

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ЗАБАНОВА
Екатерина Андреевна

**ОСОБЕННОСТИ ВЕДЕНИЯ БЕРЕМЕННЫХ С ЗАДЕРЖКОЙ
РОСТА ПЛОДА С УЧЁТОМ МЕХАНИЗМОВ
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ**

3.1.4 – акушерство и гинекология

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Кузнецова Н.Б.

Ростов-на-Дону – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр.
Введение.....	4
Глава 1 Задержка роста плода: современный взгляд на проблему (обзор литературы).....	23
1.1 Задержка роста плода при плацентарной недостаточности: механизм развития, последствия для новорождённого	23
1.2 Актуальные клинические протоколы ведения пациенток с задержкой роста плода. Критерии родоразрешения.....	27
1.3 Современные представления о роли эпигенетической регуляции в механизмах развития осложнений беременности.....	33
Глава 2 Результаты исследования	45
2.1 Клиническо-анамнестическая характеристика беременных	45
2.2 Течение беременности у женщин, вошедших в исследование	48
Глава 3 Анализ исходов беременности в соответствии с профилем плацента-специфичных микроРНК в крови у женщин с ЗРП.....	53
3.1 Ультразвуковая и доплерометрическая характеристика беременных с ЗРП при включении их в исследование.....	53
3.2 Тактика ведения беременности и родов у пациенток с ЗРП	55
3.3 Экспрессия плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП и контрольной группе	62
3.4 Сравнительный анализ профиля плацента-специфичных микроРНК в крови у женщин с ЗРП в зависимости от исхода беременности	66
Глава 4 Взаимосвязь профиля плацента-специфичных микроРНК и степени нарушений фетоплацентарного кровотока	69
4.1 Сравнительная характеристика экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП с различными нарушениями фетоплацентарного кровотока.....	69
4.2 Многофакторная прогностическая модель риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока	74
4.3 Оптимизация тактики ведения беременных с ЗРП	77
Глава 5 Использование микроРНК в предикции ЗРП	79
5.1 Клиническо-анамнестическая характеристика и анализ течения и исходов беременности у обследованных пациенток	80
5.2 Оценка профиля плацента-специфичных микроРНК в крови у беременных в 18–21 неделю при наличии ранней ЗРП в дальнейшем течении беременности и у не имевших данного осложнения	85

Глава 6 Обсуждение результатов	90
Заключение	102
Список литературы	106
Приложение А. Индивидуальный алгоритм ведения беременных с ЗРП.....	125

Введение

Актуальность темы исследования. Задержка роста плода (ЗРП) – осложнение беременности, при котором плод не достигает своего генетически запрограммированного потенциала роста и имеет высокий риск перинатальных осложнений [1–3]. В современных условиях ЗРП рассматривается как полиэтиологическая универсальная реакция, развивающаяся у плода при дефиците кислорода, макро- и микронутриентов, на фоне снижения интенсивности метаболических процессов при пониженной плацентарной перфузии [4].

Критерии диагностики ЗРП всё ещё дискуссионны в клинических рекомендациях разных стран [5]. В Российской Федерации используются ультразвуковые и доплерометрические диагностические критерии, предложенные консенсусом Delphi и рекомендованные Международным обществом ультразвука в акушерстве и гинекологии [6, 7]. Осложняя до 10% всех беременностей, ЗРП вносит значительный вклад в структуру перинатальной смертности и заболеваемости [1]; у беременных с ЗРП значительно повышается риск как антенатальной гибели плода [8, 9], так и неонатальной гибели ребёнка [10, 11].

Плацентарная недостаточность, являющаяся патофизиологической основой развития ЗРП, проявляется в нарушении функционирования плаценты, которому предшествует каскад патологических процессов на нескольких уровнях регуляции [12–14]. Одной из причин патологического процесса может быть нарушение структуры генов, которые кодируют синтез тех или иных белков, гормонов и других регуляторных молекул. Помимо этого, известно, что существует несколько механизмов управления работой генов – эпигенетическая регуляция, которая влияет на их экспрессию [15]. Одним из механизмов влияния на экспрессию генов являются микроРНК – короткие некодирующие

последовательности нуклеотидов, функция которых заключается в управлении «работой» генов с помощью РНК-интерференции.

Изучение механизмов эпигенетической регуляции при фетоплацентарной дисфункции, приводящей к ЗРП, может привести к значительному прогрессу в понимании универсальных реакций, служащих причинами ЗРП. Анализ профиля микроРНК при ЗРП является перспективным и широко разрабатываемым направлением, поскольку они служат неинвазивными маркерами состояния плода [16–21]. В настоящее время известно более 500 микроРНК, связанных с формированием и функционированием плаценты [22]. Плацента-специфичные микроРНК на разных этапах развития беременности принимают участие в таких функциях, как обеспечение ангиогенеза, апоптоза, окислительного стресса [23]. Профиль плацента-специфичных микроРНК меняется в зависимости от срока гестации ввиду различных биологических процессов, которые преобладают на текущем этапе развития беременности, а также при развитии осложнений [24].

Будучи мультигенными регуляторами, микроРНК воздействуют на гены-мишени, кодирующие сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) [25], фактор роста фибробластов [25], инсулиноподобный фактор роста [26], Е-кадгерин [27] и другие регуляторы, выступая, таким образом, протекторами либо триггерами вазоспазма, оксидативного стресса, нарушений ангиогенеза в фетоплацентарной системе [28–31].

Выявление микроРНК, ассоциированных с ЗРП, является перспективным направлением ранней предикции и мониторинга функционального состояния плода при развитии осложнения.

Степень разработанности темы. МикроРНК и другие эпигенетические маркеры имеют значимый диагностический, прогностический и терапевтический потенциал, вызывая интерес у учёных всех медицинских специальностей. Так, установлено, что уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК может являться индикатором изменений плаценты во время беременности в зависимости от срока гестации и развития ворсинчатого дерева [32]. Таким образом, ряд микроРНК, определяемых в плазме крови матери, расцениваются как

специфические для беременности определённого гестационного срока и могут служить в качестве потенциальных неинвазивных маркеров состояния здоровья матери и плода [24, 32]. Исследования уровня экспрессии различных микроРНК при тех или иных осложнениях беременности ведутся с использованием разных методологий: экспрессия микроРНК анализируется в ткани плаценты [30, 31, 33], в крови беременной [22, 28, 29, 34], в пуповинной крови [35–37].

Следует отметить, что большинство исследований, проводимых по экспрессии микроРНК при осложнениях беременности, сосредоточено на преэклампсии [24, 28, 33, 38]. Изменение экспрессии микроРНК при иной акушерской патологии (преждевременные роды, гестационный сахарный диабет, ЗРП, невынашивание беременности и др.) изучено недостаточно и требует дальнейшего исследования. Тем не менее накоплены данные по изменению в крови беременной женщины с ЗРП следующих плацента-специфичных микроРНК: микроРНК-10b-5p [27], микроРНК-103a-3p [39], микроРНК-122-5p [39], микроРНК-141-3p [26, 40], микроРНК-26a-5p [39], микроРНК-125b-5p [39], микроРНК-145-5p [39], микроРНК-205-5p [41], микроРНК-517-5p [42], микроРНК-525-5p [43], микроРНК-210-3p [37], микроРНК-424-5p [41], микроРНК-363-3p [27], микроРНК-373-3p [37, 44], микроРНК-499-5p [39], микроРНК-516b-5p [43]. Гены-мишени, на которые воздействуют данные микроРНК, кодируют синтез таких важных для нормального развития плаценты белков, как сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF) [25, 45], фактор роста фибробластов [25], инсулиноподобный фактор роста [26], Е-кадгерин [27]. Имеющиеся в литературе данные требуют уточнения и систематизации, а также представляет интерес практическое применение этих знаний в клинической практике акушеров-гинекологов.

В связи с вышесказанным представляется актуальным, современным и перспективным изучение профиля экспрессии микроРНК при ЗРП, предикция данного осложнения, а также прогнозирование дальнейшего течения беременности, результатов лечения и исходов для новорождённых. Этот вопрос

остаётся недостаточно изученным и имеет значительные перспективы в акушерстве.

Цель исследования: улучшение предикции задержки роста плода в конце первой половины беременности и прогнозирования развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока на основании определения плацента-специфичных микроРНК в крови беременных.

Задачи исследования:

1. Проанализировать особенности акушерского и соматического анамнеза, течения беременности и профиля плацента-специфичных микроРНК у пациенток, имеющих задержку роста плода в 30 недель – 31 неделю 6 дней.

2. Сопоставить уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови у беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней при различных нарушениях кровотока в артериях плодово-плацентарной циркуляции.

3. Определить биохимические, эпигенетические и доплерометрические предикторы неблагоприятных неонатальных исходов при ЗРП в сроке гестации 30 недель – 31 неделю 6 дней.

4. Установить комплекс прогностически значимых факторов риска, совокупность которых позволяет прогнозировать развитие критических расстройств фетоплацентарного кровотока при ЗРП.

5. Выявить в 18-21 неделю прогностически значимые эпигенетические предикторы ЗРП и проанализировать их корреляционные связи с известными клиническо-анамнестическими и доплерометрическими факторами.

Научная новизна работы:

Установлено различие профиля плацента-специфичных микроРНК в крови беременных в 30 недель – 31 неделю 6 дней: у беременных с ЗРП статистически значимо ниже экспрессия микроРНК-103а-3р (пороговое значение (Ct) более 33,4, $p = 0,001$), микроРНК-26а-5р (Ct более 34,6, $p < 0,001$) и микроРНК-125b-5р (Ct более 37,7, $p = 0,04$).

Выявлена корреляция между экспрессией микроРНК-125b-5р в крови беременных с ЗРП и тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ($r =$

0,667, $p = 0,005$), при этом экспрессия микроРНК-125b-5p минимальна у беременных с критическими нарушениями фетоплацентарного кровотока. Также уровень экспрессии микроРНК-125b-5p при этом коррелирует с PAPP-A по данным биохимического скрининга в 12 недель ($r = -0,415$, $p = 0,014$).

Определены эпигенетические маркеры неблагоприятных исходов для новорожденных при ЗРП: уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных в 30 недель – 31 неделя 6 дней коррелирует с вероятностью смерти новорожденного в неонатальном периоде ($r = 0,326$, $p = 0,012$). При превышении порогового значения Ct микроРНК-125b-5p в крови (43,1 единицы) беременную с ЗРП следует отнести к группе риска по неонатальной потере (Se 80%, Sp 66,7%).

Уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных в 18–21 неделю коррелирует с PAPP-A в 12 недель ($r = -0,415$, $p = 0,014$).

Теоретическая и практическая значимость работы:

Установлены плацента-специфичные микроРНК, экспрессия которых в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней в крови значимо ниже у беременных с ЗРП: микроРНК-103a-3p (пороговое значение (Ct) более 33,4), микроРНК-26a-5p (Ct более 34,6) и микроРНК-125b-5p (Ct более 37,7).

Обнаружена корреляция между уровнем экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней и нарушениями фетоплацентарного кровотока различной степени ($r = 0,667$, $p = 0,005$), с минимальными значениями экспрессии при ретроградном кровотоке в венозном протоке плода (Me Ct = 45).

Разработана многофакторная модель расчета риска прогрессирования нарушений кровотока у беременных с ЗРП, предусматривающая оценку экспрессии микроРНК-125b-5p в крови в 30 недель – 31 неделя 6 дней и уровня PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней.

Предложен способ расчёта риска развития ранней ЗРП в настоящую беременность, основанный на определении экспрессии микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p в крови беременных в 18–21 неделю.

Методология и методы исследования. Научно-исследовательская работа выполнена в 2017–2019 гг. на базе ФГБОУ ВО РостГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Перинатальный центр», Научно-исследовательского института биологии Южного федерального университета. Работа выполнена в рамках гранта Фонда содействия инновациям «УМНИК» по теме «Разработка тест-системы для предикции задержки роста плода (ЗРП) на основании исследования плацента-специфичных микроРНК» и гранта Российского фонда фундаментальных исследований по программе «Аспиранты» по теме «Предикция задержки роста плода на основании исследования плацента-специфичных микроРНК».

В соответствии с целью и задачами разработан дизайн исследования, представленный на рисунке 1.

На первом этапе обследовано 115 женщин, родоразрешённых в 2017–2019 гг. в Государственном бюджетном учреждении Ростовской области «Перинатальный центр». 15 пациенток не включены в исследование в силу наличия у них критериев исключения либо отказа от участия в исследовании.

Критерии включения в первый этап исследования: наличие ЗРП при ультразвуковом исследовании в сроке беременности 30 недель – 31 неделя 6 дней и согласие на участие в исследовании. Диагноз ЗРП выставлялся на основании данных ультразвукового и доплерометрического исследования с использованием перцентильных кривых. Данный срок включения в исследование был выбран в связи с прохождением беременными планового скринингового УЗИ («третий скрининг»). Беременные, которым был выставлен диагноз ЗРП в сроке гестации до 30 недель, в исследование не включались с целью соблюдения однородности группы. Также, учитывая принятое деление ЗРП на раннюю и позднюю формы, решено было не включать пациенток, которым диагноз ЗРП был выставлен после 32 недель, поскольку в реализации ранней и поздней ЗРП могут участвовать различные патогенетические механизмы [6, 46–48].

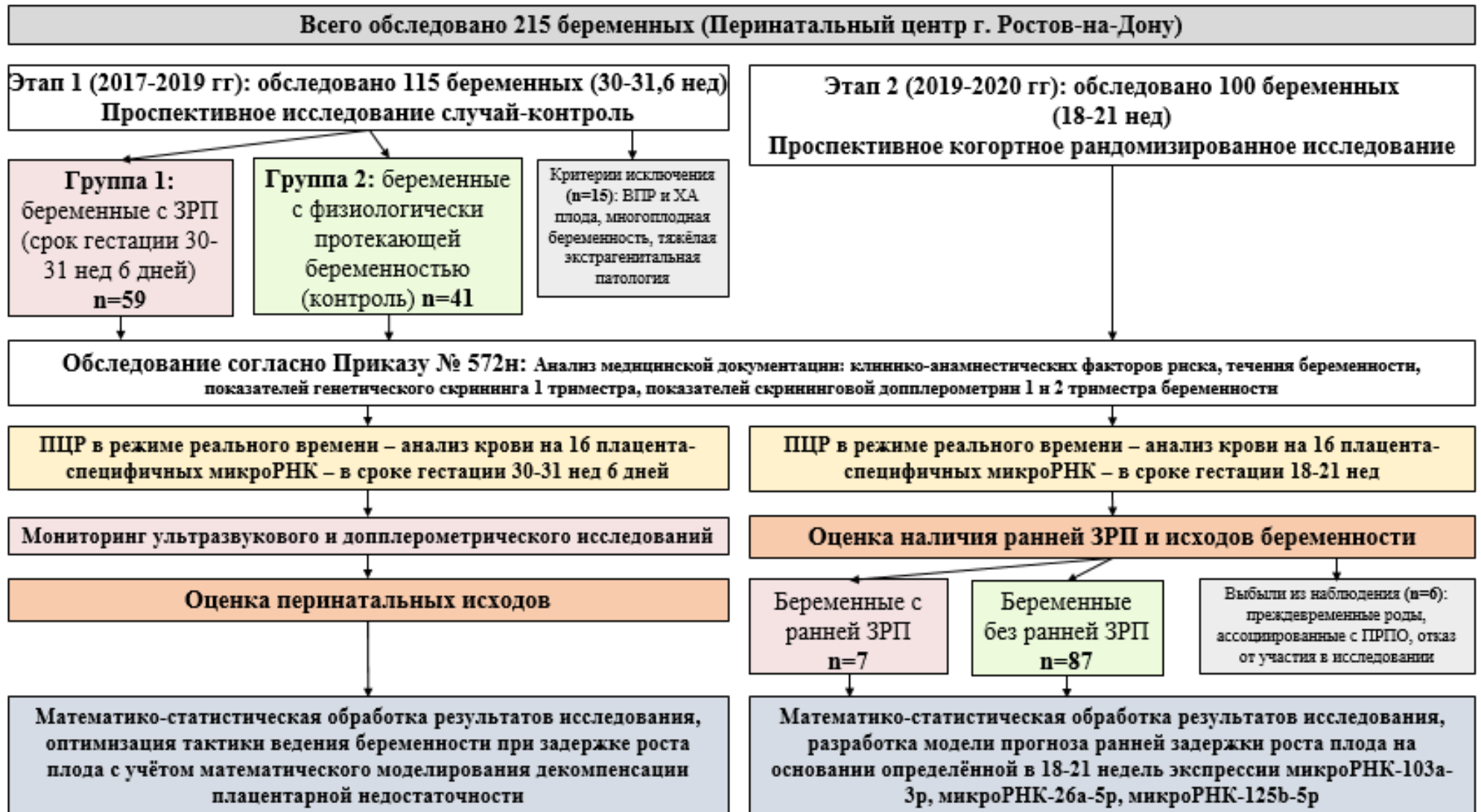


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Критерии исключения из исследования: многоплодная беременность, тяжёлая экстрагенитальная патология, врождённые пороки развития и хромосомные аномалии у плода, отказ от участия в исследовании.

Наличие ЗРП определило распределение женщин в две клинические группы. Первую группу (основную, $n = 59$) составили пациентки с ЗРП по данным третьего ультразвукового скрининга (30 недель – 31 неделя 6 дней). Во вторую группу (контрольную, $n = 41$) были включены женщины с неосложнённой беременностью в сопоставимые сроки гестации.

Постнатально диагноз задержки внутриутробного роста был подтверждён в 100% наблюдений. У 23 новорождённых вес после рождения составил менее 3-го перцентиля, у 36 – от 3-го до 10-го перцентиля по шкале Фентона [49].

На втором этапе обследовано 100 женщин, выполнивших в 2019–2020 гг. в Государственном бюджетном учреждении Ростовской области «Перинатальный центр» второе скрининговое ультразвуковое исследование по направлению из женской консультации по месту жительства.

Критерии включения во второй этап исследования: выполнение ультразвукового и доплерометрического исследования в сроке беременности 18–21 неделя и согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: многоплодная беременность, тяжёлая экстрагенитальная патология, предполагаемые врождённые пороки развития и хромосомные аномалии у плода, отказ от участия в исследовании.

По данным медицинской документации пациенток, вошедших в исследование на обоих этапах, изучено состояние их репродуктивного и соматического здоровья, течение беременности и особенности ультразвуковых и доплерометрических исследований. Данные для клинико-статистического ретроспективного анализа были получены путём выкопировки из первичной медицинской документации (обменные карты родильного дома, родильного отделения больницы ф. № 113/у и истории родов ф. № 096/у). При госпитализации в ГБУ РО «Перинатальный центр» все пациентки были обследованы в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения РФ от

1 ноября 2012 г. № 572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)”».

Все беременные, включенные в диссертационное исследование, прошли детальное обследование в ходе амбулаторного наблюдения в женской консультации и в условиях ГБУ РО «Перинатальный центр» (отделение патологии беременности либо родовое отделение), которое включало клинические, инструментальные и комплекс дополнительных лабораторных методов исследования. Количество и структура исследований, выполнявшихся пациенткам, представлены в таблице 1.

Клиническая часть исследования включала подробный сбор анамнеза, общий и акушерско-гинекологический осмотр. При сборе анамнеза учитывалось наличие жалоб, наследственной и семейной патологии. Анамнез жизни беременных включал информацию о заболеваниях детского и зрелого возраста. Регистрировалось наличие соматических, эндокринных заболеваний, вредных привычек и профессиональных вредностей, время наступления менархе, регулярность менструальной функции. Состояние репродуктивной системы и детородная функция были изучены на основании информации о наличии и длительности бесплодия.

Таблица 1 – Виды, количество обследованных и число исследований

Вид исследования	1 этап ($n = 115$)		2 этап ($n = 100$)	
	Количество обследованных (n)	Число исследований (n)	Количество обследованных (n)	Число исследований (n)
Сбор анамнеза	115	115	100	100
Антропометрия, наружный осмотр	115	179	100	173
Гинекологический осмотр	115	267	81	132
Ультразвуковая фетометрия	115	208	100	146
Ультразвуковая доплерометрия	115	274	100	167
Наружная кардиотокография	100	248	81	98
Клинический анализ крови	100	135	81	89
Биохимические исследования крови	100	113	81	93
Гемостазиограмма	100	130	81	83

Определение антирезусных антител	9	12	10	10
Анализ на антитела к сифилису, ВИЧ, гепатиту В и С	100	100	81	81
Общий анализ мочи	100	189	81	103
Мазок на флору из влагалища	100	137	81	81
Микробиологическое исследование отделяемого женских половых органов	41	41	12	12
Определение экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК	100	108	100	100

При наружном осмотре обращалось внимание на антропометрические характеристики (индекс массы тела, окружность живота), состояние кожных покровов, молочных желез, сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной систем, характер оволосения. Обследование беременных включало общеклинические методы: общий осмотр с оценкой состояния кожных покровов и слизистых оболочек, контроль веса, измерение окружности живота и высоты стояния дна матки, показателей артериального давления и пульса на обеих руках, температуры тела, сердцебиения плода с использованием акушерского стетоскопа, наружное акушерское и бимануальное исследование. При бимануальном исследовании наружных половых органов и органов малого таза определялось расположение, размер, консистенция и тонус матки, наличие патологических образований в области органов малого таза, расположение плода и предлежащей его части, длина шейки матки и её консистенция, состояние наружного зева. Осмотр шейки матки производился в зеркалах, оценивалось состояние и окраска слизистой, область наружного зева и влагалищной части шейки матки, наличие рубцовых дефектов, её состоятельность, уточнялось количество и характер выделений.

При сборе анамнеза особое внимание уделяли уточнению срока беременности, при котором были рождены сами родители, особенностям менструального цикла (регулярность и продолжительность цикла, наличие и характер нарушений, дата последней менструации), течению предшествующих

беременностей, сроку на момент родов при предыдущих беременностях, их исходу.

Помимо этого, уточняли особенности течения данной беременности, её осложнения, выясняли даты предшествующих ультразвуковых исследований и соответствие размеров плода сроку беременности.

Всем пациенткам было проведено клинико-лабораторное обследование в объёме: клинический анализ крови, биохимический анализ крови с определением уровня общего белка, альбумина, мочевины, глюкозы, общего и прямого билирубина, креатинина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы. Анализировалась гемостазиограмма, включая протромбиновый индекс и протромбиновое и тромбиновое время, международное нормализованное отношение, активированное частичное тромбопластиновое время, фибриноген. При отрицательном резус-факторе у матери и положительном у отца проводили исследование крови на наличие антирезусных антител ежемесячно либо до введения беременной антирезусного иммуноглобулина. Всем пациенткам в соответствии с регламентирующим на момент проведения исследования Приказом МЗ РФ № 572н выполнялось определение суммарных антител к бледной трепонеме в крови методом иммунохемилюминесценции, антител класса IgM, IgG к вирусу иммунодефицита человека 1/2 (ВИЧ 1/2) методом иммуноферментного анализа (ИФА), HBS-антигена и антител к HCV методом ИФА.

