396.
136. Fetal pulse oximetry: Correlation between oxygen desaturation, duration, and frequency and neonatal outcomes / D. M. Gorenberg, C. Pattillo, P. Hendi [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* – 2003. – Vol. 189. – № 1. – P. 136-138.
137. Finch C. A. Oxygen Transport in Man / C. A. Finch, C. Lenfant // *New England Journal of Medicine.* – 1972. – Vol. 286. – № 8. – P. 407-415.
138. Foetal scalp blood sampling: Impact on the incidence of caesarean section and assisted vaginal deliveries for non-reassuring foetal heart rate and its use according to gestational age / P. Reif, J. Haas, W. Schll, U. Lang // *Zeitschrift für Geburtshilfe und Neonatologie.* – 2011. – Vol. 215. – № 05. – P. 194-198.
139. Fujii T. Differential expression and the anti-apoptotic effect of human placental neurotrophins and their receptors / T. Fujii // *Placenta.* – 2011. – Vol. 32. – P. 737.
140. Furukawa S. A comparison of the histological structure of the placenta in experimental animals / S. Furukawa, Y. Kuroda, A. Sugiyama // *Journal of Toxicologic Pathology.* – 2014. – Vol. 27. – № 1. – P. 11-18.
141. Gender-specific differences in fetal cardiac troponin T in pregnancies complicated by placental insufficiency. / R. M. Y. Nomura, C. Ortigosa, L. R. Fiorelli [et al.] // *Gender medicine. official journal of the Partnership for Gender-Specific Medicine at Columbia University.* – 2011. – Vol. 8. – № 3. – P. 202-208.
142. Gestational Hypoxia and Developmental Plasticity / C. A. Ducusay, R. Goyal, W. J. Pearce [et al.] // *Physiological Reviews.* – 2018. – Vol. 98. – № 3. – P. 1241-1334.
143. Glial cell line-derived neurotrophic factor protects against ischemia/hypoxia-induced brain injury in neonatal rat. / T. Ikeda, X. Y. Xia, Y. X. Xia [et al.] // *Acta neuropathologica.* – 2000. – Vol. 100. – № 2. – P. 161-167.

144. Golan M. Antidepressants elevate GDNF expression and release from C 6 glioma cells in a β -arrestin1-dependent, CREB interactive pathway / M. Golan, G. Schreiber, S. Avissar // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2011. – Vol. 14. – № 10. – P. 1289-1300.
145. Green E. S. Pathogenesis of preterm birth: bidirectional inflammation in mother and fetus / E. S. Green, P. C. Arck // *Seminars in Immunopathology*. – 2020. – Vol. 42. – № 4. – P. 413-429.
146. Grigsby P. L. Animal Models to Study Placental Development and Function throughout Normal and Dysfunctional Human Pregnancy / P. L. Grigsby // *Semin Reprod Med*. – 2016. – Vol. 34. – № 1. – P. 11-16.
147. Hamed H. O. Intrapartum fetal asphyxia: Study of umbilical cord blood lactate in relation to fetal heart rate patterns / H. O. Hamed // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2013. – Vol. 287. – № 6. – P. 1067-1073.
148. High-dose versus low-dose of oxytocin for labour augmentation: a randomised controlled trial / L. Selin, U.-B. B. Wennerholm, M. Jonsson [et al.] // *Women and Birth*. – 2019. – Vol. 32. – № 4. – P. 356-363.
149. Histopathological Changes of Placenta in Meconium Stained Liquor and Its Relevance in Fetal Distress: A Case Control Study. / T. R. Mondal, G. Bandyopadhyay, S. G. Mukhopadhyay, D. Ganguly // *Turk patoloji dergisi*. – 2019. – Vol. 35. – № 2. – P. 107-118.
150. Hofmeyr G. J. Piracetam for fetal distress in labour. / G. J. Hofmeyr, R. Kulier // *The Cochrane database of systematic reviews*. – 2012. – Vol. 2012. – № 6. – P. CD001064.
151. Huckabee W. E. Abnormal resting blood lactate / W. E. Huckabee // *The American Journal of Medicine*. – 1961. – Vol. 30. – № 6. – P. 840-848.
152. Human bone marrow mesenchymal stem/stromal cells produce efficient localization in the brain and enhanced angiogenesis after intra-arterial delivery in rats with cerebral ischemia, but this is not translated to behavioral recovery. / B. Mitkari, F. Nitzsche, E. Kerkelä [et al.] // *Behavioural brain research*. – 2014. – Vol. 259. – P. 50-59.