Также производили исследование общего анализа мочи, мазка на флору из влагалища и микробиологическое исследование отделяемого женских половых органов на аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы и определение чувствительности к антибиотикам. Чтобы исключить влияние инфекционного фактора, особое внимание уделяли результатам клинического анализа крови, общего анализа мочи, а также мазка на флору из влагалища и микробиологического посева из цервикального канала.

Инструментальные методы исследования включали проведение ультразвукового, доплерометрического и кардиотокографического исследований, что позволило осуществить объективную оценку состояния плода.

Беременным, включённым в исследование, проводили ультразвуковое исследование на аппаратах General Electric Voluson e6. При проведении ультразвукового исследования оценивали такие показатели, как предполагаемая масса, зрелость плаценты, количество околоплодных вод и длина шейки матки. Расчёт предполагаемой массы плода проводился с применением формулы Хэдлока 2 ($m=10\exp\times(1,335-0,0034\times AC\times FL+0,0316\times BPR+0,0457\times AC+0,1623\times FL)$), где AC – окружность живота, FL – длина бедра, BPR – бипариетальный размер головки.

Всем беременным женщинам при помощи ультразвуковых сканеров General Electric Voluson e6 было также проведено доплерометрическое исследование параметров скорости фетоплацентарного и маточно-плацентарного кровотоков в режиме пульсовой доплеровской волны, включающее определение пульсационного индекса (ПИ) в маточных артериях, АП и венозном протоке плодов с ЗРП.

Всем пациенткам, вошедшим в исследование, проводили оценку внутриутробного состояния плода методом кардиотокографии. Исследование на аппаратах «УНИКОС-01» и Sonicaid Team (Великобритания) было дополнено математическим обеспечением анализа кардиотокограмм в реальном режиме времени. В результате кардиотокографии определяли характер базального ритма, вариабельность базального ритма, количество акцелераций и их амплитуду, количество децелераций, их характер и амплитуду, характер сократительной активности матки. В родах кардиотокографию проводили в непрерывном или прерывистом режиме.

При изучении новорождённых были оценены массо-ростовые показатели, состояние по шкале Апгар на 1-й и 5-й минутах, наличие осложнений, диагностированных в раннем неонатальном периоде. Постнатально у новорождённых проводилась оценка соответствия массы тела при рождении для подтверждения диагноза ЗРП. Малая масса тела новорождённого для соответствующего гестационного возраста устанавливалась, если масса тела при рождении была ниже 10-го перцентиля распределения массы для данного гестационного возраста по перцентильной шкале Fenton (МКБ-10, P05.0).

Гестационный возраст рассчитывался путём вычитания даты первого дня последней менструации из даты родов и по шкале Баллард. Первый день последней менструации устанавливался путём опроса родильниц, а также рассчитывался путём сопоставления данных ультразвукового исследования, проведённого в первом триместре беременности. Масса тела новорождённых измерялась при помощи электронных весов с точностью 10 г.

Из числа специальных методов было использовано определение экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в сроке беременности 30 недель – 31 неделя 6 дней (1-й этап) и 18–21 неделя (2-й этап). Данный раздел исследования выполнен на базе Научно-исследовательского института биологии Южного федерального университета (НИИ биологии ЮФУ). Для анализа были отобраны 16 микроРНК, которые в соответствии с литературными данными могут быть отнесены к плацента-специфичным: микроРНК-10b-5p, микроРНК-103a-3p, микроРНК-122-5p, микроРНК-141-3p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-125b-5p, микроРНК-145-5p, микроРНК-205-5p, микроРНК-517-5p, микроРНК-525-5p, микроРНК-210-3p, микроРНК-424-5p, микроРНК-363-3p, микроРНК-373-3p, микроРНК-499-5p, микроРНК-516b-5p.

Забор периферической венозной крови для исследования проводили натощак, в утренние часы, в пробирку со стабилизатором РНК Tempus™ Blood RNA фирмы Applied Biosystems (США) в количестве 3 мл. Образцы крови замораживали и хранили при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до проведения исследований. Чтобы избежать деградации, образцы размораживали только один раз.

Экстракцию тотальной РНК проводили при помощи набора реагентов GeneJET Stabilized and Fresh Whole Blood RNA Kit фирмы Thermo Scientific, США. Количество и качество выделенной РНК оценивали спектрофотометрически. OD_{260/280} образцов РНК колебалось от 1,80 до 2,00. Образцы были нормализованы до концентрации тотальной РНК 10 нг/мкл.

Полиаденилирование тотальной РНК проводили при помощи poly(A) полимеразы E.coli (New England Biolabs, Великобритания) при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 20 минут в

объёме 20 мкл. Состав смеси: 15,6 мкл тотальной РНК (10 нг/мкл), 2 мкл poly(A) буфера, 2 мкл АТФ, 0,4 мкл poly(A) полимеразы.

Дизайн праймеров для проведения обратной транскрипции и ПЦР осуществляли в соответствии с методикой Vassels [50]. Последовательности праймеров приведены в таблице 2.

Тотальную полиаденилированную РНК подвергали обратной транскрипции в кДНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit фирмы «Евроген» (Россия) в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 5 мкл поли-А РНК, 1 мкл RT-праймера, 0,5 мкл обратной транскриптазы MMLV, 4 мкл (5X) реакционного буфера, 2 мкл dNTP, 2 мкл DTT, 4,5 мкл H₂O. Реакцию обратной транскрипции проводили при 40 °С в течение 40 минут, затем при 70 °С в течение 10 минут.

Реакция ПЦР-РВ была проведена на амплификаторе CFX-96 фирмы Bio-Rad (США) с использованием реагентов фирмы «Евроген» (Россия) в объёме 25 мкл. Состав смеси: 5 мкл qPCRmix-HS SYBR, 1 мкл прямого праймера, 1 мкл обратного праймера, 16 мкл H₂O, 2 мкл кДНК. Условия для проведения ПЦР: предварительная денатурация при 95 °С 5 мин, далее 95 °С 15 с, 60 °С 10 с, 72 °С 20 с, 45 циклов. В качестве красителя был использован SYBR Green I.

Таблица 2 – Праймеры для проведения реакции обратной транскрипции и ПЦР-РВ (5'–3')

МикроРНК	RT-праймер	F- и R-праймеры для ПЦР
hsa-miR-1-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAT	cgcagtggaatgtaaagaag ggtcagttttttttttatatacatc
hsa-miR-10b-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	cagtaccctgtagaacga ggtcagttttttttttttcac
hsa-miR-16-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTTCG	cgcagtagcagcacgta cagttttttttttttcgcaa
hsa-miR-26a-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAG	gcagttcaagtaatccaggatag ggtcagtttttttttttagc
hsa-miR-93-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCT	gcaaagtgctgtctg gtccagttttttttttttctacct
hsa-miR-103a-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	gcagagcagcattgtacag ggtcagttttttttttttcatag
hsa-miR-122-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAC	gcagtggagtgtgacaatg ccagttttttttttttcaaacacc
hsa-miR-125b-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	gcagtcctgagacct

		ccagttttttttttttcacaagt
hsa-miR-141-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCC	cgcagtaacactgtctgg gtccagttttttttttccatct
hsa-miR-145-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAG	gtccagtttcccaggaatc aggccagtttttttttttagg
hsa-miR-195-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTGC	cgcagtagcagcacaga tccagtttttttttttcca
hsa-miR-205-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	ccttcattccaccggagt ggccagttttttttttcaga
hsa-miR-210-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	gctgtgcgtgtgaca gttttttttttttcagccgct
hsa-miR-363-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAC	agaattgcacggatccatc ggccagtttttttttttacag
hsa-miR-373-3p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAC	caggaagtgcctcgatttg gtccagttttttttttacacc
hsa-miR-424-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTCA	agcagcagcaattcatgt aggccagttttttttttcaa
hsa-miR-499a-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAA	cgcagtaagactgcagtg ggccagtttttttttttaaacatc
hsa-miR-516b-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAA	gatctggaggtagaagcac aggccagttttttttttaaagt
hsa-miR-517-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAG	gcctctagatggaagcac gtccagtttttttttttagacag
hsa-miR-525-5p	CAGGTCCAGTTTTTTTTTTTTTTAG	gctccagagggatgcac ggccagtttttttttttagaaag

Оценку изменения уровня экспрессии исследуемой микроРНК в опытном образце по отношению к контрольному проводили с помощью метода Δ CT [51]. Достоверность отличий оценивали с помощью методов непараметрической статистики (U-критерий Манна–Уитни).

Положения, выносимые на защиту:

Экспрессия микроРНК-125b-5p в крови беременных ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней коррелирует с тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ($r = 0,667$, $p = 0,005$), минимальная величина экспрессии (медиана $St = 45$) выявлена при критических расстройствах плодово-плацентарного кровотока. Разработанный индивидуальный алгоритм на основании многофакторной прогностической модели позволяет персонафицировать акушерскую тактику у беременных с ЗРП.

Предикторами неблагоприятных исходов для новорождённых, перенесших ЗРП, являются критические расстройства фетоплацентарного кровотока и экспрессия микроРНК-125b-5p в крови с уровнем Ct более 43,1.

Персональный риск развития ранней ЗРП рассчитывается при определении экспрессии микроРНК-125b-5p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-103a-3p в крови беременных в сроке 18–21 неделя, что позволяет выделить группу риска развития данного осложнения при превышении значения функции (p) более 76,6.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 3.1.4 Акушерство и гинекология.

Личный вклад автора. Участие автора в сборе первичного материала – более 90%; в обобщении, анализе и внедрении в практику результатов работы – 100%. Все представленные в работе научные положения получены автором лично. Автор самостоятельно осуществлял отбор пациентов для исследования, тестировал их, проводил клиническое, инструментальное и лабораторное обследование женщин. Лично диссертантом проводился анализ отечественной и зарубежной профильной литературы, сформулированы цель, задачи, этапы и методы исследования, научные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации. Лично выполнено математико-статистическое обоснование обобщённого материала. Проведено внедрение результатов исследования.

Внедрение результатов исследования в практику. Практические рекомендации внедрены в работу консультативно-диагностической поликлиники и отделения патологии беременности ГБУ РО «ПЦ», в учебный процесс Центра симуляционного обучения ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России. Материалы и результаты исследования используются в учебном процессе в виде практических занятий для клинических ординаторов в Центре симуляционного обучения ФГБОУ ВО РостГМУ Минздрава России.

Степень достоверности и апробация результатов. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью пакета прикладных программ IBM SPSS Statistics 23, с использованием статистических критериев Колмогорова–Смирнова для проверки гипотезы о подчинении исследуемой выборки нормальному закону распределения, параметрического t-критерия Стьюдента и непараметрического U-критерия Манна–Уитни, а также межгруппового критерия Краскелла–Уоллиса при сравнении средних, расчёте относительного риска. При выполнении сравнения двух независимых групп по одному признаку были использованы методы непараметрической статистики (точный тест Фишера, классический критерий χ^2 по Пирсону). Поскольку анализировали как количественные, так и качественные признаки, то корреляционный анализ проводили с использованием непараметрического корреляционного критерия Спирмена. 95%-ный доверительный интервал (ДИ) для коэффициента корреляции определяли с помощью преобразования Фишера. Использовали общепринятые уровни достоверности: $p < 0,05$. Для оценки качества математических моделей использовали метод ROC-анализа (receiver operating characteristic) и количественной интерпретации показателя AUC (area under curve, площадь под ROC-кривой). Для построения многофакторной прогностической модели риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока был использован метод бинарной логистической регрессии.

Статистическая обработка полученных данных выполнена с участием специалиста по биоинформатике и медицинской статистике ФГБОУ ВО РостГМУ.

Основные положения данной работы были неоднократно представлены на конференциях различного уровня: XIII World Congress of Perinatal Medicine (Белград, Сербия, 2017); 72-я Итоговая научная конференция Ростовского государственного медицинского университета (Ростов-на-Дону, 2018); XXII FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics (Рио-де-Жанейро, Бразилия, 2018); XVIII Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Москва,

2017); XI Региональный научно-образовательный форум и пленум Правления Российского общества акушеров-гинекологов «Мать и Дитя – 2018» (Ярославль, 2018); XIX Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Москва, 2018); BIRTH: Clinical challenges in labor and delivery (Венеция, Италия, 2018); 6-я Итоговая научная сессия молодых учёных Ростовского государственного медицинского университета (Ростов-на-Дону, 2019); 2nd World Congress on Maternal Fetal Neonatal Medicine (Лондон, Великобритания, 04–06.04.2019); XX Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Москва, 2019); XIV Международный конгресс по репродуктивной медицине (Москва, 2020); XIV Общероссийский научно-практический семинар «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (Сочи, 2020); XXI Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и дитя» (Москва, 2020); Gynecological Endocrinology – 19th World Congress (Флоренция, Италия, 02–05.12.2020).

По результатам выполненных исследований опубликовано 13 печатных работ, из них 4 в журналах, входящих в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК. Получен патент на изобретение № RU2738674C1 от 12.05.2020 «Способ прогнозирования задержки роста плода».

Апробация диссертационной работы проведена на заседании научно-координационного совета «Научно-организационные основы профилактики, диагностики и лечения важнейших заболеваний женщины, матери и ребёнка» ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол № 3 от 11 мая 2021 г.). Проведение исследования одобрено заседанием локального независимого этического комитета Ростовского государственного медицинского университета от 26 октября 2017 г. № 18/17.

Объём и структура работы. Материал диссертационной работы изложен на 125 страницах машинописного текста, включает основные разделы: введение, обзор литературы, шесть глав результатов собственных исследований с их

обсуждением, заключение, выводы, практические рекомендации, список используемой литературы, приложения. В диссертации содержатся 20 таблиц и 10 рисунков. Список библиографических ссылок включает 167 источников: 41 – отечественные, 126 – иностранные авторы.

ГЛАВА 1 ЗАДЕРЖКА РОСТА ПЛОДА: СОВРЕМЕННЫЙ ВЗГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1 Задержка роста плода при плацентарной недостаточности: механизм развития, последствия для новорождённого

Задержка роста плода – это осложнение беременности, которое характеризуется отсутствием реализации плодом его генетически детерминированного потенциала роста [1–3]. Это определение отражает механизмы развития данного патологического состояния, подчёркивая разницу «истинной» ЗРП (intrauterine growth restriction) и понятия «плода, малого к сроку гестации» (small for gestational age), характеризующегося конституционально обусловленным отставанием размеров плода ниже предопределённого порогового значения для соответствующего гестационного возраста без нарушения внутриутробного состояния плода.

Среди факторов риска формирования ЗРП принято выделять следующие группы [52]:

– социально-бытовые (возраст менее 17 лет, вес менее 50 кг, профессиональные вредности, эмоциональное перенапряжение, курение, алкоголизм, наркомания и др.);

– соматические (гипертоническая болезнь, сахарный диабет, заболевания легких, системы крови и др.);

– акушерско-гинекологические (пороки развития и опухоли матки, нарушения менструальной функции, гинекологические заболевания, операции, привычное невынашивание беременности, антенатальная гибель плода в анамнезе и др.);

– осложнения настоящей беременности (угроза прерывания, индуцированная беременность или ЭКО, TORCH-инфекции и др.);

– врождённая и наследственная патология (аномалии и генетические особенности плода).

Этиологические факторы ЗРП можно разделить на причины, связанные со здоровьем матери (хронические экстрагенитальные заболевания, осложнения беременности, табакокурение и др.), с состоянием плода (хромосомные aberrации, внутриутробные инфекции, врожденные аномалии развития) и с нарушениями структуры и функции плаценты и пуповины. Именно на долю плацента-обусловленных состояний приходится наибольшее число случаев развития ЗРП [53].

Критерии диагностики ЗРП долгое время оставались дискуссионными [54]. В настоящий момент принято считать, что для диагностики ЗРП недостаточно одного лишь отставания предполагаемой массы плода либо окружности живота плода от нормальных для данного срока гестации значений, поскольку в этом случае есть риск допустить ошибку второго рода и принять за ЗРП (IUGR) конституционально обусловленное отставание размеров плода менее порогового значения для соответствующего гестационного возраста (МГВ – SGA). Для более точной дифференциальной диагностики необходимо учитывать не только отклонения в ультразвуковой фетометрии, но и факторы, ассоциированные с неблагоприятными перинатальными исходами [3, 5].

Наиболее полными и точными диагностическими критериями ранней и поздней ЗРП являются факторы, предложенные Международным обществом ультразвука в акушерстве и гинекологии [6], которые утверждены актуальными клиническими рекомендациями [7]. Для диагностики ранней ЗРП достаточно выявления до 32 недель беременности одного из одиночных факторов: ПМП и/или ОЖ менее 3-го перцентиля, либо нулевой конечно-диастолический кровоток в АП, либо сочетание ПМП и/или ОЖ менее 10-го перцентиля с пульсационным индексом в маточной артерии и/или АП более 95-го перцентиля. Поздняя ЗРП диагностируется в сроках 32 недели и более также по одному абсолютному критерию (ПМП и/или ОЖ менее 3-го перцентиля) либо по двум из трёх относительных критериев (ПМП и/или ОЖ менее 10-го перцентиля;

замедление динамики прироста ПМП и/или ОЖ, пересекающее более двух квартилей на процентильных графиках роста; церебрально-плацентарное отношение менее 5-го процентиля или пульсационный индекс в АП более 95-го процентиля).

Необходимым условием успешной плацентации является полноценная инвазия цитотрофобласта, для которой необходимо благополучное ремоделирование и дилатация спиральных артерий эндометрия и интенсивный ангиогенез ворсин хориона [1, 52].

Этиопатогенез ЗРП вследствие нарушения первой и второй волны инвазии цитотрофобласта изучается на протяжении вот уже почти шестидесяти лет [55, 56]. Основное внимание уделяется мощным инвазивным способностям цитотрофобласта, который из внешней оболочки имплантированной бластоцисты, а затем из оснований якорных ворсин пролиферирует и инвазирует в прилежащий эндо- и миометрий, продвигаясь в чужеродной антигенной среде и аррозируя материнские капилляры и артериолы [57].

В результате полноценной инвазии клеток трофобласта происходят морфологические изменения сосудов, которые проявляются увеличением диаметра сосуда и возникновением автономности (отсутствием реакции на влияние вазопрессорных медиаторов).

Основной особенностью плаценты при ЗРП является уменьшение объёма, площади поверхности и васкуляризации промежуточных и терминальных ворсин, которые опосредуют кровотоки в системе «мать – плацента – плод» [58, 59, 60]. Это снижение, по-видимому, связано с чрезмерной регрессией ворсин во время ремоделирования плаценты и усугубляется более медленными темпами последующего роста [61].

Основным звеном в нарушении маточно-плацентарного кровотока является недостаточность второй волны инвазии цитотрофобласта, при которой происходит нарушение лизиса гладкомышечных элементов спиральных артерий, недостаточное внутрисосудистое проникновение, возникновение неполноценных маточно-плацентарных артерий и, соответственно, неадекватный прирост объёма

маточно-плацентарного кровотока. Недостаточность второй волны инвазии цитотрофобласта приводит к прогрессирующей констрикционной и облитерационной патологии спиральных артерий плацентарного ложа матки [61–63]. Вследствие возникших «поломок» в процессе становления маточно-плацентарного кровотока доставка кислорода и питательных веществ к плоду не поддерживается на должном уровне, что проявляется в виде различной выраженности плацентарной недостаточности [64, 65].

Изменения плаценты, наблюдаемые в случаях ЗРП неинфекционного и нехромосомного происхождения, являются частью спектра патологии, связанной с различной степенью недостаточного ремоделирования спиральных артерий матки [56]. Высокая скорость, неравномерность и перемежающаяся перфузия плаценты вызывают окислительный стресс, подавляя рост плаценты и нарушая её эндокринную и транспортную функции.

ЗРП является одной из важных причин мертворождения, внося значительный вклад в структуру причин этой проблемы как в развитых, так и в развивающихся странах [66]. При этом достаточно часто антенатальная гибель происходит в сроки, в которые ребёнок был достаточно зрел для внеутробного выживания и дальнейшего нормального развития [10, 11].

Хроническое нарушение питания плода, особенно при недоношенности, приводит к функциональной незрелости ряда органов и систем (преимущественно центральной нервной системы и органов дыхания), снижению иммунологической реактивности и метаболическим расстройствам. Вследствие этого у детей, перенесших ЗРП, возрастает частота заболеваний младенческого возраста, включающих респираторный дистресс-синдром, внутрижелудочковые кровоизлияния, бронхолёгочную дисплазию, септические осложнения [12, 67–69].

Адаптационные механизмы, срабатывающие у плода с ЗРП, могут иметь негативные последствия, если продолжают действовать достаточно долго. Так, в условиях хронической гипоксемии, обусловленной плацентарной недостаточностью, и нехватки питательных веществ сердечный выброс плода перераспределяется таким образом, чтоб осуществлять поддержку головного

мозга (brain-sparing эффект). Brain-sparing эффект заключается в церебральной вазодилатации и перераспределении кровотока, cardiac-sparing эффект – в уменьшении фракции выброса обоих желудочков, гипертрофии миокарда без дилатации желудочков, что связано с тяжёлым ацидозом плода и является прогностически неблагоприятным. Происходит перестройка сосудов головного мозга и снижение реактивности их стенок, что приводит к нарушениям ауторегуляции кровоснабжения головного мозга, нарушая важное звено защиты головного мозга от гипо- или гиперперфузии [70, 71]. Всё это повышает частоту поражений центральной нервной системы у детей, перенесших ЗРП [72].

Адаптация плода к длительному дефициту питательных веществ и кислорода при его антенатальном развитии в условиях плацентарной недостаточности и внутриутробной гипоксии позволяет ему выживать, приводя, однако, к изменениям на молекулярном и физиологическом уровне, имеющим отдалённые последствия. Так, всё больше данных говорит о том, что длительное воздействие неблагоприятных внутриутробных условий существования изменяет профиль риска хронических неинфекционных заболеваний во взрослом возрасте (гипотеза «плодового программирования» Баркера) [73, 74, 75].

1.2 Актуальные клинические протоколы ведения пациенток с задержкой роста плода. Критерии родоразрешения

Единственным на сегодняшний день инструментом, позволяющим улучшить исходы при ЗРП, является мониторинг внутриутробного состояния плода с целью определения оптимального времени для родоразрешения, чтобы отсрочить рождение ребёнка для снижения рисков, связанных с недоношенностью, не потеряв при этом плода антенатально.

В Российской Федерации с 2021 г. Министерством здравоохранения внедрён клинический протокол по ЗРП [7]. До его утверждения разные

медицинские учреждения следовали внутренним приказам, утверждённым главными врачами, регламентирующим тактику ведения беременности при ЗРП. Несомненно, важным является персонифицированный подход с учётом индивидуальных особенностей каждой женщины, однако следование понятному и последовательному алгоритму ведения беременности при ЗРП и чёткие критерии родоразрешения позволяют получить оптимальный результат по выживаемости и уровню здоровья новорождённых.

За рубежом в настоящее время действует несколько национальных рекомендаций (гайдлайнов – guidelines) по ЗРП, разработанных иностранными сообществами и коллегиями акушеров-гинекологов США (Американская коллегия акушеров-гинекологов – ACOG, Общество медицины матери и плода – SMFM) [11], Великобритании (Королевская коллегия акушеров-гинекологов – RCOG) [76], Канады (Общество акушеров и гинекологов Канады – SOGC) [77], Новой Зеландии [78], Ирландии [79], Франции [41]. Большинство из этих рекомендаций сходится в определении факторов риска ЗРП и плацентарной недостаточности, а также в необходимости назначения малых доз ацетилсалициловой кислоты с ранних сроков беременным, имеющим высокий риск развития данного осложнения. Для наиболее раннего выявления отставания темпов роста плода рекомендуется определение высоты стояния дна матки, контроль маточно-плацентарного кровотока во втором триместре, определение количества околоплодных вод и ультразвуковая фетометрия с построением центильных кривых. Также общими являются рекомендации о проведении профилактики респираторного дистресс-синдрома (РДС) плода при установленной ЗРП и сроке беременности менее 34 недель (в британских рекомендациях этот период продлён до 35 недель 6 дней) и о нейропротекции сульфатом магния при сроке гестации менее 32 недель.

Что касается критериев родоразрешения и частоты мониторинга внутриутробного состояния плода при нарушениях фетоплацентарного кровотока различной степени, то взгляды, изложенные в разных рекомендациях, неоднозначны [80]. Оптимальный срок родоразрешения зависит от этиологии ЗРП

(если она известна) и срока беременности. Тактика ведения беременности и выбора метода родоразрешения может быть индивидуализирована благодаря мультидисциплинарному подходу.

Кардиотокография (КТГ) является важнейшим методом оценки состояния плода, значимость которого особенно велика в сроках беременности до 32 недель. Особо подчеркивается при этом необходимость компьютеризированной обработки результатов с аппаратным подсчётом STV (short-term variation – кратковременная вариабельность) [81]. Прогностически неблагоприятным, а значит, требующим неотложного родоразрешения является монотонный тип кривой КТГ с STV менее 3,0 мс, поскольку он ассоциирован с высокой частотой метаболического ацидоза и значимо повышает частоту ранней неонатальной гибели [76].

При проведении доплерометрии у плодов с выявленным отставанием темпов роста чаще всего исследуют пупочную артерию, среднюю мозговую артерию и венозный проток, при этом наибольшее значение имеет определение кровотока в АП. Именно кровоток в АП позволяет оценить состояние сосудистого сопротивления плаценты, потому что единственным периферическим руслом АП является сосудистая сеть плодовой части плаценты [82]. Нарушение кровотока в АП свидетельствует о наличии плацентарной недостаточности, лежащей в основе ЗРП, и может использоваться в прогнозировании перинатального исхода и как критерий выживания новорождённого [11]. Общепринятым является определение пульсационного индекса, или индекса резистентности, в АП и сравнение его со средним показателем для срока гестации по центильным кривым. Однако наличие повышения только этого показателя является критерием родоразрешения уже в доношенном сроке беременности, и только канадские национальные рекомендации считают необходимым проводить родоразрешение в сроке гестации 34 недели и более при наличии любых отклонений по доплерометрии.

Иная ситуация – более тяжёлые нарушения фетоплацентарного кровотока. Согласно актуальной до недавнего времени отечественной классификации нарушений маточно- и плодово-плацентарного кровотока [83] выраженные

нарушения были объединены в третью стадию плацентарной недостаточности (критические нарушения плодово-плацентарного кровотока – отсутствие кровотока или реверсный диастолический кровоток – при сохранном либо нарушенном маточно-плацентарном кровотоке).

По рекомендациям, утверждённым в США и Новой Зеландии, реверсный конечно-диастолический кровоток в АП является показанием для родоразрешения при сроке беременности 32 недели и более, нулевой – при сроке 34 недели и более. Данные рекомендации основываются на результатах проспективного многоцентрового рандомизированного исследования TRUFFLE (trial of randomized umbilical and fetal flow in Europe), проведённого в 2013 г. [84, 85], тогда как в сроке беременности менее 32 недель авторы исследования рекомендуют родоразрешение при появлении нарушений в венозном протоке или снижении STV менее 3,0 мс по данным КТГ.

Канадское общество акушеров-гинекологов рекомендует родоразрешение в сроке беременности более 34 недель при выявлении как нулевого, так и реверсного конечно-диастолического кровотока в АП. В рекомендациях, утверждённых в Ирландии, реверсный конечно-диастолический кровоток в АП служит показанием для родоразрешения в сроке гестации 30 недель и более, а после 34 недель – нулевой конечно-диастолический кровоток в АП. Рекомендации RCOG не регламентируют таких чётких критериев для родоразрешения с опорой на доплерометрию АП, однако указывают на нецелесообразность пролонгирования беременности дольше 37 недель при любых нарушениях кровотока в АП [76].

Ценность исследования кровотока в венозном протоке (ductus venosus) плода является дискуссионной по данным различных национальных рекомендаций, однако представляется целесообразной доплерометрия этого сосуда при выявлении нулевого или реверсного конечно-диастолического кровотока в АП. По рекомендациям Великобритании, Франции и Канады нарушение кровотока в венозном протоке в любом сроке беременности является показанием для неотложного родоразрешения (наряду с патологическим типом

кривой КТГ) [41, 76, 77]. Отсутствие же патологических изменений кровотока в венозном протоке позволяет пролонгировать беременность до 32–34 недель, если другие показатели состояния плода в пределах нормы.

Исследователи проблемы ЗРП из Испании F. Figueras и E. Gratacos в 2017 г. предложили подход, который заключается в поэтапной группировке тех показателей или признаков, которые связаны с аналогичными рисками для плода, поскольку они должны указывать на одинаковые интервалы наблюдения и сроки родоразрешения [3].

На первом этапе, после того как был идентифицирован маловесный плод (т.е. предполагаемая масса плода < 10-го центиля), следует измерить пульсационный индекс маточных артерий, АП, средней мозговой артерии и цереброплацентарное отношение, чтобы дифференцировать ЗРП по сравнению с плодом, малым к сроку гестации (SGA). Для плодов с ЗРП с целью определения стадии ухудшения внутриутробного состояния используется доплерометрия АП, венозного протока, устья аорты и КТГ, если это доступно. Дальнейший алгоритм ведения определяется установленной стадией ЗРП:

1. Малый для гестационного возраста. Исключая инфекционные и генетические причины, перинатальные исходы для этих плодов достаточно благоприятны. Стандартной и безопасной частотой контроля является доплерометрия и оценка темпов роста плода каждые две недели. Родовозбуждение должно быть рекомендовано в 40 недель. Подготовка шейки матки с помощью катетера Фолея может быть рекомендована для снижения риска гиперстимуляции.

2. Стадия I ЗРП (тяжёлое отставание размеров плода или лёгкая плацентарная недостаточность) – характеризуется отклонениями при доплерометрии маточных артерий, АП, средней мозговой артерии или цереброплацентарного отношения. При отсутствии других патологий данные свидетельствуют о низком риске ухудшения состояния плода раньше доношенного срока. Индукция родов после 37 недель приемлема, но это

повышает риск дистресса плода. Подготовка шейки матки с помощью катетера Фолея также рекомендуется. Предпочтителен еженедельный мониторинг.

3. Стадия II ЗРП (тяжёлая плацентарная недостаточность). Эта стадия определяется нулевым конечно-диастолическим кровотоком в АП или обратным кровотоком в устье аорты. Родоразрешение должно быть рекомендовано в 34 недели. Риск конверсии на кесарево сечение при родах превышает 50%, и, следовательно, плановое кесарево сечение является разумным вариантом. Мониторинг рекомендуется приводить два раза в неделю.

4. Стадия III ЗРП (прогрессирующее ухудшение состояния плода, неявные признаки ацидоза плода). Стадия определяется реверсным конечно-диастолическим кровотоком в АП или пульсационным индексом в венозном протоке > 95 -го перцентиля. Существует связь с более высоким риском мертворождения и худшим неврологическим исходом. Тем не менее, поскольку признаки, свидетельствующие об очень высоком риске мертворождения в течение нескольких дней, пока отсутствуют, представляется разумным отложить плановое родоразрешение, чтобы максимально снизить последствия тяжёлой недоношенности. Родоразрешение рекомендуется путём кесарева сечения в 30 недель, проведение мониторинга – каждые 24–48 часов до этого момента.

5. Стадия IV ЗРП (высокая вероятность ацидоза у плода и высокий риск смерти плода). Имеются спонтанные замедления частоты сердечных сокращений (ЧСС) плода (децелерации), снижение STV (< 3 мс) по КТГ или реверсный кровоток в венозном протоке. Самопроизвольное замедление ЧСС является неблагоприятным признаком, которому обычно предшествуют два других признака, и, таким образом, оно наблюдается редко, но при сохранении оно может потребовать экстренного кесарева сечения. Нарушения по данным КТГ и в венозном протоке связаны с очень высоким риском мертворождения в течение следующих трех-семи дней и инвалидности. Родоразрешение рекомендуется в 26 недель путём кесарева сечения в стационаре третьего уровня после проведения профилактики РДС плода кортикостероидами. Выживаемость без негативных последствий превышает 50% только в сроке 26–28 недель, и до этого порога

беременная должна наблюдаться междисциплинарной командой. Рекомендуется мониторинг каждые 12–24 часа до родов.

Несмотря на отсутствие убедительных данных, подтверждающих чёткие рекомендации по срокам родоразрешения, протокол, объединяющий имеющиеся данные, может помочь уменьшить частоту вариаций ведения беременных с ЗРП в клинической практике.

1.3 Современные представления о роли эпигенетической регуляции в механизмах развития осложнений беременности

Для понимания патогенеза ЗРП и определения роли в патогенезе эпигенетических факторов актуальным является изучение механизмов эпигенетической регуляции развития фетоплацентарной дисфункции, приводящей к ЗРП.

Эпигенетическая регуляция экспрессии генов включает метилирование ДНК, модификацию гистонов, ремоделирование хроматина и взаимодействие матриксной РНК (мРНК) с микроРНК. МикроРНК, являясь эпигенетическими регуляторами наряду с метилированием ДНК, относятся к семейству небольших некодирующих рибонуклеиновых кислот, длиной в среднем 18–25 нуклеотидов, которые регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путём деградации или блокирования трансляции таргетной мРНК [86]. Впервые описанные в 1993 г. как эндогенные медиаторы у *C. elegans*, сейчас микроРНК изучены более подробно, определена роль данного семейства РНК в клеточной дифференцировке, пролиферации, апоптозе, нормальном и патологическом развитии, поддержании гомеостаза [87].

Гены микроРНК могут быть локализованы в интронах и экзонах генов как на смысловой, так и на антисмысловой цепи, а также в межгенном пространстве. Такая организация генома обеспечивает структурно-функциональную

взаимосвязь белок-кодирующих генов с микроРНК-регуляторами и является отражением эволюционных процессов. МикроРНК выступают важнейшими модуляторами многих биологических процессов, при многих заболеваниях и патологических состояниях достоверно установлено изменение активности микроРНК, играющее критическую роль в изменении экспрессии генов; особенно хорошо разработано это направление в изучении канцерогенеза [88].

Беременность – это сложный физиологический процесс, и мы только начинаем понимать функции микроРНК во время беременности. МикроРНК являются «дирижёрами», регулирующими «включение» и «выключение» экспрессии генов, управляя всеми процессами, в том числе в ходе развития беременности. Так, в экспериментах на мышах [89] показано, что «выключение» белка *Dicer*, играющего ключевую роль в синтезе микроРНК, приводило к гипотрофии и дезорганизации матки и эмбриона, обуславливая тем самым бесплодие у самок и невынашивание беременности. Таким образом, сбои и нарушения в этом сложном, многоступенчатом механизме могут приводить к серьёзным последствиям, обуславливая ряд осложнений беременности.

Так, в работе Morales-Prieto было показано, что клетками цитотрофобласта вырабатываются микроРНК, относящиеся к кластерам C14MC (54 специфических микроРНК), C19MC (46 микроРНК), а также микроРНК-371-3, микроРНК-141 [90]. Они были обнаружены в сыворотке крови беременной и, по-видимому, отражают состояние плаценты и могут быть потенциальными биомаркерами, указывающими на осложнения беременности. Кластер микроРНК C14MC играет большую роль в формировании плода и эволюции плацентарных млекопитающих в целом, координируя важнейшие биологические процессы, такие как развитие эмбриона, формирование центральной нервной системы, регуляция транскрипции и метаболизма РНК. Экспрессия микроРНК C14MC снижается в течение беременности [90]. Кластеры C19MC и микроРНК-371-3 преимущественно экспрессируются в репродуктивных органах, плацентарной ткани и стволовых клетках. В наибольшем количестве эти микроРНК можно обнаружить в плаценте

третьего триместра беременности, а после родов они элиминируются из крови матери [90].

Итак, в 2007 г. впервые стало известно, что существует ряд микроРНК, специфичных для плаценты. Это было обнаружено при исследовании плацентарной ткани. Но образец плаценты невозможно безопасным способом получить у беременной женщины, забор плацентарной ткани может быть связан с высокими рисками для настоящей беременности. Поэтому перед учёными встал вопрос: можно ли обнаружить плацента-специфичные микроРНК в крови беременной женщины и как их уровень будет коррелировать с содержанием этих микроРНК в ткани плаценты? Работы по данному направлению впервые были начаты в 2008 г. [91]. S.S.C. Chim и его коллеги провели масштабное исследование по изучению экспрессии 157 микроРНК, выделенных из ткани плаценты, в плазме крови беременной женщины [91]. В материнской плазме крови было выявлено четыре микроРНК, экспрессируемых в плаценте (микроРНК-141, микроРНК-149, микроРНК-299-5p и микроРНК-135b), причём их экспрессия в плазме родильницы уже не была обнаружена, что подтверждает их плацентарное происхождение.

Каким же образом микроРНК из плацентарной ткани попадают в материнский кровоток? Наиболее вероятным и изученным является транспорт в том числе плацента-специфичных микроРНК во внеклеточных везикулах, особенно экзосомах [92–95]. Эти микроРНК могут проявлять своё супрессорное действие на ближайшие или отдалённые клетки, обеспечивать негормональную межклеточную связь во время разнообразных биологических процессов. В этих циркулирующих микроРНК кроется огромный потенциал – как диагностический (возможность предикции или ранней диагностики заболеваний и осложнений по изменяющемуся уровню экспрессии специфичных микроРНК), так и терапевтический (таргетная терапия путём введения микроРНК, оказывающих супрессорное воздействие на гены, ответственные за развитие определённого заболевания).

Уровень экспрессии микроРНК может являться индикатором изменений плаценты во время беременности в зависимости от срока гестации и развития ворсин плаценты [88]. Динамическое изменение профиля экспрессии различных плацента-специфичных микроРНК в течение беременности связано с преобладающими на данном этапе беременности биологическими процессами [96, 97]. Так, для первого триместра беременности более характерно повышение уровня экспрессии 136 микроРНК, влияющих на онкогенез, ангиогенез и имеющих антиапоптотическое влияние. В третьем же триместре наиболее высок уровень экспрессии 99 микроРНК, связанных с клеточной дифференцировкой и опухолевой супрессией [97].

По данным отечественных исследователей, ряд микроРНК, определяемых в плазме крови матери, могут оказаться специфическими для беременности определенного гестационного срока и расцениваться в качестве потенциальных неинвазивных маркеров состояния здоровья матери и плода [24]. В акушерстве на данный момент наиболее изучены изменения микроРНК при преэклампсии [98–104]. Так, при этом осложнении многие исследователи обнаружили повышение экспрессии микроРНК-210 [99, 105, 106]. Изменение экспрессии микроРНК при иной акушерской патологии (преждевременные роды, гестационный сахарный диабет, ЗРП, невынашивание беременности и др.) изучено недостаточно и требует дальнейшего исследования.

Интересные результаты были получены группой исследователей из США: при ЗРП было выявлено общее снижение экспрессии (на 24%) плацента-специфичных микроРНК (микроРНК-27a-1, микроРНК-30d, микроРНК-93, микроРНК-141, микроРНК-200c, микроРНК-205, микроРНК-224, микроРНК-335, микроРНК-424, микроРНК-451, микроРНК-491) в ткани плаценты по сравнению с контрольной группой (неосложнённая беременность), но сравнительное повышение общего уровня анализируемых микроРНК в плазме крови беременных с ЗРП (в 1,84 раза) [41]. Выявленное снижение уровня экспрессии плацента-специфичных микроРНК в плацентарной ткани коррелирует с плацентарной недостаточностью как одной из ведущих причин ЗРП. Что касается,

казалось бы, парадоксального повышения уровня данных микроРНК в плазме крови, такие результаты могут быть связаны с понижением биогенеза и повышением экзосомального выброса в плазму плацента-специфичных микроРНК при ЗРП. Также эта находка может отражать наличие неких двух независимых механизмов, приводящих к повышению плацента-специфичных микроРНК в плазме крови и снижению их экспрессии в ткани плаценты, либо наличие некоего внеплацентарного источника повышения микроРНК в плазме крови. Аналогичную тенденцию обнаружили авторы из России при исследовании изменения профиля микроРНК при преэклампсии: так, экспрессия микроРНК-423-5p и микроРНК-519a-3p в плазме крови беременных с преэклампсией была повышена более чем в два раза в сравнении с группой контроля, тогда как в ткани плаценты экспрессия этих же микроРНК была достоверно снижена [107].

Роль микроРНК-10b и микроРНК-363 в ЗРП была показана S. Thamotharan и коллегами. Экспрессия данных микроРНК была выше в ткани плаценты при ЗРП [27]. МикроРНК-10b (главным образом влияя на синтез E-кадгерина) и микроРНК-363 (регулируя синтез транспортных белков) влияют на процессы клеточной миграции, ангиогенеза и транспорта питательных веществ; все они являются очень важными в формировании и функционировании плаценты.

М.А. Массани с соавторами [108] и группой учёных во главе с T. Cindrova-Davies [109] было установлено, что снижение экспрессии микроРНК-21 в ткани плаценты ассоциировано с ЗРП, однако это неспецифичный показатель, и снижение уровня данной микроРНК характерно для ряда других осложнений беременности, вызванных плацентарной недостаточностью (преэклампсия и др.). Роль микроРНК-21 в развитии ЗРП предположительно связана с влиянием на рост и инвазию плаценты [108].

Напротив, повышение экспрессии микроРНК-21 в крови беременной при ЗРП, наряду с другими микроРНК, определёнными авторами как гипоксия-индуцированные (микроРНК-210, микроРНК-424, микроРНК-199a, микроРНК-20b и микроРНК-373), было выявлено группой исследователей из Австралии [37]. Наибольший уровень достоверности при этом продемонстрировала микроРНК-

373, уровень экспрессии которой при ЗРП был в 29 раз выше, чем в группе контроля. При появлении нулевого или реверсного кровотока в АП у плода с ЗРП по данным доплерометрии было также отмечено статистически значимое повышение экспрессии микроРНК-424 и микроРНК-21. Интересно также, что, по данным учёных под руководством С.L. Whitehead, экспрессия комбинации микроРНК-21 и микроРНК-20b показала тесную ($r = 0,79$) корреляцию с уровнем лактата в пуповинной крови при гипоксии в родах [37].

В 2013 г. Q. Tang с коллегами выявили статистически значимое повышение уровня микроРНК-141 в ткани плаценты при ЗРП [26]. Эта микроРНК подавляет экспрессию генов E2F3 и PLAG1, влияя на синтез инсулиноподобного фактора роста – 2. Авторами была продемонстрирована достаточно высокая прогностическая значимость микроРНК-141 в отношении ЗРП: чувствительность составила 88,5%, а специфичность 71,7%, что делает данную молекулу перспективной в плане предикции ЗРП. Ещё один возможный механизм влияния микроРНК-141-3p на формирование ЗРП был предложен в 2017 г.: биоинформационный анализ показал супрессорное влияние этой молекулы на ген, кодирующий транстиретин (транспортный белок, переносящий, в частности, тироксин матери через плаценту в кровотоки плода) [40]. Авторы также показали высокую экспрессию микроРНК-141-3p в ткани плаценты при ЗРП, сочетающуюся, соответственно, с пониженным уровнем транстиретина. Исследователи связывают это действие данной микроРНК с подавлением исключительно важной физиологической роли гормонов щитовидной железы в формировании и развитии плода.

Нарушение инвазии цитотрофобласта является важнейшим звеном патогенеза плацентарной недостаточности, которая может проявиться как ЗРП, преэклампсия, преждевременные роды [110]. Неполноценная физиологическая трансформация стенок спиральных артерий приводит к снижению межворсинчатого кровотока, гипоксии и нарушению кровоснабжения плаценты. Влияние микроРНК на пролиферацию и инвазию цитотрофобласта было показано в экспериментах *in vitro* над образцами плаценты человека первого триместра

беременности: «выключение» белка Dicer, превращающего пре-микроРНК в микроРНК, приводило к усилению инвазии трофобласта [111]. Это обусловлено тем, что микроРНК являются, как правило, негативными регуляторами экспрессии генов; таким образом, элиминация супрессивного влияния микроРНК на биологические процессы вызывает чрезмерную активацию процесса, тогда как повышение экспрессии микроРНК подавляет его.

На данный момент изучено влияние отдельных микроРНК на процессы инвазии трофобласта с последующим воздействием на осложнения беременности. Так, повышение экспрессии микроРНК-517a снижает инвазию клеток трофобласта HTR-8/SVneo; и группой авторов во главе с G.Y. Song [42] было выявлено достоверное повышение экспрессии данной микроРНК в ткани плаценты и сыворотке крови беременной при ЗРП. Аналогичный механизм действия был выявлен также для микроРНК-155, уровень которой достоверно выше у беременных с тяжёлой преэклампсией [112]. Также группа авторов из Китая [113] выявила статистически значимое снижение экспрессии микроРНК-518b и повышение экспрессии микроРНК-519a в ткани плаценты при ЗРП. Влияние этих микроРНК на развитие плацентарной недостаточности опосредовано через изменение пролиферации и инвазии трофобласта [114].

Геном-мишенью микроРНК-424 является митоген-активируемая протеинкиназа (МАРК), играющая роль в пролиферации эндотелиоцитов через регулировку активности сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF) и фактора роста фибробластов FGFR1. По данным L. Huang с соавторами, повышение экспрессии микроРНК-424 ассоциировано с ЗРП, влияя на одно из звеньев патогенеза – ангиогенез [25]. Ангиогенез является важнейшим процессом, необходимым для нормального становления системы «мать – плацента – плод» [115]. Повышенная экспрессия микроРНК-424 нарушает скоординированную работу ангиогенных и антиангиогенных факторов, что может приводить к нарушению формирования сосудов плаценты и функциональной активности трофобласта, реализуясь в картину плацентарной недостаточности и ЗРП.