153. Human placenta and fetal membranes express nerve growth factor mRNA and protein / P. Toti, P. Ciarmela, P. Florio [et al.] // *Journal of Endocrinological Investigation*. – 2006. – Vol. 29. – № 4. – P. 337-341.
154. Human placental metabolic adaptation to chronic hypoxia, high altitude: Hypoxic preconditioning / M. C. T. Van Patot, A. J. Murray, V. Beckey [et al.] // *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. – 2010. – Vol. 298. – № 1. – P. 166-173.
155. Hypoxia-inducible factor (HIF-1) α : its protein stability and biological functions / J.-W. Lee, S.-H. Bae, J.-W. Jeong [et al.] // *EXPERIMENTAL and MOLECULAR MEDICINE*. – 2004. – Vol. 36. – № 1. – P. 1-12.
156. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension / G. L. Wang, B. H. Jiang, E. A. Rue, G. L. Semenza // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1995. – Vol. 92. – № 12. – P. 5510-5514.
157. Interest of lactate micro-dosage in scalp and umbilical cord in cases of abnormal fetal heart rate during labor. Prospective study on 162 patients / A. Paris, S. Maurice-Tison, F. Coatleven [et al.] // *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction*. – 2012. – Vol. 41. – № 4. – P. 324-332.
158. Internal versus external intrapartum foetal heart rate monitoring: The effect on linear and nonlinear parameters / H. Gonçalves, A. P. Rocha, D. Ayres-De-Campos, J. Bernardes // *Physiological Measurement*. – 2006. – Vol. 27. – № 3. – P. 307-319.
159. International Guidelines for Neonatal Resuscitation: An excerpt from the Guidelines 2000 / S. Niermeyer, J. Kattwinkel, P. Van Reempts [et al.] // *Pediatrics*. – 2000. – Vol. 106. – № 3.
160. International standards for fetal growth based on serial ultrasound measurements: the Fetal Growth Longitudinal Study of the INTERGROWTH-21st Project / E. Papageorghiou, AT Ohuma, D. Altman, T. Todros [et al.] // *Lancet*. – 2014. – Vol. 384. – P. 869-879.

161. Intracellular Neuroprotective Mechanisms in Neuron-Glial Networks Mediated by Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor / E. V. Mitroshina, T. A. Mishchenko, O. M. Shirokova [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2019. – Vol. 2019.

162. Intrapartum cardiotocography - The dilemma of interpretational variation / O. Palomäki, T. Luukkaala, R. Luoto, R. Tuimala // *Journal of Perinatal Medicine*. – 2006. – Vol. 34. – № 4. – P. 298-302.

163. Intrapartum fetal heart rate monitoring. III. Association of meconium with abnormal fetal heart rate patterns / H. B. Krebs, R. E. Petres, L. J. Dunn [et al.] // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1980. – Vol. 137. – № 8. – P. 936-943.

164. Intrapartum fetal scalp lactate sampling for fetal assessment in the presence of a non-reassuring fetal heart rate trace / C. E. East, L. R. Leader, P. Sheehan [et al.] // *Cochrane Database of Systematic Reviews*. – 2015. – Vol. 2015. – № 5.