I. Hromadnikova с соавторами в 2015 г. установили, что изменение экспрессии ряда микроРНК, играющих роль в патогенезе сердечно-сосудистых и эндокринных заболеваний (ишемическая болезнь сердца, острый инфаркт миокарда, сахарный диабет и др.), характерно также для осложнений беременности, ассоциированных с плацентарной недостаточностью, – ЗРП и преэклампсии. 32 микроРНК методом ПЦР в режиме реального времени определялись в плацентах 170 пациенток, включавших контрольную группу и женщин, чья беременность осложнилась преэклампсией, ЗРП либо гестационной артериальной гипертензией. Показано снижение экспрессии микроРНК-26a-5p, микроРНК-103a-3p и микроРНК-145-5p в ткани плаценты беременных с преэклампсией или ЗРП по сравнению с группой контроля. Экспрессия микроРНК-499a-5p, напротив, была повышена во всех группах с осложнённой беременностью (при ЗРП, преэклампсии и гестационной артериальной гипертензии) в сравнении с контрольной группой. Ещё три микроРНК продемонстрировали статистически значимое снижение экспрессии в ткани плаценты только при ЗРП: микроРНК-122-5p, микроРНК-125b-5p и микроРНК-195-5p [39].

Авторы также провели дополнительный анализ экспрессии выбранных микроРНК не только между группами, но и в зависимости от сроков родоразрешения (до и после 34 недель) и показателей доплерометрического исследования. Было выявлено повышение экспрессии микроРНК-1-3p в плацентах пациенток с преэклампсией, родоразрешённых после 34 недель беременности, и пациенток с ЗРП, имевших нарушения фетоплацентарного кровотока, по сравнению с плацентами условно здоровых пациенток. Авторы подчёркивают, однако, что изменение экспрессии микроРНК-1-3p не приводит к данным осложнениям, но является отражением компенсаторно-приспособительного механизма. Также было установлено статистически значимое снижение экспрессии ряда микроРНК при тяжёлой ЗРП, потребовавшей необходимости родоразрешения до 34 недель гестации (микроРНК-16-5p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-100-5p, микроРНК-103a-3p, микроРНК-122-5p,

микроРНК-125b-5р, микроРНК-126-3р, микроРНК-143-3р, микроРНК-145-5р, микроРНК-195-5р, микроРНК-199а-5р, микроРНК-221-3р, miR-342-3р и микроРНК-574-3р). По мнению авторов, в основе сосудистых осложнений, развивающихся в результате преэклампсии и иных патологий беременности, лежат такие процессы, как гипоксия, эндотелиальная дисфункция и нарушение ангиогенеза, а также изменение иммунного статуса. По-видимому, эти процессы, действуя индивидуально, синергетически или кумулятивно, приводят к нарушениям эпигенетического контроля в плаценте, в частности к изменению профиля экспрессии микроРНК [39].

Крайне интересное исследование было проведено в Китае в 2017 г.: авторы определяли уровень плацента-специфичных микроРНК у монохориальной двойни при селективной ЗРП. В участках плаценты, непосредственно располагающихся в зонах прикрепления пуповины, была проанализирована экспрессия 14 микроРНК. Было установлено, что в части плаценты плода с задержкой роста половина из этих микроРНК экспрессировалась в достоверно большем количестве (микроРНК-5189-5р, микроРНК-1, микроРНК-370-3р, микроРНК-5581-5р, микроРНК-3622b-5р, микроРНК-4535, микроРНК-4743-5р), а вторая половина – в достоверно меньшем (микроРНК-373-3р, микроРНК-338-5р, микроРНК-590-5р, микроРНК-623, микроРНК-4287, микроРНК-664b-3р, микроРНК-3653) [44]. Сигнальные пути, в которых задействуются эти микроРНК, связаны с ростом органов и клеточной дифференцировкой, пролиферацией и миграцией, что, очевидно, сыграло роль в патогенезе селективной ЗРП.

В настоящее время, по результатам множества исследований, плацента-специфичные микроРНК, будучи эпигенетическими регуляторами, могут играть исключительно важную, но на данный момент до конца не изученную роль в инициации осложнений гестации. В связи с этим начинают проводиться исследования возможности использования микроРНК в предикции акушерской патологии. Так, I. Hromadnikova с соавторами в 2017 г. предприняли попытку спрогнозировать в первом триместре развитие преэклампсии и ЗРП, анализируя циркулирующие микроРНК кластера C19MC (микроРНК-516b-5р, микроРНК-

517-5p, микроРНК-518b, микроРНК-520a-5p, микроРНК-520h и микроРНК-525-5p). В отношении ЗРП, к сожалению, статистически значимых результатов получено не было. Тем не менее уровень микроРНК-517-5p, микроРНК-518b и микроРНК-520h достоверно различался у женщин, чья беременность впоследствии осложнилась преэклампсией, и у женщин с неосложнённой беременностью [43].

МикроРНК-125b-5p впервые у человека была выявлена в 2005 г. в клетках, инфицированных вирусом простого герпеса 8-го типа, показавшим ассоциацию с саркомой Капоши [116]. Проводившиеся с того момента научные работы были направлены прежде всего на изучение роли микроРНК-125b-5p в развитии онкологических заболеваний.

В работе группы авторов из Китая 2013 г. было продемонстрировано изменение экспрессии микроРНК-125b-5p в образцах ткани плаценты, взятых в различные сроки беременности. Более высокие концентрации данной микроРНК были выявлены в трофобласте третьего триместра беременности – значительно превышающие показатели, полученные в образцах, взятых в первом триместре [96]. Полученные результаты позволяют сделать предположение об участии микроРНК-125b-5p в развитии плаценты на поздних сроках беременности при условии неосложнённого течения гестационного процесса. В случае же развития осложнения – плацентарной недостаточности, ЗРП – повышение экспрессии микроРНК-125b-5p выражено в меньшей степени, что подтверждают результаты проведённого нами исследования.

Как и подавляющее большинство микроРНК, микроРНК-125b-5p является мультигенным регулятором. На основании анализа генов-мишеней данной микроРНК она была отнесена к группе так называемых ангио-микроРНК, поскольку доказана её роль в таких биологических процессах, как ангиогенез, пролиферация эндотелиоцитов, и других функциях [117, 118]. Одной из мишеней микроРНК-125b-5p является эндотелин-1 [119], обладающий сосудосуживающим действием посредством влияния на высвобождение ионов кальция. Также эндотелин-1 обеспечивает поддержание гомеостаза кровеносных сосудов,

повышает адгезию и агрегацию тромбоцитов. МикроРНК-125b-5p является негативным регулятором, а значит, при снижении её экспрессии уровень эндотелина-1 возрастает. Последующее развитие патологических процессов в эндотелиальных клетках обуславливает нарушение эндотелий-зависимой релаксации сосудов, в том числе в системе «мать – плацента – плод», вызывая плацентарную недостаточность, которая клинически реализуется в формировании ЗРП.

В.А. Гусар с соавторами в исследовании 2019 г. [31] выявили повышенную экспрессию микроРНК-125b-5p в тканях плаценты женщин с ранней ЗРП. Наблюдаемые изменения могут быть обусловлены влиянием данной микроРНК на регуляцию сбалансированной работы про- и антиоксидантной системы путём повышения образования свободных радикалов [120]. Вероятно, противоречивые результаты обусловлены иным локусом (определялась экспрессия в ткани плаценты, а не циркулирующие в периферической крови микроРНК) и меньшим объёмом выборки пациенток.

Основными биологическими процессами, на которые влияет микроРНК-125b-5p при реализации плацентарной недостаточности и гипертензивных расстройств, авторы считают гипоксию, эндотелиальную дисфункцию и нарушение ангиогенеза, что и было рассмотрено нами выше на примере эндотелина-1, а также изменения иммунного статуса беременной. По-видимому, эти процессы, действуя индивидуально, синергически или кумулятивно, приводят к нарушениям эпигенетического контроля в плаценте, в частности к изменению профиля экспрессии микроРНК.

Следует отметить, что большинство исследований, проводимых по экспрессии микроРНК при осложнениях беременности, сосредоточены в основном на преэклампсии [24, 28, 33, 38].

Так как во многих случаях ЗРП обусловлена плацентарной недостаточностью, то логично предположить, что те микроРНК, которые специфичны для плаценты, могут играть ключевую роль в развитии данного осложнения беременности, нарушая биологические процессы, необходимые для

нормального развития и функционирования плаценты [32, 121]. Плацента-специфичные микроРНК впервые были выделены в 2007 г. методом ПЦР в режиме реального времени [34, 98, 121, 122]. Они принимают участие в огромном числе необходимых функций, включая обеспечение иммунологической толерантности и ангиогенеза [23, 123]. В настоящее время известно более 500 микроРНК, связанных с формированием и функционированием плаценты [22]. Предполагается, что изменение экспрессии микроРНК в трофобластах может быть ассоциировано с развитием плацентарной недостаточности и обусловленных ею осложнений беременности [28, 29, 30]. МикроРНК, осуществляющие регуляцию экспрессии генов эндотелиальной дисфункции, вызывают развитие вазоспазма, оксидативного стресса, нарушений ангиогенеза в фетоплацентарной системе [31].

В связи с вышесказанным представляется актуальным, современным и перспективным изучение профиля экспрессии микроРНК при различных гестационных патологиях, в частности при ЗРП, а также прогнозирование дальнейшего течения беременности, результатов лечения и исходов для новорождённых. Этот вопрос по-прежнему остается плохо изученным и имеет огромные перспективы в акушерстве.

ГЛАВА 2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Клинико-анамнестическая характеристика обследованных беременных

Научно-исследовательская работа выполнена в 2017–2019 гг. на базе ФГБОУ ВО РостГМУ Министерства здравоохранения Российской Федерации, Государственного бюджетного учреждения Ростовской области «Перинатальный центр» (ГБУ РО «ПЦ»), Научно-исследовательского института биологии Южного федерального университета (НИИ биологии ЮФУ). Обследовано 115 женщин, родоразрешённых в 2017–2019 гг. в ГБУ РО «ПЦ». 15 пациенток не включены в исследование в силу наличия у них критериев исключения либо отказа от участия в исследовании.

Наличие ЗРП определило распределение женщин в две клинические группы. Первую группу ($n = 59$) составили беременные с ЗРП по данным третьего ультразвукового скрининга (30 недель – 31 неделя 6 дней). Диагноз ЗРП подтверждался путём взвешивания ребёнка при рождении и выявления малой массы тела (ММТ) для соответствующего гестационного возраста. В настоящем исследовании все установленные антенатально случаи ЗРП подтвердились постнатально с применением кривых роста Фентона для недоношенных мальчиков и девочек [49]. Во вторую группу (контрольную, $n = 41$) были включены женщины с неосложнённой беременностью в сопоставимые сроки гестации.

С целью оценки клинико-анамнестической характеристики женщин, вошедших в исследование, был проведен анализ медицинской документации. Проанализированы такие параметры, как рост, индекс массы тела (ИМТ) на момент начала беременности, особенности питания, вредности на производстве, табакокурение на протяжении беременности (таблица 3).

Таблица 3 – Клинико-anamнестическая и медико-социальная характеристика пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 неделю – 31 неделю 6 дней

Характеристика пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
Возраст, лет (Me (Q1; Q3))	30 (26; 35)	27 (26; 33)	0,884
Рост, см (Me (Q1; Q3))	163,4 (160,5; 167,8)	165,1 (161,9; 168,5)	0,418
Исходный ИМТ, кг/м ² (Me (Q1; Q3))	23,8 (21,9; 28,3)	22,8 (19,7; 26,3)	0,079
Табакокурение	6 (10,2%)	2 (4,9%)	0,466
Соблюдение вегетарианской диеты	2 (3,4%)	4 (9,8%)	0,224
Профессиональные вредности	4 (6,8%)	1 (2,4%)	0,646

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни, по частоте встречаемости фактора – с помощью точного теста Фишера.

Беременные с ЗРП и в контрольной группе были сопоставимы по возрасту, антропометрическим данным, пищевым привычкам, социальному статусу, наличию вредных привычек (табакокурение).

У пациенток, включённых в исследование, был проведён анализ акушерско-гинекологического анамнеза (таблица 4).

Таблица 4 – Акушерский анамнез пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Характеристика пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
Первобеременные	28 (47,5%)	18 (43,9%)	0,883
Количество родов в анамнезе (Me (Q1; Q3))	1,2 (0,8; 2,1)	1,1 (0,9; 1,6)	0,717
Преждевременные роды в анамнезе	2 (3,4%)	1 (2,4%)	1,0
Плацентарная недостаточность в анамнезе в предыдущую беременность	8 (13,6%)	4 (9,8%)	0,757
Самопроизвольный аборт или неразвивающаяся беременность в анамнезе	9 (15,3%)	4 (9,8%)	0,551
Хирургический аборт	11 (18,6%)	7 (17,1%)	1,0

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни, по частоте встречаемости фактора – с помощью критерия χ^2 Пирсона либо с помощью точного теста Фишера (при ожидаемых значениях в таблице сопряженности менее или равно 5).

При рассмотрении акушерского анамнеза статистически значимых различий между группами не установлено. Женщины, вошедшие в исследование, были сопоставимы по паритету, количеству нереализованных беременностей (пациенток с привычным невынашиванием в исследовании не было), осложнённого течению прошлых беременностей. Тем не менее есть тенденция к более высокой частоте неблагоприятных исходов предыдущих беременностей у женщин с ЗРП, не достигающая, однако, статистически значимой разницы.

Гинекологическая заболеваемость у наблюдаемых пациенток была представлена воспалительными заболеваниями органов малого таза (ВЗОМТ), хроническим цервицитом / хроническим вульвовагинитом (ХВВ), первичным и вторичным бесплодием, эндометриозом (таблица 5).

Таблица 5 – Гинекологические заболевания у пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Характеристика пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
Внутриутробные вмешательства	13 (22%)	8 (19,5%)	0,956
Воспалительные заболевания ОМТ	3 (5,1%)	1 (2,4%)	0,642
Бесплодие в анамнезе – первичное	3 (5,1%)	2 (4,9%)	1,0
Бесплодие в анамнезе – вторичное	2 (3,4%)	1 (2,4%)	1,0
Хронический цервицит / хронический вульвовагинит	9 (15,3%)	3 (7,3%)	0,35
Эндометриоз	2 (3,4%)	0	-

Примечание: сравнение групп по частоте встречаемости фактора осуществлялось с помощью критерия χ^2 Пирсона либо с помощью точного теста Фишера (при ожидаемых значениях в таблице сопряженности менее или равно 5).

Внутриутробные вмешательства, связанные с хирургическим прерыванием беременности либо с патологией эндометрия, несколько чаще отмечались у беременных с ЗРП (статистически незначимо). Таким образом, структура гинекологической патологии у пациенток в сравниваемых группах была сопоставима.

Соматическая заболеваемость была представлена хроническим пиелонефритом, заболеваниями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (хронический гастрит, хронический панкреатит, хронический холецистит,

язвенная болезнь 12-перстной кишки), хроническим тонзиллитом, гипотиреозом, миопией слабой и средней степени (таблица 6).

Таблица 6 – Особенности соматической заболеваемости у пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Характеристика пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
Хронический пиелонефрит	6 (10,2%)	3 (7,3%)	0,733
Хронические заболевания ЖКТ	5 (8,5%)	4 (9,8%)	1,0
Хронический тонзиллит	1 (1,7%)	2 (4,9%)	0,566
Гипотиреоз	0	1 (2,4%)	-
Миопия	11 (18,6%)	9 (22%)	0,879
Ожирение	12 (20,3%)	4 (9,8%)	0,178
Дефицит массы тела	2 (3,4%)	5 (12,2%)	0,119

Примечание: сравнение групп по частоте встречаемости фактора осуществлялось с помощью критерия χ^2 Пирсона либо с помощью точного теста Фишера (при ожидаемых значениях в таблице сопряженности менее или равно 5).

Отягощенность соматическими заболеваниями чаще имела место в группе с ЗРП, но статистически незначимо. Доля пациенток с исходным ожирением и с исходным дефицитом массы тела в анализируемых группах была сопоставима.

Таким образом, статистически значимых различий исходной клинико-анамнестической характеристики беременных, которые вошли в исследование, выявлено не было.

2.2 Течение беременности у женщин, вошедших в исследование

С целью поиска предикторов ЗРП был проведён анализ течения настоящей беременности у пациенток групп 1 и 2 (таблица 7).

При анализе течения настоящей беременности различий между беременными в группе с ЗРП и беременными с неосложнённым течением беременности выявлено не было. Наиболее часто у женщин, вошедших в исследование, отмечались эпизоды кровомазания на ранних сроках беременности

и проявления острой респираторной вирусной инфекции (катаральные симптомы, сопровождающиеся гипертермией или без неё). Частота раннего токсикоза (рвота беременных лёгкой и средней степени тяжести) и бактериального вагиноза во время беременности, требующего санации влагалища, была сопоставима в анализируемых группах.

Таблица 7 – Особенности течения настоящей беременности у пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Течение беременности у пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
ОРВИ во время беременности	19 (32,2%)	20 (48,8%)	0,143
Эпизоды кровомазания на ранних сроках беременности	8 (13,6%)	5 (12,2%)	1,0
Ранний токсикоз	11 (18,6%)	11 (26,8%)	0,468
Бактериальный вагиноз	3 (5,1%)	2 (4,9%)	1,0

Примечание: сравнение групп по частоте встречаемости фактора осуществлялось с помощью критерия χ^2 Пирсона либо с помощью точного теста Фишера (при ожидаемых значениях в таблице сопряженности менее или равно 5).

Низкий уровень плацентарных белков (свободная бета-субъединица хорионического гонадотропина человека (β -ХГЧ) и связанный с беременностью плазменный протеин А (РАРР-А)) является одним из наиболее обсуждаемых ранних предикторов ЗРП. У 75 беременных (42 основной и 33 контрольной группы) был выполнен в 11 недель – 13 недель 6 дней скрининг первого триместра, включающий ультразвуковое исследование, доплерометрию маточных артерий и биохимический скрининг с определением показателей β -ХГЧ и РАРР-А. Ещё 25 пациенток не выполнили генетический скрининг первого триместра в связи с поздней явкой на учёт в женскую консультацию.

Показатели β -ХГЧ, выраженные в МоМ, у женщин, вошедших в исследование, были сопоставимы, составив 1,2 (0,7; 2,0) МоМ у беременных с ЗРП и 1,0 (0,7; 1,2) МоМ у беременных в группе контроля ($p = 0,059$). Показатели РАРР-А же различались статистически значимо у пациенток группы 1 и группы 2,

составив 0,7 (0,4; 1,2) МоМ у женщин с ЗРП и 0,8 (0,5; 1,4) МоМ в группе контроля соответственно ($p = 0,010$).

С помощью ROC-анализа было определено пороговое значение PAPP-A (0,637 МоМ), при котором беременная имеет высокий риск развития ЗРП. Установлена чувствительность и специфичность для данного показателя (65,1% и 64%). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи риска ЗРП и PAPP-A, составила $0,689 \pm 0,063$ с 95%-ным ДИ: 0,565–0,814 (рисунок 2). Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,01$).

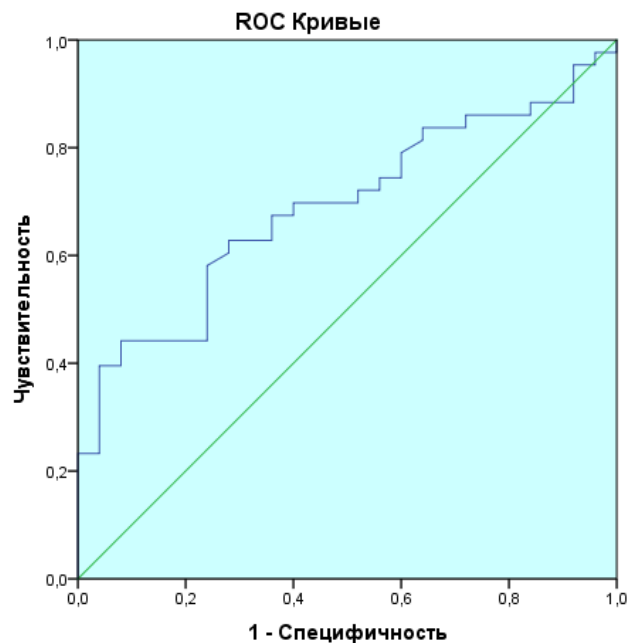


Рисунок 2 – ROC-анализ PAPP-A (МоМ) по данным биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней у беременных с ЗРП и в контрольной группе

Таким образом, при выявлении в биохимическом скрининге первого триместра у беременной значения PAPP-A менее 0,637 МоМ следует её отнести к группе высокого риска по развитию ЗРП.

Анализ результатов ультразвуковых и доплерометрических исследований скрининга первого триместра проведён по данным медицинской документации (протоколы УЗИ). Критерием нарушения маточно-плацентарного кровотока (НМПК) являлось повышение среднего по правой и левой маточным артериям пульсационного индекса более 95-го перцентиля для данного срока беременности.

В сроке 11 недель – 13 недель 6 дней из 42 пациенток основной группы НМПК было выявлено у одной пациентки (2,4%), из 33 пациенток контрольной группы – также у одной (3%). Статистически значимой разницы частоты НМПК между пациентками сравниваемых групп выявлено не было ($p = 1,0$).

В рамках ультразвукового скрининга второго триместра в 18–21 неделю беременности доплерометрия маточных артерий выполнена 53 беременным из группы 1 и 36 беременным из группы 2.

НМПК в 18–21 неделю статистически значимо чаще отмечено у пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ЗРП.

Из 53 женщин с ЗРП, которым была проведена доплерометрия маточных артерий в сроке 18–21 неделя беременности, НМПК отмечено у 35 пациенток (66%), в то время как в контрольной группе НМПК было обнаружено у трёх беременных из 36, что составило 8,3% ($p < 0,001$). Таким образом, НМПК в сроке 18–21 неделя беременности является значимым фактором риска ЗРП. Для данного фактора чувствительность составила 92,1%, специфичность – 74,7%. Итак, НМПК в сроке 18–21 неделя, по результатам настоящего исследования и в соответствии с литературными данными, более характерны для пациенток, чья беременность впоследствии осложнилась ЗРП. Шанс развития ЗРП у пациенток, имевших НМПК в 18–21 неделю беременности, выше в 21 раз по сравнению с беременными без НМПК. Статистический анализ выявил, что для этого фактора отношение шансов (ОШ) составило 21,39 при 95%-ном ДИ 5,76–79,39 на уровне статистической значимости $p < 0,001$.

Итак, исходная клиничко-анамнестическая характеристика и течение первого и второго триместров беременности у пациенток, которые вошли в настоящее исследование, были сопоставимы. Не было выявлено статистически значимой разницы между беременными основной и контрольной групп по возрасту, ростовесовым показателям, наличию особенностей питания или табакокурению, акушерскому анамнезу, структуре гинекологической и экстрагенитальной патологии, наличию в течение беременности угрозы прерывания, ОРВИ, раннего токсикоза, бактериального вагиноза.

При анализе результатов генетического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней было установлено, что для пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ранней ЗРП, характерным является более низкий уровень PAPP-A – менее 0,637 МоМ. Риск формирования ЗРП в сроке до 32 недель выше в 21 раз у пациенток, имевших НМПК в сроке 18–21 недель.

ГЛАВА 3 АНАЛИЗ ИСХОДОВ БЕРЕМЕННОСТИ В СООТВЕТСТВИИ С ПРОФИЛЕМ ПЛАЦЕНТА-СПЕЦИФИЧНЫХ МИКРОРНК В КРОВИ ПАЦИЕНТОК С ЗРП

3.1 Ультразвуковая и доплерометрическая характеристика беременных с ЗРП при включении их в исследование

Всем 59 беременным первой группы ЗРП была диагностирована при выполнении ультразвукового и доплерометрического исследования в рамках третьего скрининга в 30 недель – 31 неделю 6 дней в учреждениях первого и второго уровня Ростовской области. Для подтверждения диагноза в поликлинике ГБУ РО «ПЦ» выполнено ультразвуковое исследование, которое включало фетометрию и оценку анатомии плода, изучение локализации плаценты, доплерометрию маточных артерий, АП, венозного протока и средней мозговой артерии плода.

Построение перцентильных кривых для оценки соответствия размеров плода гестационному возрасту проводилось всем пациенткам при помощи ультразвуковых сканеров General Electric Voluson e6. У 37 беременных группы 1 (что составляет 62,7%) была выявлена выраженная ЗРП – менее первого процентиля от нормы по сроку гестации (у всех 37 – по окружности живота, и у 32 из них – ещё и по предполагаемой массе плода). Оценка количества околоплодных вод выполнялась путём измерения индекса амниотической жидкости (ИАЖ) и/или определения максимального вертикального кармана (МВК). Маловодие было диагностировано при ИАЖ менее 9 см (в 30 недель) или 8 см (в 31 неделю) либо при МВК менее 2 см. Маловодие было выявлено у 33 женщин с ЗРП (55,9%), при этом ни у одной пациентки беременность не осложнилась преждевременным разрывом плодных оболочек, что позволяет говорить о том, что маловодие у пациенток, взятых в исследование, ассоциировано именно с плацентарными нарушениями.

Особый интерес в проведённой работе представлял анализ результатов ультразвуковой доплерографии маточно-плацентарного и фетоплацентарного кровотока (ФПК) у пациенток, включенных в исследование.

Критерием НМПК являлось повышение среднего по правой и левой маточным артериям пульсационного индекса более 95-го перцентиля для данного срока беременности. НМПК отмечено у 50 из 59 человек (84,7%), в контрольной группе НМПК было обнаружено у 4 беременных из 41, что составило 9,8% ($p < 0,001$).

При анализе показателей ФПК по данным доплерометрии были получены следующие результаты:

– повышение пульсационного индекса в АП более 95-го перцентиля при сохранном диастолическом компоненте (отсутствие критических нарушений ФПК) отмечено у 36 беременных (61%) в группе 1 (беременные с ЗРП);

– нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке отмечен у шести беременных (10,2%) в группе 1;

– реверсный конечно-диастолический кровоток в венозном протоке был у двух беременных в группе 1 (3,4% от всей группы пациенток с ЗРП);

– в пределах нормы показатели ФПК были у 15 беременных в группе 1 (25,4%).

Состояние гемодинамики оценивалось по наиболее тяжёлым нарушениям ФПК: так, при наличии нулевого конечно-диастолического кровотока в АП, но при этом ортоградного – в венозном протоке, женщины были отнесены к категории нулевого конечно-диастолического кровотока в АП; а при реверсном конечно-диастолическом кровотоке в АП, сопровождавшемся реверсным кровотоком в венозном протоке, – к категории реверсного кровотока в венозном протоке.

Таким образом, у 62,7% беременных 1-й группы была выявлена выраженная ЗРП с ПМП и/или ОЖ плода по данным УЗИ менее одного перцентиля для данного срока гестации. У 55,9% беременных с ЗРП отмечено маловодие. У 84,7% беременных с ЗРП отмечено НМПК. У 74,6% беременных с ЗРП выявлены

нарушения ФПК, при этом у 13,6% отмечены критические расстройства плодово-плацентарного кровотока (нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке или реверсный конечно-диастолический кровоток в венозном протоке).

3.2 Тактика ведения беременности и родов у пациенток с ЗРП

Все пациентки были госпитализированы в ГБУ РО «ПЦ».

Неотложное родоразрешение (менее чем через 6 часов) от момента поступления проведено 12 пациенткам (20,3%).

Показанием для экстренного родоразрешения послужили:

– нарушения ФПК у четырёх беременных (у трёх беременных нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке и у одной беременной реверсный конечно-диастолический кровоток в венозном протоке);

– преэклампсия тяжёлой степени у четырёх пациенток;

– сочетание преэклампсии тяжелой степени с нарушениями ФПК у четырёх беременных (у трёх – нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке, у одной – реверсный конечно-диастолический кровоток в венозном протоке).

Продолжительность пролонгирования беременности после постановки диагноза ЗРП у 59 пациенток 1-й группы составила от 0 до 24 дней (10,4 (3,4; 16,7) дня), включая 12 пациенток, родоразрешённых в течение шести часов от поступления в стационар ГБУ РО «ПЦ».

Отсроченное родоразрешение проведено 47 беременным (80%) с ЗРП.

Отсроченное родоразрешение позволило провести или, по крайней мере, начать профилактику незрелости лёгких плода, учитывая высокий риск развития респираторного дистресс-синдрома у маловесного ребёнка, рождённого ранее 34

недель гестации. Профилактика респираторного дистресс-синдрома плода проведена курсом дексаметазона внутримышечно. Препарат вводился в дозе 8 мг внутримышечно трижды с интервалом 8 часов, суммарная доза 24 мг, завершённой считалась профилактика при последующей экспозиции в течение 24 часов до родоразрешения. У 6 из 47 пациенток (12,8%) завершить профилактику РДС не удалось в связи с появлением показаний для экстренного родоразрешения (у пяти – тяжёлая преэклампсия, у одной – патологический тип кривой КТГ в сочетании с ретроградным конечно-диастолическим кровотоком в АП). 41 пациентка (87,2%) получила полный курс профилактики РДС плода.

Показания для родоразрешения беременных с ЗРП определялись индивидуально при проведении междисциплинарного перинатального консилиума, поскольку утверждённого Министерством здравоохранения РФ алгоритма или регламента по данной акушерской ситуации на момент проведения настоящего исследования не было.

У 13 пациенток с ЗРП (27,7%) из 47 пациенток 1-й группы с отложенным родоразрешением развилась клиническая картина преэклампсии тяжёлой степени, что явилось основным показанием для родоразрешения.

У 7 пациенток (14,9%) из 47 пациенток 1-й группы с отложенным родоразрешением показанием для родоразрешения послужил патологический тип кривой КТГ (в шести наблюдениях – монотонный тип кривой с показателем кратковременной вариабельности (STV) менее 3,5 мс, у одной беременной – появление спонтанных глубоких вариабельных децелераций, три-четыре за 10 минут записи КТГ).

У 8 пациенток (17%) из 47 пациенток 1-й группы с отложенным родоразрешением показаниями к родоразрешению были критические расстройства фетоплацентарного кровотока.

У 19 пациенток (40,4%) из 47 пациенток 1-й группы с отложенным родоразрешением показания к родоразрешению были сочетанными (патологический тип кривой КТГ в сочетании с НФПК при отсутствии критических нарушений).

Исходы беременности у включенных в исследование женщин представлены в таблице 8. Все беременные с ЗРП были родоразрешены преждевременно, в среднем в 32,4 (30,9; 33,7) недели беременности (Me (Q1; Q3)), в 53 наблюдениях выполнено оперативное родоразрешение путём кесарева сечения (89,8%).

Таблица 8 – Исходы родов у пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Характеристика исхода беременности и родов	Группа 1 – ЗРП (n = 59)	Группа 2 – контроль (n = 41)	Уровень значимости (p)
Средний срок родов, недель (Me (Q1; Q3))	32,4 (30,9; 34,7)	39,3 (38,4; 40,2)	< 0,001
Способ родоразрешения – кесарево сечение	53 (89,8%)	8 (19,5%)	< 0,001
Апгар 1-я минута, баллы (Me (Q1; Q3))	6,0 (6,0; 7,0)	9,0 (8,0; 9,0)	< 0,001
Апгар 5-я минута, баллы (Me (Q1; Q3))	6,0 (6,0; 7,0)	9,0 (9,0; 10,0)	< 0,001
Длительность пребывания в ОРИТН, дней (Me (Q1; Q3))	14,0 (6,0; 26,0)	0	–
Масса тела новорождённого, грамм (Me (Q1; Q3))	1255 (1092,5; 1465)	3400 (3015; 3610)	< 0,001
Мертворождение	0	0	–
Ранняя неонатальная гибель плода	0	0	–
Неонатальная гибель, %	5 (8,5%)	0	–
Продолжительность жизни при неонатальной гибели, дней (Me (Q1; Q3))	21 (13; 25)	0	–

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни, по частоте встречаемости фактора – с помощью критерия χ^2 Пирсона.

У шести женщин (10,2%) проводилось родоразрешение через естественные родовые пути. Все эти пациентки были повторнородящими, при оценке готовности шейки матки к родам по шкале Бишоп шейка матки была расценена как зрелая – оценка более 9 баллов. Во всех шести случаях выполнялась индукция родов путём амниотомии, которая завершилась родами через естественные родовые пути. Обязательным условием проведения родов через естественные родовые пути было отсутствие критических нарушений ФПК и ведение родов на фоне непрерывного КТГ-мониторинга.

Послеродовой период у наблюдаемых пациенток протекал неосложнённо. Статистически значимых различий при анализе исходов для детей, рождённых путём кесарева сечения или через естественные родовые пути, выявлено не было

($p > 0,05$ для таких показателей, как оценка по шкале Апгар на 1-й и 5-й минуте, длительность пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии новорождённых, мертворождение, неонатальная гибель плода).

Оценка новорождённых, перенесших ЗРП, по шкале Апгар на 1-й минуте составила 6,0 (6,0; 7,0) баллов, на 5-й минуте также 6,0 (6,0; 7,0) баллов, масса тела при рождении – 1255 (1092,5; 1465) грамм. Длительность пребывания детей в отделении реанимации и интенсивной терапии новорождённых составила 14,0 (6,0; 26,0) дней.

Анализ неблагоприятных исходов для новорождённых показал, что в группе ЗРП не было выявлено анте- или интранатальной, а также ранней неонатальной гибели плода. Пять детей (8,5%) умерли в неонатальном периоде, продолжительность жизни при неонатальной гибели составила 21 (13; 25) день.

С целью поиска предиктора неблагоприятного исхода для детей, рождённых с ЗРП, был проведён корреляционный анализ для материнских факторов: возраст пациентки, исходный ИМТ, особенности акушерско-гинекологического анамнеза, течения беременности, данные генетического скрининга в 12 недель, характеристики ультразвукового и доплерометрического исследования, срок и способ родоразрешения, а также масса новорождённого (таблица 9).

Для таких факторов, как ПМП или ОЖ плода к моменту родоразрешения, для проведения корреляционного анализа выполнено ранжирование по наиболее клинически значимым точкам отсечки:

- 0 – ПМП/ОЖ более 10-го перцентиля;
- 1 – ПМП/ОЖ от 3 до 9,9 перцентиля;
- 2 – ПМП/ОЖ от 1 до 2,9 перцентиля;
- 3 – ПМП/ОЖ менее 1-го перцентиля.

При оценке такого фактора, как степень нарушений ФПК, также выполнялось ранжирование:

- 0 – отсутствие нарушений ФПК;
- 1 – отсутствие критических нарушений ФПК (изолированное выявление повышения ПИ в АП более 95-го перцентиля);

- 2 – нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке;
- 3 – ретроградный конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке;
- 4 – ретроградный кровоток в венозном протоке (реверсная α -волна).

Таблица 9 – Корреляционный анализ неблагоприятного исхода (неонатальная смерть) и факторов, связанных с анамнезом, течением беременности и родов, ультразвуковыми и доплерометрическими характеристиками у пациенток с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Показатель, характеризующий пациенток с ЗРП	Коэффициент корреляции	Уровень значимости (p)
Возраст, лет	-0,133	0,316
Исходный ИМТ, кг/м ²	-0,077	0,563
Первая беременность (да/нет)	0,076	0,565
Самопроизвольный аборт или неразвивающаяся беременность в анамнезе (да/нет)	-0,129	0,33
Преждевременные роды в анамнезе (да/нет)	-0,102	0,44
Бесплодие в анамнезе (да/нет)	-0,129	0,33
ОРВИ во время беременности (да/нет)	-0,069	0,601
Эпизоды кровомазания на ранних сроках беременности (да/нет)	0,131	0,322
β -ХГЧ по данным ген. скрининга первого триместра, МоМ	0,094	0,551
РАРР-А по данным генетического скрининга первого триместра, МоМ	-0,386	0,011
Преэклампсия (да/нет)	-0,198	0,132
НМПК в 11 недель – 13 недель 6 дней (да/нет)	-0,051	0,75
НМПК в 19–21 неделю (да/нет)	-0,014	0,922
НМПК в 30–32 недели (да/нет)	0,172	0,204
Отставание ПМП, центили	-0,109	0,416
Отставание ОЖ, центили	-0,024	0,857
Маловодие (да/нет)	0,025	0,851
Степень нарушений фетоплацентарного кровотока к моменту родов	0,361	0,005
Продолжительность пролонгирования беременности после выявления ЗРП, суток	0,157	0,242
Проведение профилактики РДС плода (да/нет)	0,015	0,911
Срок родоразрешения, недель	0,041	0,696
Кесарево сечение (да/нет)	-0,265	0,053
Масса новорождённого, г	-0,168	0,203

Примечание: корреляционный анализ проведён с определением коэффициента корреляции Спирмена.

Статистически значимые результаты были получены для двух факторов, связанных с течением беременности: показатель PAPP-A (в МоМ), определённый во время генетического скрининга в первом триместре (слабая обратная связь ($r = -0,386$, $p = 0,011$)), и степень нарушений ФПК (слабая прямая связь ($r = 0,361$, $p = 0,005$)).

Таким образом, установлена корреляционная взаимосвязь неонатальной смерти ребёнка, имеющего ЗРП, с низким значением PAPP-A в биохимическом скрининге первого триместра и критическими расстройствами фетоплацентарного кровотока на момент родоразрешения.

С помощью ROC-анализа было определено пороговое значение PAPP-A (0,258 МоМ), позволяющее отнести беременную с ЗРП к группе риска по неблагоприятному исходу для новорождённого и установить чувствительность и специфичность для данного показателя (86,8% и 60%). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза неблагоприятного исхода для новорождённого и PAPP-A, определённому в 11 недель – 13 недель 6 дней у матери, составила $0,847 \pm 0,064$ с 95%-ным ДИ: 0,723–0,972 (рисунок 3).

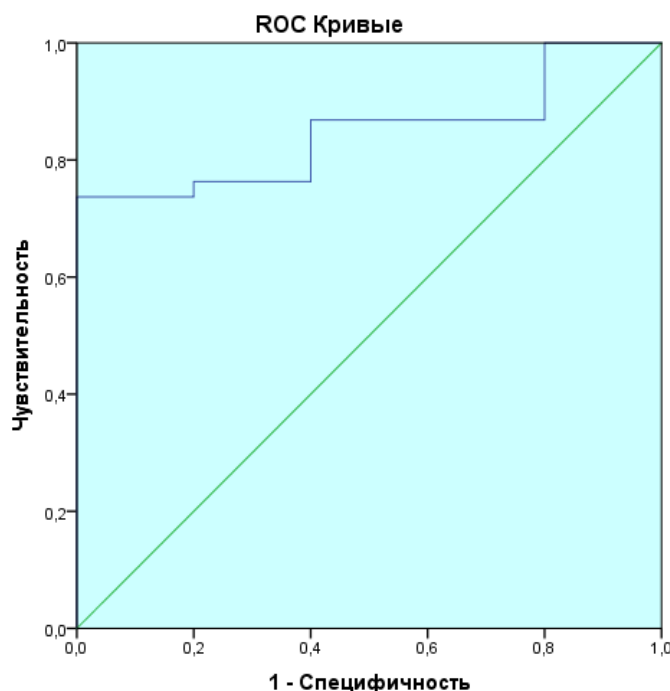


Рисунок 3 – ROC-анализ PAPP-A (МоМ) по данным генетического скрининга первого триместра беременных с ЗРП в зависимости от исхода для новорождённого (смерть в неонатальном периоде)

Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,012$). Таким образом, при выявлении в биохимическом скрининге первого триместра у беременной значения PAPP-A менее 0,258 МоМ следует её отнести к группе высокого риска по развитию ЗРП с неблагоприятным исходом для новорождённого. Взаимосвязей между иными факторами, приведёнными в таблице 10, и смертностью новорождённых выявлено не было ($p > 0,05$).

При анализе неонатальной смертности у беременных с различной степенью нарушений ФПК выявлено повышение доли умерших в первые 28 суток жизни детей у беременных с критическими нарушениями плодово-плацентарного кровотока (таблица 10).

Таблица 10 – Исходы для новорождённых в зависимости от нарушений фетоплацентарного кровотока у пациенток с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Допплерометрия маточных артерий у пациенток, вошедших в исследование	Группа 1 – ЗРП ($n = 59$)	Неонатальная смерть, %
Нарушений кровотока нет	15	0
Отсутствие критических нарушений ФПК (изолированное выявление повышения ПИ в АП более 95‰)	28	1 (3,6%)
Нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке	8	1 (12,5%)
Ретроградный конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке	6	2 (33,3%)
Ретроградный кровоток в венозном протоке	2	1 (50%)

Среди беременных, не имевших к моменту родов критических нарушений ФПК, смерть в неонатальном периоде отмечена всего в одном наблюдении из 43 (2,3%). При более же выраженных нарушениях ФПК показатель неонатальных потерь составил 25% (четыре ребёнка из 16).

Так, один новорождённый умер у женщины, у которой регистрировался нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке (12,5% – 1 из 8 человек с нарушениями данной степени), два ребёнка – у пациенток с реверсным конечно-диастолическим кровотоком в АП

при ортоградном кровотоке в венозном протоке (33,3% – 2 из 6 детей), один новорождённый – у пациентки с реверсным кровотоком в венозном протоке (50%).

Результаты проведённого анализа показали, что при родоразрешении беременных с ЗРП, имевших критические расстройства фетоплацентарного кровотока, вероятность смерти новорождённых в первые 28 суток жизни повышается в 14 раз по сравнению с беременными с ЗРП, не имевшими критических нарушений ФПК, ОШ = 14,0, 95%-ный ДИ [1,427–137,324], Se – 80%, Sp – 77,8%. Полученная модель является статистически значимой ($p = 0,017$).

3.3 Экспрессия плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП и контрольной группе

Учитывая значительный вклад критических расстройств фетоплацентарного кровотока в исход для новорождённого, с целью предикции ухудшения внутриутробного состояния плода необходимо изучение молекулярно-генетических механизмов формирования данного осложнения беременности и поиск точного и эффективного предиктора.

Всем женщинам, включенным в исследование, в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней был выполнен анализ крови с помощью ПЦР в режиме реального времени на определение экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК: микроРНК-10b-5p, микроРНК-103a-3p, микроРНК-122-5p, микроРНК-141-3p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-125b-5p, микроРНК-145-5p, микроРНК-205-5p, микроРНК-517-5p, микроРНК-525-5p, микроРНК-210-3p, микроРНК-424-5p, микроРНК-363-3p, микроРНК-373-3p, микроРНК-499-5p, микроРНК-516b-5p. Данные микроРНК были выбраны для анализа у беременных с ЗРП и в контрольной группе в связи с тем, что, по данным научных исследований, приведённым в главе 1, они имеют

плацентарное происхождение и могут отражать плацентарную функцию, влияя на экспрессию соответствующих генов.

В таблице 11 представлена экспрессия микроРНК в крови у беременных с ЗРП и с нормально протекающей беременностью, определенная в показателе C_t (англ. threshold cycle – пороговый цикл). C_t – показатель, обратно пропорциональный количеству микроРНК в образце крови. Уровень экспрессии микроРНК оценивали методом количественной ПЦР в реальном времени с последующим расчётом относительной экспрессии микроРНК с использованием метода дельта-дельта C_t ($\Delta\Delta C_t$). Для нормализации экспрессии микроРНК использовали среднее значение C_t малой ядерной РНК RNU6-6p. Значимость различий оценивали с помощью критерия Манна–Уитни.

Таблица 11 – Экспрессия плацента-специфичных микроРНК в крови пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

МикроРНК	C_t в группе 1 – ЗРП ($n = 59$) (Me (Q1; Q3))	C_t в группе 2 – контроль ($n = 41$) (Me (Q1; Q3))	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5p	45 (45; 45)	45 (42,2; 45)	0,517
МикроРНК-103a-3p	37,7 (35; 45)	31,5 (27,3; 33)	0,001
МикроРНК-122-5p	37,1 (36,1; 37,8)	37,3 (36,7; 45,4)	0,218
МикроРНК-141-3p	45 (39,5; 45)	45 (45; 45)	0,407
МикроРНК-26a-5p	39,7 (36; 45)	31,8 (27,5; 33,7)	<0,001
МикроРНК-125b-5p	45 (36; 45)	36,3 (32,9; 38,4)	0,04
МикроРНК-205-5p	45 (41,2; 45)	45 (37,1; 45)	0,472
МикроРНК-517-5p	24,9 (18; 31,5)	34,2 (13,4; 37,8)	0,641
МикроРНК-525-5p	27,8 (22,5; 34,6)	28,9 (19,6; 37,9)	0,747
МикроРНК-210-3p	4 (37,8; 45)	35,9 (33,5; 45)	0,247
МикроРНК-424-5p	45 (45; 45)	45 (36,4; 45)	0,247
МикроРНК-363-3p	37,2 (36,1; 45)	36,1 (31,6; 37,7)	0,101
МикроРНК-373-3p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,774
МикроРНК-499-5p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,517
МикроРНК-516b-5p	37,2 (35,8; 38)	37,1 (36,9; 39,2)	0,747
МикроРНК-145-5p	45 (45; 45)	41,2 (36,6; 45)	0,061

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни.

Проведённый анализ уровня экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови у беременных обеих групп в сроки 30 недель – 31 неделя 6 дней выявил различия между беременными с ЗРП и в контрольной группе. Так, у беременных с

ЗРП концентрация в крови трёх микроРНК: микроРНК-103а-3р ($p = 0,001$), микроРНК-26а-5р ($p < 0,001$) и микроРНК-125b-5р ($p = 0,04$) – была статистически значимо ниже по сравнению с беременными в контрольной группе (см. таблицу 11).