165. Is the correlation between fetal oxygen saturation and blood pH sufficient for the use of fetal pulse oximetry? / R. J. P. Rijnders, B. W. J. Mol, P. J. H. M. Reuwer [et al.] // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. – 2002. – Vol. 11. – № 2. – P. 80-83.

166. Jones K. R. Molecular cloning of a human gene that is a member of the nerve growth factor family / K. R. Jones, L. F. Reichardt // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1990. – Vol. 87. – № 20. – P. 8060-8064.

167. Jørgensen J. S. Fetal scalp blood sampling in labor - A review / J. S. Jørgensen, T. Weber // *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. – 2014. – Vol. 93. – № 6. – P. 548-555.

168. Karege F. Postnatal developmental profile of brain-derived neurotrophic factor in rat brain and platelets / F. Karege, M. Schwald, M. Cisse // *Neuroscience Letters*. – 2002. – Vol. 328. – № 3. – P. 261-264.

169. Kumar M. Epidural opioid analgesia and neonatal respiratory depression / M. Kumar, B. Paes // *Journal of Perinatology*. – 2003. – Vol. 23. – № 5. – P. 425-427.
170. Lactate compared with pH analysis at fetal scalp blood sampling: A prospective randomised study / M. Westgren, K. Kruger, S. Ek [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 1998. – Vol. 105. – № 1. – P. 29-33.
171. Lee N. M. Effects of neural stem cell media on hypoxic injury in rat hippocampal slice cultures. / N. M. Lee, S. A. Chae, H. J. Lee // *Brain research*. – 2017. – Vol. 1677. – P. 20-25.
172. Left ventricular systolic function of newborns with asphyxia evaluated by tissue doppler imaging / Y. Wei, J. Xu, T. Xu [et al.] // *Pediatric Cardiology*. – 2009. – Vol. 30. – № 6. – P. 741-746.
173. Lesage J. Do neurotrophins regulate the fetoplacental development / J. Lesage // *Medical Hypotheses*. – 2011. – Vol. 76. – P. 726.
174. Levels of brain derived neurotrophic factors across gestation in women with preeclampsia / V. D'Souza, V. Patil, H. Pisal [et al.] // *International Journal of Developmental Neuroscience*. – 2014. – Vol. 37. – P. 36-40.
175. Liberto V. Di. Neuropharmacology mGluR2 / 3 agonist LY379268, by enhancing the production of GDNF, induces a time-related phosphorylation of RET receptor and intracellular signaling Erk1 / 2 in mouse striatum / V. Di Liberto, G. Mudò, N. Belluardo // *Neuropharmacology*. – 2011. – Vol. 61. – № 4. – P. 638-645.
176. Liston W. A. Dangers of Oxytocin-induced Labour to Fetuses / W. A. Liston, A. J. Campbell // *British Medical Journal*. – 1974. – Vol. 3. – № 5931. – P. 606-607.
177. Liu Z. H. Potential impact of epidural labor analgesia on the outcomes of neonates and children / Z. H. Liu, D. X. Wang // *Chinese medical journal*. – 2020. – Vol. 133. – № 19. – P. 2353-2358.
178. Mahendru A. A. Is intrapartum fetal blood sampling a gold standard diagnostic tool for fetal distress? / A. A. Mahendru, C. C. Lees // *European Journal*

of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology. – 2011. – Vol. 156. – № 2. – P. 137-139.

179. Malik M. Uterine contractions in rodent models and humans / M. Malik, M. Roh, S. K. England // *Acta Physiologica*. – 2021. – Vol. 231. – № 4. – P. 1-17.

180. Mandl M. Hypoxia-Inducible Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator (ARNT) (HIF-1 β): Is It a Rare Exception ? / M. Mandl, R. Depping. – 2014. – № 11. – P. 215-220.

181. Maternal serum thiol/disulfide homeostasis in pregnancies complicated by fetal hypoxia / S. Ege, H. Akduman, M. H. Bademkiran [et al.] // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2020. – Vol. 40. – № 8. – P. 1085-1089.

182. Maternal supply of BDNF to mouse fetal brain through the placenta. / I. Kodomari, E. Wada, S. Nakamura, K. Wada // *Neurochemistry International*. – 2009. – Vol. 54. – № 2. – P. 95-98.

183. Meakins J. Oxygen consumption, oxygen debt and lactic acid in circulatory failure / J. Meakins, C. N. H. Long // *American Heart Journal*. – 1927. – Vol. 2. – № 6. – P. 695.

184. Meconium-stained amniotic fluid: increased risk for adverse neonatal outcome / M. D. Berkus, O. Langer, A. Samueloff [et al.] // *Obstetrics and gynecology*. – 1994. – Vol. 84. – № 1. – P. 115—120.

185. Meconium passage in utero: Mechanisms, consequences, and management / S. N. Ahanya, J. Lakshmanan, B. L. G. Morgan, M. G. Ross // *Obstetrical and Gynecological Survey*. – 2005. – Vol. 60. – № 1. – P. 45-56.

186. Mesenchymal Stem Cells Protect Against Hypoxia-Ischemia Brain Damage by Enhancing Autophagy Through Brain Derived Neurotrophic Factor/Mammalin Target of Rapamycin Signaling Pathway. / Z. Zheng, L. Zhang, Y. Qu [et al.] // *Stem cells (Dayton, Ohio)*. – 2018. – Vol. 36. – № 7. – P. 1109-1121.

187. Microvolume dosage of lactate in cord blood for the evaluation of the neonatal well-being / T. Linet, J. Laporte, H. Gueye, G. Boog // *Journal de*

gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction. – 2002. – Vol. 31. – № 4. – P. 352-357.

188. Miyake T. Doppler echocardiographic studies of diastolic cardiac function in the human fetal heart / T. Miyake // Kurume Medical Journal. – 2001. – Vol. 48. – № 1. – P. 59-64.

189. Modulation of Sox10 , HIF-1 a , Survivin , and YAP by Minocycline in the Treatment of Neurodevelopmental Handicaps following Hypoxic Insult / Q. Li, M. Tsuneki, M. Krauthammer [et al.] // The american journal of pathology. – 2015. – P. 1-16.

190. Morales-Roselló J. Proximity of term labor deepens the fall of Doppler impedance in the fetal cerebral arteries / J. Morales-Roselló, D. Hervás-Marín, A. Perales-Marín // Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. – 2014. – Vol. 27. – № 3. – P. 283-290.

191. Neuron-specific enolase as a marker of the severity and outcome of hypoxic ischemic encephalopathy / C. Çeltik, B. Acunaş, N. Öner, Ö. Pala // Brain and Development. – 2004. – Vol. 26. – № 6. – P. 398-402.

192. Neuronal deficiency of hypoxia-inducible factor 2 α increases hypoxic-ischemic brain injury in neonatal mice / D. Sun, F. Lu, A. Sheldon [et al.] // Journal of neuroscience research. – 2021. – Vol. 99. – № 11. – P. 2964-2975.

193. Neuroprotection by GDNF in the ischemic brain. / E. P. Duarte, M. Curcio, L. M. Canzoniero, C. B. Duarte // Growth factors (Chur, Switzerland). – 2012. – Vol. 30. – № 4. – P. 242-257.

194. Norén H. Reduced prevalence of metabolic acidosis at birth: an analysis of established STAN usage in the total population of deliveries in a Swedish district hospital / H. Norén, A. Carlsson // American Journal of Obstetrics and Gynecology. – 2010. – Vol. 202. – № 6. – P. 546.e1-546.e7.

195. Oxidative Stress , Kinase Activity and Inflammatory Implications in Right Ventricular Hypertrophy and Heart Failure under Hypobaric Hypoxia / E. Pena, J. Brito, S. El Alam, P. Siques // International Journal of Molecular Sciences Review. – 2020. – Vol. 21. – № 6421. – P. 1-17.