Для микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р был проведён ROC-анализ и определены пороговые значения экспрессии (cut-off value), позволяющие получить оптимальный уровень чувствительности и специфичности (рисунок 4). Использование пороговых уровней экспрессии позволяет повысить предсказательную ценность микроРНК в отношении прогноза ЗРП.

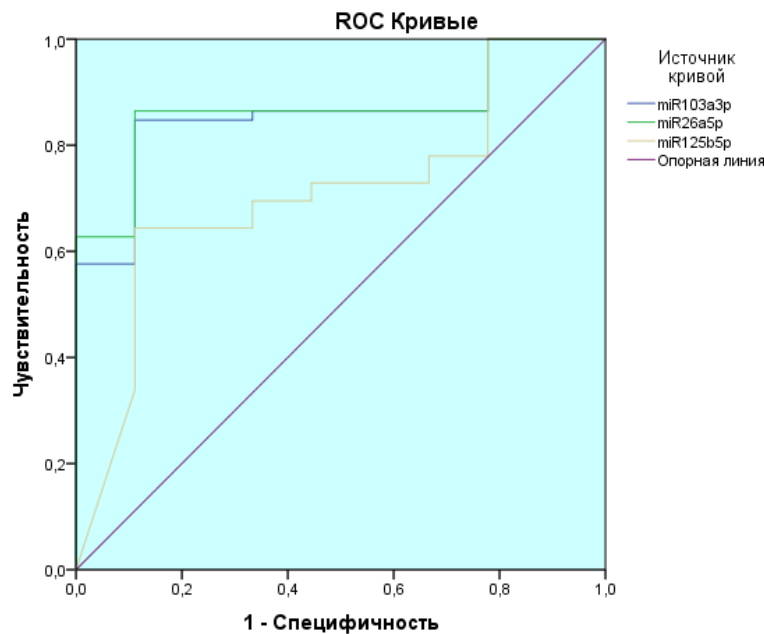


Рисунок 4 – ROC-анализ экспрессии (Ct) плацента-специфичных микроРНК в крови пациенток с ЗРП и в контрольной группе в 30 недель – 31 неделю 6 дней

Пороговое значение экспрессии микроРНК (Ct) в точке cut-off для микроРНК-103а-3р составило 33,4 – это уровень Ct, обладающий наибольшей предсказательной ценностью, при использовании которого показатели чувствительности и специфичности наиболее высоки. Площадь под ROC-кривой (AUC), соответствующей взаимосвязи прогноза ЗРП и экспрессии микроРНК-103а-3р в крови беременной (Ct), составила $0,859 \pm 0,052$ (95%-ный ДИ 0,757–0,961). Для микроРНК-26а-5р значение Ct в точке cut-off составило 34,6, AUC –

$0,868 \pm 0,049$ (95%-ный ДИ $0,773-0,963$). Пороговое значение St для микроРНК-125b-5p равно 37,7, AUC – $0,710 \pm 0,087$ (95%-ный ДИ $0,539-0,881$).

С использованием метода логистического регрессионного анализа был проведён расчёт отношения шансов для микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p, который показывает, насколько конкретно повышается риск развития ЗРП при повышении показателя St .

Так, при превышении St на одну единицу более 33,4 для микроРНК-103a-3p беременная должна быть отнесена к группе риска по развитию ЗРП: шанс формирования ЗРП возрастает в 1,25 раза (ОШ = 1,25). Чувствительность этого фактора составила 84,7%, а специфичность – 88,9%. Для микроРНК-26a-5p ОШ составило 1,26 на уровне чувствительности 86,4% и специфичности 88,9%. При превышении St микроРНК-125b-5p более 34,6 шанс развития ЗРП увеличивается в 1,21 раза (ОШ = 1,21) с чувствительностью 69,5% и специфичностью 66,7%.

С использованием баз данных miRBase, miRTarBase и MiREDiBase были установлены потенциальные гены-мишени для плацентарной ткани, посредством влияния на которые может реализоваться развитие ЗРП. В числе генов-мишеней микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p – последовательности ДНК, которые кодируют белковые молекулы биологически активных веществ, вовлечённых в ангиогенез, регуляцию клеточного цикла, реактивность эндотелия, вазодилатацию, вазоконстрикцию, антиоксидантную систему, тромбообразование и другие биологические процессы.

Для микроРНК-125b-5p целевыми генами являются EDN1 (кодирующий эндотелин-1), PlGF (кодирующий плацентарный фактор роста), TNFAIP3 (кодирующий фактор некроза опухолей, альфа-индуцированный белок 3) и др.

Для микроРНК-26a-5p целевыми генами являются NOS2 (кодирующий синтазу оксида азота), ADAM17 (кодирующий металлопротеазу семейства ADAM), MAP3K2 (кодирующий протеинкиназу семейства MAP3K) и др.

Для микроРНК-103a-3p целевыми генами являются SERPINB5 (кодирующий ингибитор B5 сериновой протеазы), ITGA2 (кодирующий белок интегрин альфа-2 – мембранный гликопротеин) и др.

Полученные в исследовании данные об изменении уровня экспрессии микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р, микроРНК-125b-5р в крови у беременных с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней позволяют предположить их значимость в регуляции ангиогенеза, клеточного цикла, вазодилатации и вазоконстрикции, антиоксидантной системы, тромбообразования и патогенеза ЗРП.

3.4 Сравнительный анализ профиля плацента-специфичных микроРНК в крови у женщин с ЗРП в зависимости от исхода беременности

Для определения взаимосвязи между профилем плацента-специфичных микроРНК в крови и прогнозом для новорождённых был проведён сравнительный анализ экспрессии микроРНК у беременных с ЗРП, чьи дети после рождения умерли, и беременных с ЗРП, чьи дети выжили (таблица 12).

Таблица 12 – Экспрессия плацента-специфичных микроРНК (Ст) в крови пациенток с ЗРП в зависимости от исхода для новорождённого (смерть в неонатальном периоде)

МикроРНК	Умершие новорождённые (n = 5) (Me (Q1; Q3))	Выжившие новорождённые (n = 54) (Me (Q1; Q3))	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,702
МикроРНК-103а-3р	45 (38,1; 45)	38,7 (34,4; 45)	0,056
МикроРНК-122-5р	36,7 (36; 38,1)	37,1 (36,1; 37,8)	0,968
МикроРНК-141-3р	45 (45; 45)	45 (39,4; 45)	0,256
МикроРНК-26а-5р	45 (38,9; 45)	38,2 (35,6; 45)	0,193
МикроРНК-125b-5р	45 (44; 45)	40,1 (35,8; 45)	0,021
МикроРНК-205-5р	45 (45; 45)	45 (39,4; 45)	0,292
МикроРНК-517-5р	28 (21; 36,5)	24,9 (17,5; 32,1)	0,551
МикроРНК-525-5р	27,9 (11,9; 34,9)	27,8 (22,5; 34,6)	0,721
МикроРНК-210-3р	45 (45; 45)	45 (37,5; 45)	0,12
МикроРНК-424-5р	45 (45; 45)	45 (39,4; 45)	0,359
МикроРНК-363-3р	45 (41,1; 45)	36,8 (34,8; 45)	0,064
МикроРНК-373-3р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,906
МикроРНК-499-5р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,466
МикроРНК-516b-5р	37,7 (35,8; 38)	37,1 (36; 37,8)	0,885
МикроРНК-145-5р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,516

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни.

Выявлено статистически значимое различие уровня экспрессии микроРНК-125b-5p в крови у беременных с ЗРП, чьи дети умерли в течение 28 дней после рождения, в сравнении с контрольной группой. Для уточнения статистической значимости экспрессии микроРНК в отношении неблагоприятного исхода для детей, рождённых с ЗРП, был также проведён корреляционный анализ (таблица 13).

Таблица 13 – Корреляционный анализ неблагоприятного исхода (неонатальная смерть) и показателя экспрессии микроРНК в крови (St)

МикроРНК	Коэффициент корреляции	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5p	-0,066	0,619
МикроРНК-103a-3p	-0,049	0,714
МикроРНК-122-5p	0,066	0,618
МикроРНК-141-3p	-0,099	0,457
МикроРНК-26a-5p	0,029	0,825
МикроРНК-125b-5p	0,326	0,012
МикроРНК-205-5p	-0,091	0,491
МикроРНК-517-5p	-0,048	0,716
МикроРНК-525-5p	0,161	0,223
МикроРНК-210-3p	-0,235	0,074
МикроРНК-424-5p	-0,072	0,588
МикроРНК-363-3p	-0,189	0,153
МикроРНК-373-3p	-0,035	0,795
МикроРНК-499-5p	0,129	0,332
МикроРНК-516b-5p	0,038	0,776
МикроРНК-145-5p	-0,1	0,449

Примечание: корреляционный анализ проведён с определением коэффициента корреляции Спирмена.

Статистически значимая корреляция была выявлена между смертью в неонатальном периоде и экспрессией микроРНК-125b-5p (слабая прямая связь, $r = 0,326$, $p = 0,012$).

С помощью ROC-анализа было определено пороговое значение St микроРНК-125b-5p в крови (43,1 единицы), позволяющее отнести беременную с ЗРП к группе риска по неонатальной потере и установить чувствительность и специфичность для данного показателя (80% и 66,7%). Площадь под ROC-кривой, соответствующей взаимосвязи прогноза неонатальной гибели и St микроРНК-

125b-5p, составила $0,807 \pm 0,068$ с 95%-ным ДИ: 0,675–0,940 (рисунок 5). Полученная модель была статистически значимой ($p = 0,024$).

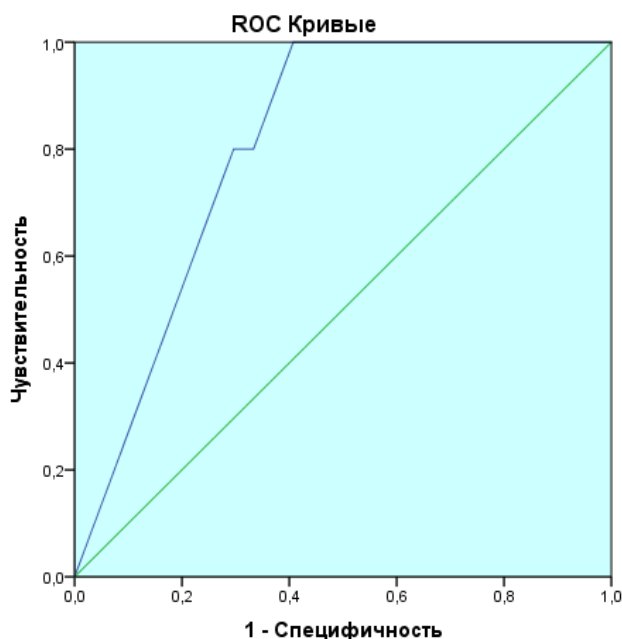


Рисунок 5 – ROC-анализ экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и риска смерти в неонатальном периоде

Таким образом, предикторами неблагоприятных исходов для новорождённых, перенесших ЗРП, являются критические расстройства фетоплацентарного кровотока, которые повышают риск неонатальной смерти в 14 раз. Сниженный показатель PAPP-A по данным генетического скрининга первого триместра матери менее 0,258 МоМ и низкая экспрессия микроРНК-125b-5p (St более 43,1) в сроке беременности 30 недель – 31 неделя 6 дней также являются предикторами смерти ребёнка в неонатальном периоде. Экспрессия микроРНК-125b-5p коррелирует со степенью нарушений ФПК, показывая минимальную величину экспрессии (медиана St = 45) при реверсном кровотоке в венозном протоке плода.

ГЛАВА 4 ВЗАИМОСВЯЗЬ ПРОФИЛЯ ПЛАЦЕНТА-СПЕЦИФИЧНЫХ МИКРОРНК И СТЕПЕНИ НАРУШЕНИЙ ФЕТОПЛАЦЕНТАРНОГО КРОВОТОКА

4.1 Сравнительная характеристика экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП с различными нарушениями фетоплацентарного кровотока

Поскольку критические расстройства плодово-плацентарного кровотока являются важнейшим фактором риска неблагоприятного исхода для новорождённых (повышают вероятность неонатальной потери в 14 раз), было принято решение определить предикторы развития критических нарушений ФПК.

Восьми беременным, не имевшим на момент взятия в исследование критических расстройств фетоплацентарного кровотока, а в последующем – развитие критических нарушений ФПК, был выполнен повторный забор крови на определение экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК. Результаты сравнительного анализа профиля исследуемых микроРНК у пациенток до и после развития критических нарушений ФПК представлены в таблице 14.

Проведение сравнения с помощью критерия Краскелла–Уоллиса показало, что уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП статистически значимо снизился ($p = 0,034$) при появлении критических нарушений ФПК, достигнув минимальных значений при ретроградном конечно-диастолическом кровотоке в АП.

Таблица 14 – Экспрессия плацента-специфичных микроРНК (Ст) в крови пациенток с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней, чьи показатели фетоплацентарного кровотока ухудшились в ходе наблюдения

МикроРНК	Исходно отсутствие критических расстройств ФПК (n = 8) (Me (Q1; Q3))	Нулевой конечно-диастолический кровоток в АП (n = 2) (Me (Q1; Q3))	Ретроградный конечно-диастолический кровоток в АП (n = 6) (Me (Q1; Q3))	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (45; 45)	1,0
МикроРНК-103a-3p	36,7 (33,2; 43,4)	–	41,7 (38,9; 44,3)	0,328
МикроРНК-122-5p	36,2 (35,9; 39,1)	36,4 (35,4; –)	37,3 (36,1; 38,1)	0,633
МикроРНК-141-3p	45 (45; 45)	42,2 (39,5; –)	45 (43,6; 45)	0,507
МикроРНК-26a-5p	45 (40,6; 45)	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,344
МикроРНК-125b-5p	36,8 (36,5; 39,1)	38,4 (36,2; –)	45 (45; 45)	0,034
МикроРНК-205-5p	45 (40,3; 45)	41,3 (37,6; –)	45 (45; 45)	0,184
МикроРНК-517-5p	24,9 (40,3; 45)	29,4 (28,9; –)	24,3 (9,9; 29,7)	0,484
МикроРНК-525-5p	28,2 (18,9; 35,7)	38,3 (31,6; –)	34,9 (26,8; 45)	0,311
МикроРНК-210-3p	42 (38; 45)	43 (40,9; –)	45 (38,3; 45)	0,782
МикроРНК-424-5p	45 (40; 45)	38,9 (32,7; –)	45 (45; 45)	0,184
МикроРНК-363-3p	37,2 (35,5; 45)	36,3 (36,1; –)	38,3 (36,4; 45)	0,448
МикроРНК-373-3p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (43,4; 45)	0,435
МикроРНК-499-5p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (39,3; 45)	0,419
МикроРНК-516b-5p	36,7 (35,8; 38,4)	41 (37; –)	41,5 (37,2; 45)	0,278
МикроРНК-145-5p	45 (39; 45)	31,6 (37; –)	45 (39,3; 45)	0,06

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью критерия Краскелла–Уоллиса.

Для определения взаимосвязи между профилем плацента-специфичных микроРНК в крови и степенью нарушений ФПК при ЗРП был проведён сравнительный анализ экспрессии микроРНК у беременных без нарушений ФПК, с отсутствием критических расстройств ФПК (изолированное повышение ПИ в АП более 95-го перцентиля) и у беременных с критическими расстройствами фетоплацентарного кровотока (таблица 15). При этом пациентки (восемь человек), чей ФПК ухудшился в ходе исследования, были отнесены к беременным с критическими нарушениями ФПК.

Таблица 15 – Анализ профиля плацента-специфичных микроРНК в крови и степени нарушений фетоплацентарного кровотока у пациенток с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней

МикроРНК	Нарушений гемодинамики нет ($n = 15$)	Отсутствие критических расстройств ФПК (изолированное ПИ в АП более 95%) ($n = 28$)	Критические расстройства фетоплацентарного кровотока ($n = 16$)	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,193
МикроРНК-103a-3p	37,6 (28,3; 39,2)	38,5 (36,1; 45)	37,8 (33,4; 38,4)	0,297
МикроРНК-122-5p	36,9 (36; 37,8)	37,1 (36,1; 39,2)	37 (36,1; 37,3)	0,742
МикроРНК-141-3p	45 (39,4; 45)	45 (45; 45)	45 (35,4; 45)	0,39
МикроРНК-26a-5p	37,2 (29; 45)	45 (36,5; 45)	38 (35,6; 39,7)	0,243
МикроРНК-125b-5p	37,3 (33,9; 42,5)	40,2 (35,1; 44,5)	45 (42,3; 45)	0,007
МикроРНК-205-5p	45 (41,2; 45)	45 (45; 45)	45 (38,5; 45)	0,97
МикроРНК-517-5p	27,7 (23,4; 34,9)	21,8 (16,6; 28,9)	23 (9,9; 40,7)	0,302
МикроРНК-525-5p	32,9 (27,8; 34,6)	23,3 (21,8; 37,3)	23 (16,1; 30,8)	0,093
МикроРНК-210-3p	39,1 (37; 45)	45 (37,9; 45)	45 (33,4; 45)	0,415
МикроРНК-424-5p	45 (38,5; 45)	45 (45; 45)	45 (36; 45)	0,177
МикроРНК-363-3p	36,4 (33,3; 45)	39 (36,2; 45)	37,2 (31,2; 45)	0,359
МикроРНК-373-3p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,051
МикроРНК-499-5p	45 (45; 45)	45 (45; 45)	45 (38,1; 45)	0,132
МикроРНК-516b-5p	37,1 (36; 37,7)	37,2 (36,7; 43,2)	35,8 (34,5; 38)	0,194
МикроРНК-145-5p	45 (35,3; 45)	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,098

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью критерия Краскелла–Уоллиса.

Проведение межгруппового сравнения с помощью критерия Краскелла–Уоллиса показало, что уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП был статистически значимо ниже ($p = 0,007$) в группах с нарушениями ФПК, показав минимальные значения при критических расстройствах плодово-плацентарного кровотока (рисунок 6). Это та же микроРНК, экспрессия которой ниже у беременных, у которых новорождённые умерли.

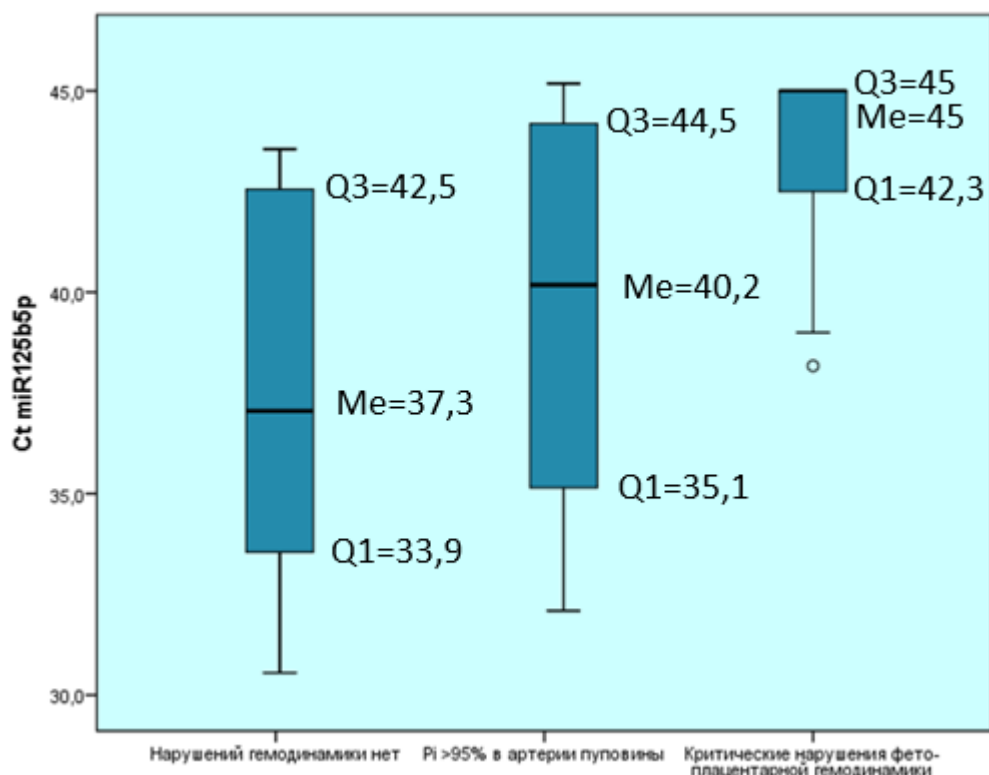


Рисунок 6 – Диаграмма размаха экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) в крови пациенток с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней, имеющих различные нарушения фетоплацентарного кровотока

Был проведен корреляционный анализ между уровнем экспрессии микроРНК в крови и состоянием плодово-плацентарного кровотока (таблица 16).

Таблица 16 – Корреляционный анализ экспрессии плацента-специфичных микроРНК (Ct) в крови пациенток с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней ($n = 16$) и критических расстройств фетоплацентарного кровотока

МикроРНК	Коэффициент корреляции (r)	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5p	0,025	0,926
МикроРНК-103a-3p	0,350	0,184
МикроРНК-122-5p	0,052	0,848
МикроРНК-141-3p	0,351	0,182
МикроРНК-26a-5p	0,268	0,315
МикроРНК-125b-5p	0,667	0,005
МикроРНК-205-5p	0,467	0,068
МикроРНК-517-5p	-0,182	0,5
МикроРНК-525-5p	0,466	0,069
МикроРНК-210-3p	-0,031	0,909

МикроРНК-424-5р	0,382	0,144
МикроРНК-363-3р	0,155	0,567
МикроРНК-373-3р	-0,043	0,875
МикроРНК-499-5р	-0,109	0,687
МикроРНК-516b-5р	0,329	0,213
МикроРНК-145-5р	0,465	0,06

Примечание: корреляционный анализ проведён с определением коэффициента корреляции Спирмена.

Получена корреляция между экспрессией микроРНК-125b-5р в крови беременных с ЗРП и степенью нарушений ФПК – статистически значимая прямая связь средней силы ($r = 0,667$, $p = 0,005$).

На основании проведённого анализа можно утверждать, что низкий уровень экспрессии микроРНК-125b-5р в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней является маркером критических расстройств плодово-плацентарного кровотока, что повышает риск неонатальной гибели. При этом величина экспрессии микроРНК-125b-5р коррелирует со степенью нарушений ФПК. Уровень экспрессии микроРНК-125b-5р в крови снижается при ухудшении ФПК, а наиболее низкая величина её экспрессии выявлена при самых тяжёлых нарушениях.

4.2 Многофакторная прогностическая модель риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока

С помощью метода множественной регрессии отобрано два основных фактора прогноза критических расстройств плодово-плацентарного кровотока: показатель PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней, выраженный в МоМ, и экспрессия микроРНК-125b-5р в крови беременной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней. Поскольку эти два фактора продемонстрировали свою статистическую значимость, был также определён

коэффициент корреляции для показателей экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней и PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней. Коэффициент корреляции Спирмена составил $r = -0,667$ на уровне статистической значимости $p < 0,001$, что говорит о наличии обратной связи средней силы (рисунок 7).