196. Pathologic fetal acidemia. / K. G. Goldaber, L. C. 3rd Gilstrap, K. J. Leveno [et al.] // *Obstetrics and gynecology*. – 1991. – Vol. 78. – № 6. – P. 1103-1107.
197. Perinatal changes of brain-derived neurotrophic factor in pre- and fullterm neonates / A. Malamitsi-Puchner, E. Economou, O. Rigopoulou, T. Boutsikou // *Early Human Development*. – 2004. – Vol. 76. – № 1. – P. 17-22.
198. Perinatal changes of cardiac troponin-I in normal and intrauterine growth-restricted pregnancies / N. Iacovidou, M. Boutsikou, D. Gourgiotis [et al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2007. – Vol. 2007.
199. Perinatal hemorrhagic shock after fetal scalp blood sampling / H. Sabir, H. Stannigel, A. Schwarz, T. Hoehn // *Obstetrics and Gynecology*. – 2010. – Vol. 115. – № 2 SUPPL. 2 PART. 2. – P. 419-420.
200. Perinatal hypoxia as a risk factor for psychopathology later in life: the role of dopamine and neurotrophins / I. Giannopoulou, M. A. Pagida, D. D. Briana, M. T. Panayotacopoulou // *Hormones*. – 2018. – Vol. 17. – № 1. – P. 25-32.
201. Perinatal hypoxic-ischemic brain injury in large animal models: Relevance to human neonatal encephalopathy / R. C. Koehler, Z. J. Yang, J. K. Lee, L. J. Martin // *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. – 2018. – Vol. 38. – № 12. – P. 2092-2111.
202. Pivotal Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor Secreted by Mesenchymal Stem Cells in Severe Intraventricular Hemorrhage in Newborn Rats. / S. Y. Ahn, Y. S. Chang, D. K. Sung [et al.] // *Cell transplantation*. – 2017. – Vol. 26. – № 1. – P. 145-156.
203. Ponnusamy V. The role of microRNAs in newborn brain development and hypoxic ischaemic encephalopathy / V. Ponnusamy, P. K. Yip // *Neuropharmacology*. – 2019. – Vol. 149. – P. 55-65.
204. ProBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission, and synaptic plasticity in hippocampus / J. Yang, L. C. Harte-hargrove, C. Siao [et al.] // *Cell Rep*. – 2014. – Vol. 7. – № 3. – P. 796-806.

205. Quantifying circulating hypoxia-induced RNA transcripts in maternal blood to determine in utero fetal hypoxic status / C. Whitehead, W. T. Teh, S. P. Walker [et al.] // *BMC Medicine*. – 2013. – Vol. 11. – № 1.
206. Ragupathy K. The use of STAN monitoring in the labour ward / K. Ragupathy, F. Ismail, A. E. Nicoll // *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2010. – Vol. 30. – № 5. – P. 465-469.
207. Regulation of glucose metabolism-related genes and VEGF by HIF-1 α and HIF-1 β , but not HIF-2 α , in gastric cancer / I. S. Song, A. G. Wang, Y. Y. Sun [et al.] // *Experimental and Molecular Medicine*. – 2009. – Vol. 41. – № 1. – P. 51-58.
208. Review of the first 1502 cases of ECG-ST waveform analysis during labour in a teaching hospital / V. Doria, A. T. Papageorghiou, A. Gustafsson [et al.] // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2007. – Vol. 114. – № 10. – P. 1202-1207.
209. Role of neurotrophins in pregnancy, delivery and postpartum / A. D'Angelo, M. Ceccanti, C. Petrella [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2020. – Vol. 247. – P. 32-41.
210. Rubak S. L. Lactate measurement in umbilical cord blood in neonates / S. L. Rubak // *Ugeskr Laeger*. – 2010. – Vol. 172. – № 1. – P. 364-368.
211. Sahay A. S. Neurotrophins / A. S. Sahay, D. P. Sundrani, S. R. Joshi // *Neurotrophins : Vitamins and Hormones* / G. Litwack ed. . – Academic Press, 2017. – Vol. 104. – P. 243-261.
212. Sensors for fetal hypoxia and metabolic acidosis: A review / G. Cummins, J. Kremer, A. Bernassau [et al.] // *Sensors (Switzerland)*. – 2018. – Vol. 18. – № 8. – P. 1-22.
213. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) across pregnancy and postpartum: Associations with race, depressive symptoms, and low birth weight / L. M. Christian, A. M. Mitchell, S. L. Gillespie, M. Palettas // *Psychoneuroendocrinology*. – 2016. – Vol. 74. – P. 69-76.

214. Serum S100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia / A. Roka, D. Kelen, J. Halasz [et al.] // *Acta Pædiatrica*. – 2012. – Vol. 101. – P. 319-323.
215. Simpson K. R. Effects of oxytocin-induced uterine hyperstimulation during labor on fetal oxygen status and fetal heart rate patterns. / K. R. Simpson, D. C. James // *American journal of obstetrics and gynecology*. – 2008. – Vol. 199. – № 1. – P. 34.e1-5.
216. Soares M. J. Review Article Hypoxia and Placental Development / M. J. Soares, K. Iqbal, K. Kozai // *Birth defects research*. – 2017. – Vol. 109. – P. 1309-1329.
217. STAN® S21 fetal heart monitor for fetal surveillance during labor: An observational study in 637 patients / A. Kwee, C. W. Van Der Hoorn-Van Den Beld, J. Veerman [et al.] // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. – 2004. – Vol. 15. – № 6. – P. 400-407.
218. Stefanović V. Amniotic fluid cardiac troponin T in pathological pregnancies with evidence of chronic fetal hypoxia / V. Stefanović, M. Loukovaara // *Croatian Medical Journal*. – 2005. – Vol. 46. – № 5. – P. 801-807.
219. Szydlowska K. Calcium, ischemia and excitotoxicity. / K. Szydlowska, M. Tymianski // *Cell calcium*. – 2010. – Vol. 47. – № 2. – P. 122-129.
220. Takahashi M. The GDNF/RET signaling pathway and human diseases / M. Takahashi // *Cytokine & Growth Factor Reviews*. – 2001. – Vol. 12. – № 4. – P. 361-373.
221. Tei-Index in patients with mild-to-moderate congestive heart failure / C. Bruch, A. Schmermund, D. Marin [et al.] // *European Heart Journal*. – 2000. – Vol. 21. – № 22. – P. 1888-1895.
222. The aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator (ARNT/HIF-1 β) is influenced by hypoxia and hypoxia-mimetics / M. Wolff, W. Jelkmann, J. Dunst, R. Depping // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 32. – № 4. – P. 849-858.

223. The clinical significance of Doppler findings in fetal middle cerebral artery during labor / D. Kassanos, C. Siristatidis, N. Vitoratos [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 2003. – Vol. 109. – № 1. – P. 45-50.

224. The prediction of fetal acidosis by means of intrapartum fetal pulse oximetry / B. Seelbach-Gobel, M. Heupel, M. Kuhnert, M. Butterwegge // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. – 1999. – Vol. 180. – № 1 I. – P. 73-81.

225. The role of endothelial HIF-1 α in the response to sublethal hypoxia in C57BL / 6 mouse pups / Q. Li, M. Michaud, C. Park [et al.]. – 2017. – Vol. 97. – № October 2016. – P. 356-369.

226. The roles of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in predicting treatment remission in a Chinese Han population with generalized anxiety disorder / Z. Shen, J. Zhu, Y. Yuan [et al.] // *Psychiatry Research*. – 2019. – Vol. 271. – P. 319-324.