Для определения значимости и повышения предиктивной ценности выявленных факторов был применен метод бинарной логистической регрессии и разработана многофакторная прогностическая модель риска формирования критических расстройств фетоплацентарного кровотока.

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

$$p = 1/(1 + e^{-z}) \times 100\%,$$

$$z = -3,77 - 6,48X_{\text{PAPP-A}} + 0,156X_{\text{miR125b}}, \quad (1)$$

где p – вероятность критических нарушений ФПК; $X_{\text{PAPP-A}}$ – показатель PAPP-A в генетическом скрининге первого триместра, МоМ; X_{miR125b} – Ct микроРНК-125b-5p.

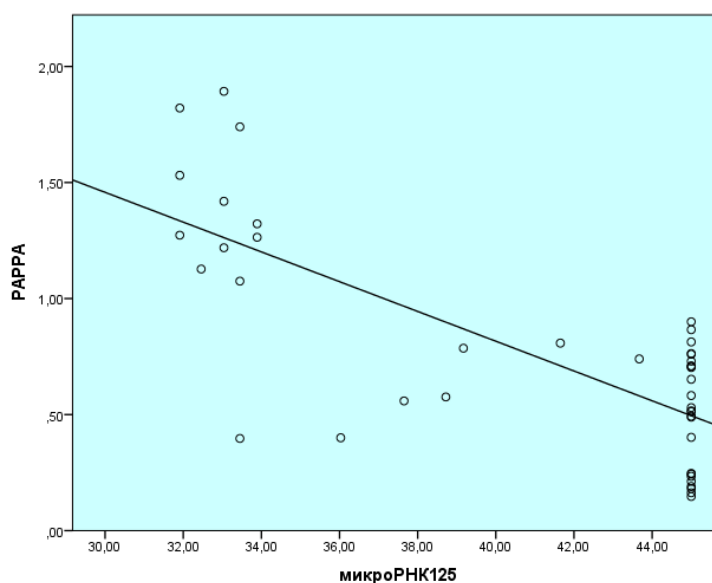


Рисунок 7 – Диаграмма рассеяния экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) в крови пациенток с ЗРП в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней и показателя PAPP-A (МоМ) по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней

Исходя из значений регрессионных коэффициентов было определено, что факторы PAPP-A и экспрессия микроРНК-125b-5p в крови имеют обратную связь с вероятностью появления критических расстройств плодово-плацентарного

кровотока. Снижение PAPP-A на 0,1 МоМ увеличивает вероятность критических нарушений ФПК в 50 раз (ОШ для 1 МоМ PAPP-A = 0,002), а повышение Ст микроРНК-125b-5p на 1 единицу – в 1,17 раза (ОШ для 1 ед. Ст микроРНК-125b-5p = 1,17).

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p = 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкера, модель (1) учитывает 62,2% факторов, определяющих вероятность неонатальной гибели. Чувствительность модели составила 76,9%, специфичность – 90%.

С целью повышения эффективности модели был проведён ROC-анализ взаимосвязи прогноза критических расстройств фетоплацентарного кровотока и значения регрессионной функции (1) (рисунок 8).

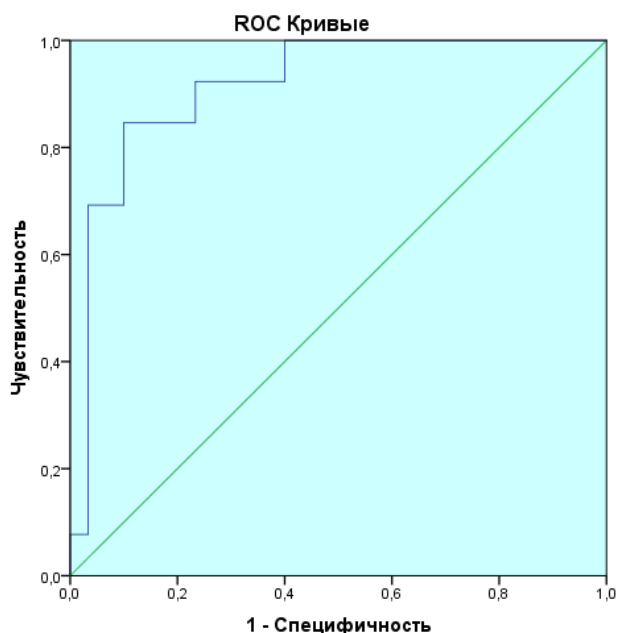


Рисунок 8 – ROC-анализ взаимосвязи прогноза развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока и значения регрессионной функции, основанной на экспрессии микроРНК-125b-5p (Ст) в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и показателя PAPP-A (МоМ) в 11 недель – 13 недель 6 дней

Площадь под ROC-кривой (AUC), соответствующая взаимосвязи прогноза критических расстройств плодово-плацентарного кровотока и значения регрессионной функции, составила $0,915 \pm 0,045$ (95%-ный ДИ: 0,827–1,0). Пороговое значение функции (1) в точке cut-off составляет 44,6; при превышении

данного порогового значения беременная может быть отнесена к группе риска по развитию критических расстройств фетоплацентарного кровотока. Чувствительность и специфичность метода составили 84,6% и 90% соответственно.

Для облегчения индивидуальных расчётов для пациенток по формуле (1) и вычисления прогностического индекса, позволяющего отнести беременную с ЗРП к группе низкого или высокого риска по развитию критических расстройств плодово-плацентарного кровотока, была разработана компьютерная программа, пример использования которой приведён на рисунке 9. Как мы видим, полученное значение регрессионной функции (79,1) позволяет отнести пациентку к группе высокого риска по появлению критических расстройств фетоплацентарного кровотока. Пересчёт риска развития ЗРП с использованием формулы (1) и компьютерной программы проведён для всех беременных, включенных в первый этап исследования, – в 88% случаев рассчитанный риск соответствовал реальной клинической ситуации (развились критические нарушения ФПК или нет), что совпадает с математически определённой для модели прогностической значимостью.

Риск развития у пациентки с ЗРП декомпенсации плацентарной недостаточности

Показатель PAPP-A в ген. скрининге первого триместра (MoM) Ct микроРНК-125b-5p

0.2 41

Результат

79.084

Расчет

Высокий риск

Рисунок 9 – Скрин страницы компьютерной программы для расчёта риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока у беременной женщины с ЗРП на основании определения экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) в

крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и показателя PAPP-A (MoM) в 11 недель – 13 недель 6 дней

Таким образом, используя показатель PAPP-A по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней и величину экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременной в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней, с помощью расчёта значения регрессионной функции можно выделить группу беременных, которые имеют высокий риск развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока. Определение степени риска позволяет индивидуально подойти к ведению беременных с высоким риском декомпенсации и добиться улучшения перинатальных исходов в данной группе пациенток.

4.3 Оптимизация тактики ведения беременных с ЗРП

На основании полученных результатов нами был разработан персонализированный алгоритм ведения пациенток с ЗРП (Приложение А). При выявлении по УЗИ в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней ЗРП при сохраняющемся диастолическом компоненте кровотока в АП и отсутствии признаков критического состояния плода, требующего экстренного родоразрешения, рекомендуется определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременной с помощью ПЦР, с последующим расчётом индивидуального риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока.

На основании полученного значения регрессионной функции беременные разделяются на две группы – с высоким ($p \geq 44,6$) и низким ($p < 44,6$) риском развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока.

Низкий риск появления критических расстройств фетоплацентарного кровотока требует проведения доплерометрии один раз в неделю, КТГ – один раз в три дня, контроля темпов роста плода – один раз в две недели, а также

мониторинга уровня экспрессии микроРНК-125b-5p в крови один раз в неделю и своевременного перерасчёта риска.

Если у беременной определён высокий риск критических расстройств плодово-плацентарного кровотока, то ей рекомендуется проводить доплерографию один раз в три дня и ежедневную КТГ с целью наиболее раннего выявления критических нарушений ФПК. При обнаружении нулевого конечно-диастолического кровотока в АП родоразрешение возможно отсрочить до 34 недель с целью профилактики респираторного дистресс-синдрома плода. В связи с тем, что выявление реверсного конечно-диастолического кровотока в АП или нарушений в венозном протоке значительно повышает риск неонатальной гибели, дальнейшее пролонгирование беременности при их обнаружении нецелесообразно, требуется экстренное родоразрешение в интересах плода.

Таким образом, разработанный индивидуальный алгоритм, учитывающий молекулярно-генетические показатели плацентарной функции, позволяет оптимизировать кратность выполнения диагностических исследований, снизив экономические затраты в тех ситуациях, где столь тщательный мониторинг нецелесообразен, и улучшить при этом перинатальные исходы среди беременных высокого риска, своевременно выявив критические нарушения ФПК и приняв взвешенное решение о необходимости досрочного родоразрешения.

ГЛАВА 5 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОРНК В ПРЕДИКЦИИ ЗРП

Проведённый анализ уровня экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови беременных с ЗРП и в контрольной группе в сроки 30 недель – 31 неделя 6 дней выявил различия в концентрации трёх микроРНК: микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р, экспрессия которых при ЗРП была статистически значимо ниже по сравнению с показателями контрольной группы.

С целью оценки предиктивной ценности данных микроРНК был проведён второй этап диссертационного исследования. В него были включены выбранные случайным образом 100 беременных в сроке гестации 18–21 неделя, которые посетили консультативную поликлинику ГБУ РО «ПЦ» с целью прохождения второго скринингового УЗИ и дали согласие на участие в исследовании. Данный срок гестации был выбран, поскольку к этому сроку завершает формирование плацента (вторая волна инвазии цитотрофобласта), что позволяет в полной мере изучить у беременных профиль плацента-специфичных микроРНК в крови.

Беременным, вошедшим в данный этап исследования, осуществлялся забор периферической венозной крови натощак, в утренние часы, аналогично описанному ранее способу забора и выделения микроРНК из образцов крови беременных в группах 1 и 2, вошедших в первый этап исследования (в 30 недель – 31 неделю 6 дней). В лаборатории НИИ биологии ЮФУ определены показатели экспрессии микроРНК. Данные показатели были проанализированы после завершения беременностей у вошедших в исследование пациенток, и дана оценка профилю плацента-специфичных микроРНК в крови в зависимости от наличия или отсутствия у них ранней ЗРП. Исходы беременности оценивались по данным медицинской документации (выписки из истории родов).

5.1 Клинико-anamнестическая характеристика и анализ течения и исходов беременности у обследованных пациенток

Анализируемое осложнение – ранняя ЗРП – развилось у семи из 100 проходивших тестирование женщин, которые были включены во второй этап исследования. Из наблюдения выбыли шесть беременных: по причине отказа от дальнейшего участия в исследовании ($n = 2$) либо в связи с преждевременными родами, ассоциированными с преждевременным разрывом плодных оболочек ($n = 4$).

Оценка клинико-anamнестической характеристики, течения беременности и родов пациенткам, вошедшим в данный этап исследования, была проведена ретроспективно после завершения беременности и определения, в какую группу (с ранней ЗРП или без) женщина была отнесена. У 87 включённых во второй этап исследования пациенток исследуемого осложнения (ранняя ЗРП) не было, беременность протекала физиологически.

Группа беременных, вошедших в данный этап исследования, была однородной. Клинико-anamнестическая характеристика, акушерско-гинекологический анамнез и структура соматической заболеваемости у пациенток, вошедших в исследование в 18–21 неделю, представлена в таблице 17.

Пациентки, чья беременность осложнилась ранней ЗРП, и те, у которых данное осложнение не развилось, были сопоставимы по возрасту, антропометрическим характеристикам и исходному индексу массы тела, социальному статусу, наличию вредных привычек, паритету, сопутствующей экстрагенитальной патологии, акушерско-гинекологическому анамнезу. Структура гинекологической заболеваемости и экстрагенитальной патологии также статистически значимо не различалась.

Таблица 17 – Клинико-anamнестическая характеристика, акушерско-гинекологический анамнез и структура экстрагенитальной патологии у беременных с определенной в 18–21 неделю экспрессией плацента-специфичных микроРНК в крови в зависимости от наличия у них в дальнейшем течении беременности ранней ЗРП

Характеристика пациенток, вошедших в исследование	Беременные с ранней ЗРП (n = 7)	Беременные, не имевшие в течение гестации ранней ЗРП (n = 87)	Уровень значимости (p)
Возраст, лет (Me (Q1; Q3))	28 (22; 33)	25 (23; 30)	0,448
Рост, см (Me (Q1; Q3))	161,5 (159,4; 165,3)	164,2 (161,3; 167,9)	0,523
Исходный ИМТ, кг/м ² (Me (Q1; Q3))	22,7 (20,9; 25,3)	23,6 (20,4; 26,8)	0,345
Табакокурение	1 (14,3%)	9 (10,3%)	0,558
Соблюдение вегетарианской диеты	0	2 (2,3%)	–
Профессиональные вредности	0	1 (1,1%)	–
Первобеременные	2 (28,6%)	28 (32,2%)	1,0
Количество родов в анамнезе (Me (Q1; Q3))	1 (0; 1)	1 (0; 1)	0,971
Преждевременные роды в анамнезе	0	5 (5,7%)	–
Плацентарная недостаточность в анамнезе в предыдущую беременность	1 (14,3%)	4 (4,6%)	0,327
Самопроизвольный аборт или неразвивающаяся беременность в анамнезе	2 (28,6%)	13 (14,9%)	0,309
Хирургический аборт	2 (28,6%)	11 (12,6%)	0,248
Внутриматочные вмешательства	3 (42,9%)	18 (20,7%)	0,183
Воспалительные заболевания ОМТ	1 (14,3%)	12 (13,8%)	1,0
Бесплодие в анамнезе – первичное	1 (14,3%)	10 (11,5%)	1,0
Бесплодие в анамнезе – вторичное	0	4 (4,6%)	–
Хронический цервицит/хронический вульвовагинит	1 (14,3%)	8 (9,2%)	0,518
Эндометриоз	0	2 (2,3%)	–
Хронический пиелонефрит	1 (14,3%)	9 (10,3%)	0,558
Хронические заболевания ЖКТ	2 (28,6%)	12 (13,8%)	0,279
Хронический тонзиллит	0	6 (6,9%)	–
Гипотиреоз	0	8 (9,2%)	–
Миопия	2 (28,6%)	22 (25,3%)	1,0
Ожирение	1 (14,3%)	14 (16,1%)	1,0
Дефицит массы тела	1 (14,3%)	9 (10,3%)	0,558

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни, по частоте встречаемости фактора – с помощью точного теста Фишера.

При анализе течения беременности у включённых в исследование женщин установлено, что две пациентки (28,6%), имевших раннюю ЗРП, и девять (10,3%) из тех, кто данное осложнение не имел, отмечали кровомазания на малых сроках беременности ($p = 0,189$). Среди пациенток, чья беременность была осложнена ранней ЗРП, у одной женщины (14,3%), а из пациенток с физиологической беременностью – у 19 (21,8%) был выраженный токсикоз в первом триместре ($p = 1,0$). У троих женщин с ранней ЗРП (42,9%) и у 46 из тех, чья беременность не была осложнена ранней ЗРП (58,9%), за время беременности хотя бы однократно была диагностирована ОРВИ ($p = 0,706$).

Биохимический скрининг первого триместра выполнили все пациентки, чья беременность осложнилась ранней ЗРП, и 82 пациентки с физиологически протекавшей беременностью. Показатели β -ХГЧ, выраженные в МоМ, у женщин, вошедших во второй этап исследования, были сопоставимы и составили 1,2 (0,8; 1,6) МоМ у беременных с ЗРП и 1,0 (0,7; 1,6) МоМ у беременных без ЗРП ($p = 0,359$). Показатели же РАРР-А различались статистически значимо у пациенток данных групп, составив 0,6 (0,4; 0,7) МоМ и 0,9 (0,6; 1,3) МоМ соответственно ($p = 0,035$).

У пяти пациенток (71,4%) из тех, у кого развилась ранняя ЗРП, и у 18 пациенток (20,7%) в группе с неосложнённой беременностью показатель РАРР-А был менее 0,637 МоМ ($Se = 71,4\%$, $Sr = 79,3\%$). Этот результат даже несколько превышает показатели чувствительности (65,1%) и специфичности (64%), рассчитанные для этого порога отсечки (0,637 МоМ) на первом этапе настоящего исследования при анализе генетического скрининга пациенток групп 1 и 2.

При анализе доплерометрического исследования маточно-плацентарного кровотока в первом триместре нарушения были выявлены у двух пациенток, имевших в течение беременности ЗРП (28,6%), и у 10 пациенток без ранней ЗРП (12,2% из 82 выполнивших первое скрининговое УЗИ); статистически значимо этот показатель не различался ($p = 0,238$). Во втором же триместре среди женщин с ранней ЗРП НМПК выявлены уже у четырех пациенток (57,1%), среди пациенток 4-й группы – у 12 (13,8%), что статистически значимо чаще ($p = 0,015$).

Эти показатели также оказались сопоставимыми с частотой НМПК в первом и втором триместре у пациенток первого этапа исследования (во втором триместре нарушения были у 66% пациенток с ЗРП и 8,3% пациенток контрольной группы).

Срок выявления ранней ЗРП в группе 3 составил 30,4 (28,1; 31,2) недели беременности. У пяти пациенток из семи ЗРП была выявлена на плановом УЗИ, выполнявшемся в 30–31 неделю. У двух пациенток ЗРП была диагностирована ранее (в 27–28 недель) – пациентки были направлены на внеплановое ультразвуковое и доплерометрическое исследование в связи с появлением жалоб на субъективное снижение двигательной активности плода и выявлением отставания высоты стояния дна матки на амбулаторном приёме более чем на 4 см в сравнении со сроком беременности.

Оценка состояния плодово-плацентарного кровотока у беременных с ранней ЗРП показала, что у четырех женщин (57,1%) на первом ультразвуковом исследовании, выявившем ЗРП, было выявлено изолированное повышение пульсационного индекса в АП более 95-го перцентиля при сохранном диастолическом компоненте (критические нарушения фетоплацентарного кровотока отсутствовали). Ещё у двух (28,6%) ФПК нарушен не был, и у одной из пациенток (14,3%) был выявлен нулевой конечно-диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке.

В таблице 18 представлены исходы беременности у женщин, которые вошли в данный этап исследования. Пациентки с ЗРП были родоразрешены статистически значимо раньше (все – преждевременно), частота оперативного родоразрешения у них также выше (100%) – это обусловлено ухудшением внутриутробного состояния плода (что подтверждается более низкой оценкой новорождённого по шкале Апгар) и нецелесообразностью дальнейшего пролонгирования беременности при нарастании плацентарной недостаточности при отсутствии возможности быстрого и бережного родоразрешения через естественные родовые пути.

Наиболее часто женщин с ЗРП, вошедших в исследование, родоразрешали по поводу критических расстройств фетоплацентарного кровотока и/или

патологического типа кривой по данным КТГ (57,1%) и преэклампсии тяжёлой степени (42,9%).

Таблица 18 – Исходы родов у женщин с определённой в 18–21 неделю экспрессией плацента-специфичных микроРНК в крови в зависимости от наличия или отсутствия в дальнейшем течении беременности ранней ЗРП

Показатель, характеризующий исход беременности у пациенток исследуемых групп	Беременные с ранней ЗРП (n = 7)	Беременные, не имевшие в течение гестации ранней ЗРП (n = 87)	Уровень значимости (p)
Срок родов, недель (Me (Q1; Q3))	32,4 (28,9; 34,7)	39,3 (38,4; 40,2)	< 0,001
Способ родоразрешения – кесарево сечение	7 (100%)	30 (34,5%)	< 0,001
Апгар 1-я минута, баллы (Me (Q1; Q3))	6,0 (5,0; 7,0)	8,0 (8,0; 9,0)	< 0,001
Апгар 5-я минута, баллы (Me (Q1; Q3))	6,0 (6,0; 7,0)	9,0 (8,0; 9,0)	< 0,001
Длительность пребывания в ОРИТН, дни (Me (Q1; Q3))	9,0 (4,0; 17,0)	0	–
Масса тела новорождённого, грамм (Me (Q1; Q3))	1449 (1192,5; 1765)	3250 (3070; 3580)	< 0,001
Мертворождение	0	0	–
Ранняя неонатальная гибель плода	0	0	–
Неонатальная гибель, %	1 (14,3%)	0	-
Продолжительность жизни при неонатальной гибели, дней (Me (Q1; Q3))	19	0	-

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни, по частоте встречаемости фактора – с помощью точного теста Фишера.

Итак, исходная клиничко-анамнестическая характеристика и течение первого и второго триместра беременности у пациенток, которые вошли во второй этап настоящего исследования, были сопоставимы. Не было выявлено статистически значимой разницы между беременными основной и контрольной групп по возрасту, росту-весовым показателям, наличию особенностей питания или табакокурению, акушерскому анамнезу, структуре гинекологической и экстрагенитальной патологии, наличию в течение беременности угрозы прерывания, ОРВИ, раннего токсикоза, бактериального вагиноза.

Установлено, что для пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ранней ЗРП, характерными являются более низкие значения PAPP-A. Значимо чаще ЗРП в сроке до 32 недель формируется у пациенток, имевших НМПК в сроке 18–21 неделя.

5.2 Оценка профиля плацента-специфичных микроРНК в крови у беременных в 18–21 неделю при наличии ранней ЗРП в дальнейшем течении беременности и у не имевших данного осложнения

Для определения взаимосвязи между профилем плацента-специфичных микроРНК в крови (микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р) и риском развития ЗРП был проведён сравнительный анализ экспрессии микроРНК по результатам применения разработанной тест-системы в 18–21 неделю (таблица 19).

Таблица 19 – Экспрессия плацента-специфичных микроРНК (Ст) в крови беременных в 18–21 неделю в зависимости от наличия или отсутствия в дальнейшем течении беременности ранней ЗРП

МикроРНК	Беременные с ранней ЗРП ($n = 7$)	Беременные, не имевшие в течение гестации ранней ЗРП ($n = 87$)	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5р	42,7 (39,3; 45)	45 (45; 45)	0,445
МикроРНК-103а-3р	45 (38,1; 45)	38,7 (34,4; 41)	0,005
МикроРНК-122-5р	36,7 (36; 38,1)	37,1 (36,1; 37,8)	0,347
МикроРНК-141-3р	39,1 (37; 45)	45 (39,4; 45)	0,746
МикроРНК-26а-5р	45 (38,9; 45)	38,2 (35,6; 40,5)	0,03
МикроРНК-125b-5р	45 (44; 45)	40,1 (35,8; 37)	0,021
МикроРНК-205-5р	45 (45; 45)	45 (39,4; 45)	0,19
МикроРНК-517-5р	38,3 (31,6; 45)	34,9 (26,8; 45)	0,368
МикроРНК-525-5р	36,2 (33,7; 40,2)	32,9 (26,8; 31,6)	0,572
МикроРНК-210-3р	45 (45; 45)	45 (37,5; 45)	0,679
МикроРНК-424-5р	36,4 (35,4; 38,8)	37,3 (36,1; 38,1)	0,912
МикроРНК-363-3р	45 (41,1; 45)	36,8 (34,8; 45)	0,463
МикроРНК-373-3р	45 (45; 45)	45 (43,4; 45)	0,741
МикроРНК-499-5р	45 (45; 45)	45 (45; 45)	0,796
МикроРНК-516b-5р	37,7 (35,8; 38)	37,1 (36; 37,8)	0,468
МикроРНК-145-5р	37,2 (35,5; 45)	36,3 (36,1; 38,3)	0,457

Примечание: сравнение групп по значениям фактора осуществлялось с помощью теста Манна–Уитни.