227. To ignore or not to ignore placental calcifications on prenatal ultrasound: a systematic review and meta-analysis. / F. G. Mirza, L. M. Ghulmiyyah, H. Tamim [et al.] // *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*. – 2018. – Vol. 31. – № 6. – P. 797-804.

228. Transplantation of mesenchymal stem cells promotes the functional recovery of the central nervous system following cerebral ischemia by inhibiting myelin-associated inhibitor expression and neural apoptosis / N. Feng, G. Hao, F. Yang [et al.] // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2016. – Vol. 11. – № 5. – P. 1595-1600.

229. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier / W. Pan, W. A. Banks, M. B. Fasold [et al.] // *Neuropharmacology*. – 1998. – Vol. 37. – № 12. – P. 1553-1561.

230. Troponin-T levels in perinatally asphyxiated infants during the first 15 days of life. / T. Güneş, M. A. Oztürk, S. M. Köklü [et al.] // *Acta paediatrica* (Oslo, Norway : 1992). – 2005. – Vol. 94. – № 11. – P. 1638-1643.
231. Troponin in Newborns and Pediatric Patients / M. Correale, L. Nunno, R. Ieva [et al.] // *Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry*. – 2009. – Vol. 7. – № 4. – P. 270-278.
232. Tuffnell D. How long does a fetal scalp blood sample take? / D. Tuffnell, W. L. Haw, K. Wilkinson // *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. – 2006. – Vol. 113. – № 3. – P. 332-334.
233. Ultrasonographic velocimetry of the fetal ductus veriosus / T. Kiserud, S. H. Eik-Nes, H. G. K. Blaas, L. R. Hellevik // *The Lancet*. – 1991. – Vol. 338. – № 8780. – P. 1412-1414.
234. Umbilical artery doppler velocimetry compared with fetal heart rate monitoring as a labor admission test / F. Y. Chan, C. Lam, Y. H. Lam [et al.] // *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. – 1994. – Vol. 54. – № 1. – P. 1-6.
235. Umbilical cord blood amino-terminal pro-brain natriuretic peptide levels according to the mode of delivery / W. J. Seong, D. H. Yoon, G. O. Chong [et al.] // *Archives of Gynecology and Obstetrics*. – 2010. – Vol. 281. – № 5. – P. 907-912.
236. Use of a mouse model of experimentally induced endometriosis to evaluate and compare the effects of bisphenol a and bisphenol af exposure / R. L. Jones, S. A. Lang, J. A. Kendzioriski [et al.] // *Environmental Health Perspectives*. – 2018. – Vol. 126. – № 12. – P. 1-14.
237. Utility of a Doppler-derived index combining systolic and diastolic performance (Tei index) for detecting hypoxic cardiac damage in newborns / K. Ichihashi, Y. Yada, N. Takahashi [et al.] // *Journal of Perinatal Medicine*. – 2005. – Vol. 33. – № 6. – P. 549-552.
238. Walker J. Foetal Anoxia / J. Walker // *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. – 1954. – Vol. 61. – № 2. – P. 162-180.

239. Zhao Z. New Concepts in Diabetic Embryopathy / Z. Zhao, E. A. Reece // *Clinics in Laboratory Medicine*. – 2013. – Vol. 33. – № 2. – P. 207-233.

240. Zijlstra W. G. Absorption spectra of human fetal and adult oxyhemoglobin, de-oxyhemoglobin, carboxyhemoglobin, and methemoglobin / W. G. Zijlstra, A. Buursma, W. P. Meeuwssen-van der Roest // *Clinical Chemistry*. – 1991. – Vol. 37. – № 9. – P. 1633-1638.

241. The influence of maternal epidural analgesia upon intrapartum fetal oxygenation / G. Caracostea, F. Stamatian, M. Lerintiu, D. Herghea // *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. – 2007. – T. 20. – № 2. – C. 161-165.