Выявлен статистически значимо низкий уровень экспрессии микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р, определённых в крови

пациенток в 18–21 неделю беременности, в случае развития в последующем ЗРП. Полученные данные целесообразно применять в прогнозировании ранней ЗРП у беременных начиная с 18–21-й недели гестации.

С учетом полученных ранее данных о прогностической ценности сниженного PAPP-A по данным биохимического скрининга в сроке 11 недель – 13 недель 6 дней и НМПК в 18–21 неделю (представлены в главе 2) был выполнен корреляционный анализ этих показателей и экспрессии микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р, определённой в крови пациенток в 18–21 неделю беременности (таблица 20).

Таблица 20 – Корреляционный анализ прогностически значимых в отношении предикции ЗРП микроРНК в крови беременных в 18–21 неделю и PAPP-A по данным биохимического скрининга в сроке 11 недель – 13 недель 6 дней и нарушений маточно-плацентарного кровотока в 18–21 неделю

МикроРНК	PAPP-A по данным биохимического скрининга в сроке 11 недель – 13 недель 6 дней		Нарушения маточно-плацентарного кровотока в 18–21 неделю	
	Коэффициент корреляции (r)	Уровень значимости (p)	Коэффициент корреляции (r)	Уровень значимости (p)
МикроРНК-10b-5р	-0,164	0,456	-0,065	0,433
МикроРНК-103а-3р	0,036	0,84	0,136	0,131
МикроРНК-122-5р	0,064	0,787	-0,043	0,365
МикроРНК-141-3р	-0,146	0,343	-0,014	0,378
МикроРНК-26а-5р	-0,064	0,169	0,036	0,916
МикроРНК-125b-5р	-0,415	0,014	-0,278	0,074
МикроРНК-205-5р	-0,065	0,534	0,066	0,968
МикроРНК-517-5р	0,031	0,687	-0,035	0,643
МикроРНК-525-5р	-0,169	0,318	0,166	0,556
МикроРНК-210-3р	0,344	0,372	-0,056	0,165
МикроРНК-424-5р	-0,234	0,466	-0,029	0,345
МикроРНК-363-3р	0,101	0,735	-0,062	0,324
МикроРНК-373-3р	0,054	0,346	0,087	0,958
МикроРНК-499-5р	-0,065	0,544	0,158	0,646
МикроРНК-516b-5р	0,165	0,343	-0,087	0,526
МикроРНК-145-5р	-0,022	0,253	0,155	0,495

Примечание: корреляционный анализ проведён с определением коэффициента корреляции Спирмена.

В результате корреляционного анализа выявлена статистически значимая слабая обратная связь экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных в 18–21 неделю и показателя PAPP-A (MoM) по данным биохимического скрининга в сроке 11 недель – 13 недель 6 дней ($r = -0,415$, $p = 0,014$).

При анализе результатов было установлено, что для пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ранней ЗРП, характерным является более низкое значение PAPP-A в 12 недель – менее 0,637 МоМ. Риск формирования ЗРП в сроке до 32 недель выше в 21 раз у пациенток, имевших НМПК в сроке 18–21 недель.

Для классификации пациенток по степени риска наличия ЗРП методом бинарной логистической регрессии была построена прогностическая модель на основании результатов определения экспрессии наиболее информативного сочетания плацента-специфичных микроРНК-125b-5p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-103a-3p в периферической венозной крови беременных. Вероятность развития ЗРП описывается следующим регрессионным уравнением:

$$p = \frac{1}{1+e^{-z}} \times 100\%,$$

$$z = -7,1 - 0,027X_{\text{miR103}} + 0,263X_{\text{miR26}} - 0,001X_{\text{miR125}}, \quad (2)$$

где p – прогностический индекс, характеризующий вероятность наличия ЗРП; e – число Эйлера, математическая константа ($\approx 2,718$); z – коэффициент регрессионной функции; X_{miR103} = Ct микроРНК-103a-3p; X_{miR26} = Ct микроРНК-26a-5p; X_{miR125} = Ct микроРНК-125b-5p; Ct – значение количества циклов реакции микроРНК, при котором кривая амплификации и прямая порога чувствительности прибора пересекаются.

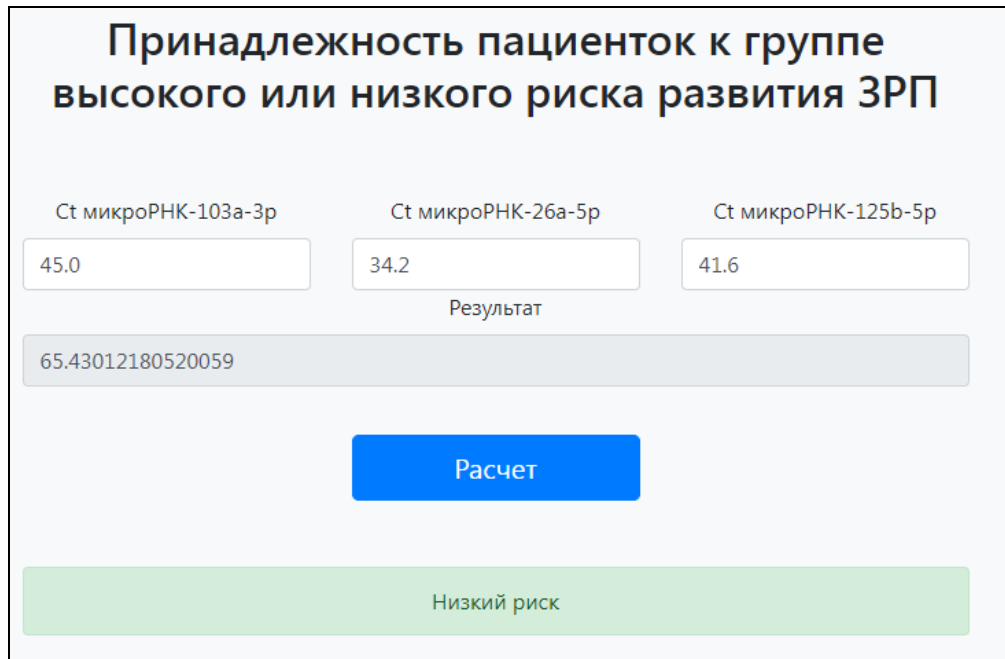
Полученная регрессионная модель (2) является статистически значимой ($p = 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, данная модель учитывает 70,1% факторов, определяющих вероятность развития ЗРП. Чувствительность данной модели составила 85,2%, специфичность – 33,3%, точность способа – 72,2%.

С целью повышения диагностической эффективности модели нами была произведена корректировка порога классификации исходя из результатов анализа ROC-кривой. Площадь под ROC-кривой (AUC), соответствующая взаимосвязи наличия ЗРП и значения регрессионной функции, составила $0,856 \pm 0,064$ с 95%-ным ДИ: 0,731–0,98.

Пороговое значение функции (2) в точке cut-off составляло 76,6. Значения функции, равные или превышающие данное значение, соответствовали прогнозу развития ЗРП. Выбрано значение отсечения прогностического индекса, равное 76,6%, что позволило увеличить точность способа до 83,3%; чувствительность составила 81,5%, специфичность – 88,9%.

Для облегчения индивидуальных расчётов для пациенток по формуле (2) и вычисления прогностического индекса, позволяющего отнести беременную к группе низкого или высокого риска по развитию ЗРП, была разработана компьютерная программа, пример использования которой приведён на рисунке 10. Как мы видим, полученное значение регрессионной функции (65,4) позволяет отнести пациентку к группе низкого риска по формированию плацентарной недостаточности.

Пересчёт риска развития ЗРП с использованием формулы (2) и компьютерной программы проведён для всех беременных, которым проводилось тестирование на микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р в 18–21 неделю беременности; в 90% случаев рассчитанный риск соответствовал реальной клинической ситуации (развилась ЗРП или нет), что совпадает с математически определённой для модели прогностической значимостью.



**Принадлежность пациенток к группе
высокого или низкого риска развития ЗРП**

St микроРНК-103a-3p	St микроРНК-26a-5p	St микроРНК-125b-5p
45.0	34.2	41.6

Результат

65.43012180520059

Расчет

Низкий риск

Рисунок 10 – Скрин страницы компьютерной программы для расчёта риска ЗРП у беременной женщины на основании экспрессии плацента-специфичных микроРНК

Таким образом, принадлежность пациенток к группе высокого или низкого риска развития ЗРП определялась исходя из рассчитанных значений диагностической регрессионной функции: при значении прогностического индекса более 76,6% беременная относилась к группе высокого риска развития ЗРП, при значении функции менее 76,6% – к группе низкого риска.

Это позволяет своевременно выделять беременных группы риска по формированию данной патологии и провести необходимый комплекс лечебно-профилактических мероприятий, что будет способствовать снижению риска перинатальной смертности и заболеваемости и уменьшению экономических затрат на лечение и выхаживание недоношенных новорождённых.

ГЛАВА 6 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полноценная плацентация является одним из важнейших компонентов успешного развития и залогом благоприятного исхода беременности. Функции плаценты во время беременности включают в себя обеспечение растущего плода нутриентами и кислородом, удаление продуктов его жизнедеятельности, выработку гормонов и биологически активных веществ в кровеносную систему как матери, так и плода. Будучи многофункциональным органом, плацента также обладает высоким уровнем адаптивности, проходя ряд структурных и функциональных изменений с целью обеспечения наиболее оптимальной среды для роста и развития плода. Начиная с ранних этапов развития плаценты её формирование тщательно регулируется сложными многоступенчатыми сигнальными путями и каскадами. Нарушение плацентации на каком-либо из этих шагов приводит к развитию плацентарной недостаточности и ассоциированным с ней осложнениям – преэклампсии и ЗРП [124].

ЗРП представляет собой осложнение беременности, при котором плод не достигает своего генетически детерминированного потенциала роста, что сопровождается отставанием предполагаемой массы плода или окружности живота менее 10-го перцентиля в сочетании с маловодием, и/или с патологическим кровотоком в АП по данным доплерометрии, и/или с недостаточной скоростью роста, и/или с ПМП менее 3-го перцентиля [5].

Факторы риска развития ЗРП принято делить на материнские, плодовые и плацентарные [1]. В настоящее исследование не были включены беременные с хромосомными аномалиями и пороками развития плода, многоплодием, тяжёлой экстрагенитальной патологией, что было предпринято с целью наиболее подробного анализа случаев ЗРП, ассоциированных именно с плацентарной недостаточностью.

Последствия ЗРП можно условно разделить на непосредственные и отдалённые [125]. К ближайшим осложнениям ЗРП принято относить перинатальную асфиксию, аспирацию меконием, гипер- и гипогликемические состояния, гипотермию, желтуху новорождённых. Значительно повышается риск развития легочной гипертензии и внутрилёгочных кровотечений, бронхолёгочной дисплазии, ретинопатии недоношенных в результате незрелости органа зрения, некротизирующего энтероколита ввиду хронической гипоксии, которой подвергался кишечник ребёнка в ходе внутриутробного развития. Тяжёлая ЗРП ассоциирована с высоким риском антенатальной гибели плода. Отдалённые последствия ЗРП включают в себя неврологические нарушения, такие как ДЦП, снижение интеллектуальных и когнитивных способностей, отставание ребёнка в физическом развитии от сверстников [126, 127].

С целью выявления материнских факторов риска ЗРП, а также оценки однородности исследуемых групп в первую очередь был проведён анализ клиничко-анамнестических характеристик пациенток, которые были включены в исследование. В настоящем исследовании все беременные были сопоставимы по возрасту, антропометрическим показателям, структуре соматических заболеваний и акушерско-гинекологическому анамнезу. Тем не менее ряд исследователей выделяет клиничко-анамнестические паттерны, характерные для беременных с ЗРП: наличие хронической артериальной гипертензии, хронических воспалительных заболеваний органов малого таза, ожирение и иные факторы, не показавшие статистически значимой разницы в нашей работе [128–132].

Течение беременности у пациенток в анализируемых группах также статистически значимо не различалось. Литературные данные по поводу взаимосвязи кровомазаний на малом сроке беременности с последующим развитием плацентарной недостаточности противоречивы. Большое количество исследований свидетельствует о повышении риска развития ЗРП у беременных, у которых первый триместр осложнился кровомазаниями, вызванными ретрохориальной гематомой: по разным данным, риск ЗРП выше в 2,4 раза [133], в 2,6 раза [134], в 1,54 раза [135] по сравнению с беременными без отслойки

хориона. Тем не менее в ряде работ не было установлено взаимосвязи между ретрохориальной гематомой и ЗРП [136, 137].

Значительно больше научных исследований было выполнено по поиску ассоциации между кровомазаниями в первом триместре беременности и последующим развитием преэклампсии, которая имеет морфологические и патогенетические аспекты развития, сходные с ЗРП и основанные на формировании плацентарной недостаточности. Так, интересные данные были представлены в популяционном исследовании 315 тысяч беременностей: было установлено на уровне статистической значимости $p < 0,005$, что кровянистые выделения в первом триместре были отмечены у 2% женщин с нормальным дальнейшим течением беременности и у 1,6% женщин с последующим развитием преэклампсии [138]. Авторы связывают полученные результаты с более успешной плацентацией, которая сопровождалась кровянистыми выделениями на ранних сроках беременности, что обеспечивает качественное ремоделирование спиральных артерий и васкуляризацию.

Статистически значимых отличительных особенностей течения беременности и показателей биохимического скрининга в первом триместре (β -ХГЧ и РАРР-А, определённых у беременных в 11 недель – 13 недель 6 дней) у женщин с ЗРП выявлено не было. И действительно, согласно рекомендациям Международного общества ультразвуковой диагностики в акушерстве и гинекологии, прогностическая ценность этих белков относительно расчёта риска развития ЗРП считается достаточно низкой, хотя их концентрация может служить маркером функционирования плаценты [6]. Ряд небольших исследований, однако, продемонстрировал ассоциацию снижения показателей β -ХГЧ и РАРР-А с риском развития ЗРП, с различными пороговыми значениями (показатели β -ХГЧ и РАРР-А менее 0,4 МоМ [139]; менее 0,3 МоМ [140]; менее 10-го центиля [141, 142]; менее 5-го центиля [143] и т.д.) [144].

НМПК статистически значимо чаще отмечены у беременных с ЗРП в 18–21 неделю. Для НМПК на этом сроке на уровне статистической значимости $p < 0,001$ чувствительность фактора составила 92,1%, специфичность – 74,7%, ОШ

развития ЗРП при наличии НМПК – 21,39 при 95%-ном ДИ 5,76–79,39. Согласно данным литературы, НМПК в первом и втором триместре являются неспецифичными для ЗРП и зачастую могут быть обусловлены иными причинами (например, фоновыми заболеваниями, такими как артериальная гипертензия и другие заболевания сердечно-сосудистой системы). Кроме того, ряд исследователей считает прогностически значимым НМПК в первом триместре беременности [145], тогда как другие учёные не подтвердили данную взаимосвязь, установив, в свою очередь, высокую предиктивную ценность НМПК только во втором триместре [146, 147].

В 30 недель – 31 неделю 6 дней беременности НМПК значительно чаще ($p < 0,001$) были обнаружены у вошедших в настоящее исследование пациенток с ЗРП. Полученные результаты соответствуют литературным данным. Так, согласно консенсусу 2016 г., НМПК являются даже одним из дополнительных диагностических критериев ранней ЗРП [5]. Патогенетические механизмы, которые лежат в основе ассоциации НМПК и ЗРП, обусловлены тем, что повышенное сопротивление стенок маточных артерий отражает нарушение инвазии цитотрофобласта и ремоделирования спиральных артерий, что приводит к развитию ЗРП и преэклампсии в результате нарушения кровоснабжения плаценты [148, 149].

Что касается изменений в плодово-плацентарном кровотоке, в настоящее время принято считать, что эти изменения при ЗРП носят последовательный характер, отражая прогрессивное ухудшение кровоснабжения плаценты и снабжения плода кислородом и питательными веществами [150]. Компенсаторные резервы плаценты весьма велики, и вся эта последовательность нарушений ФПК выявляется по данным доплерометрического исследования только после облитерации 60% сосудов плацентарной площадки [151]. Патологический каскад начинается с повышения пульсационного индекса в артерии пуповины > 95-го перцентиля, с последующей централизацией кровотока в организме плода и снижением церебро-плацентарного отношения, что далее приводит к нулевому и реверсному кровотоку в АП с последующим вовлечением

венозного протока (повышение пульсационного индекса в этом сосуде, далее нулевая или обратная α -волна и пульсация пупочной вены). Таким образом, тяжёлые изменения ФПК, выделявшиеся по отечественной классификации в третью стадию НФПГ (начиная с нулевого кровотока в АП), являются закономерным этапом прогрессирования ЗРП и отражают тяжёлую степень нарушения функции плаценты [83].

Скорость данного патологического каскада и характер прогрессии ЗРП определяются тем, когда и как она началась, в каком сроке гестации и с какой степени изменений кровотока в АП. В настоящее время принято выделять два варианта клинического течения ЗРП [66]. В случае, когда отставание темпов роста плода и появление нарушений плодово-плацентарного кровотока начинается до 32 недель, такая ЗРП считается ранней. Прогностически этот вариант является менее благоприятным, также он зачастую ассоциирован с гипертензивными расстройствами – в первую очередь с преэклампсией [152]. Характер ухудшения доплерометрии АП в течение первых 7–10 дней значимо предсказывает прогрессирование венозных доплеровских нарушений и часто требует очень ранних интервенций [153]. Ранняя ЗРП требует тщательного мониторинга внутриутробного состояния плода и более частого проведения доплерометрических и КТГ-исследований с целью своевременного выбора оптимального момента родоразрешения.

Если же ЗРП впервые выявляется после 32 недель, с нарушением кровотока в АП при сохраняющемся диастолическом кровотоке, то в плане прогноза наибольшее значение имеет прогрессирование нарушений фетоплацентарного кровотока в течение двух недель после диагностирования ЗРП [154]. В случае относительно стабильных нарушений без дальнейшего вовлечения венозного протока ведение таких пациенток, как правило, характеризуется отсутствием необходимости в ранних интервенциях, и родоразрешение осуществляют в близком к доношенному сроке беременности. У таких плодов чаще отмечаются по данным доплерометрии признаки централизации кровотока (снижение церебро-плацентарного отношения, brain-sparing effect) [70, 155]. Если же в

течение двух недель после выявления ЗРП наблюдается ухудшение кровотока в АП, то более вероятным является прогрессирование до аномальных венозных доплеровских показателей и преждевременное родоразрешение.

В настоящее диссертационное исследование было включено 59 плодов с ранней ЗРП – всем пациенткам диагноз был выставлен до 32 недель беременности. Среди плодов с ЗРП у 15 нарушений ФПК выявлено не было, им диагноз был выставлен на основании выраженного отставания темпов роста плода (ПМП или ОЖ по данным ультразвуковой фетометрии составляли менее 3-го перцентиля от должных значений при этом гестационном сроке). Критические нарушения плодово-плацентарного кровотока были выявлены у 16 беременных, при этом в структуре нарушений по степени преобладал нулевой (восемь беременных) и реверсный (шесть беременных) конечно-диастолический кровоток в АП. Нарушения в венозном протоке (ретроградный кровоток) отмечены у двух беременных (12,5%).

Анализ исходов беременности у пациенток с нарушениями ФПК показал следующие результаты: случаев анте- или интранатальной, а также ранней неонатальной гибели плода выявлено не было. Пять детей (8,5%) умерли в неонатальном периоде, продолжительность жизни при неонатальной гибели составила 21 (13; 25) день. Статистический анализ показал, что критические расстройства плодово-плацентарного кровотока повышают вероятность гибели в первые 28 суток жизни в 14 раз: ОШ = 14,0, 95%-ный ДИ [1,427–137,324]. Среди беременных без столь тяжёлых нарушений неонатальная гибель отмечена всего в одном случае (2,3%) – у женщины, имевшей изолированное повышение пульсационного индекса в АП более 95-го перцентиля при сохранном диастолическом компоненте (не имевшей критических нарушений фетоплацентарного кровотока). При критических же нарушениях ФПК показатель неонатальных потерь составил 25% (четыре ребёнка). Так, один новорождённый умер у женщины, у которой регистрировался нулевой диастолический кровоток в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке (12,5% от восьми человек с нарушениями данной степени), две ребёнка – у женщин с реверсным

диастолическим кровотоком в АП при ортоградном кровотоке в венозном протоке (33,3% от шести детей), один новорождённый из двух, перенесших ЗРП с реверсным кровотоком в венозном протоке (50%).

Высокий уровень смертности при критических расстройствах плодово-плацентарного кровотока является закономерным отражением запредельного уровня повреждения внутриутробного состояния плода и срыва компенсаторных механизмов. Результатом таких серьёзных нарушений как в настоящем исследовании, так и по данным литературы является высокий уровень неонатальной и перинатальной смертности и заболеваемости [155], повышение вероятности ацидоза у новорождённого [82] и иных нарушений. Также у плодов, которые перенесли столь тяжёлые нарушения ФПК, значительно выше частота долгосрочного повреждения нервной системы по сравнению с плодами с позитивным диастолическим кровотоком в пуповине [156]. Нарушения в венозном протоке при этом являются значимым и высокоинформативным предиктором неблагоприятного перинатального исхода [157].

По мере научного и технологического прогресса изучение биологических процессов на всё более сложных и глубоких уровнях помогает точнее понимать этиологию и патогенез заболеваний и осложнений. Так, если ранее понимание этих механизмов было ограничено определением уровня того или иного белка или гормона, то далее стало известно о том, каким образом кодируется синтез этого белка, и что поломки могут происходить на генетическом уровне, закладывая неправильную структуру белка. В 1990-х гг. было установлено также, что экспрессия самих генов тоже не постоянна, а регулируется с помощью эпигенетических факторов, которые влияют на то, будет ли этот ген «считываться».

Эпигенетическая регуляция представляет собой изменение экспрессии генов без модификации структуры ДНК. К механизмам эпигенетической регуляции относят метилирование ДНК, ацетилирование гистонов, прионы и регуляторные РНК, включающие в себя антисмысловые РНК, интерферирующие РНК и микроРНК. Так, на настоящий момент удалось выяснить, что уровень

метилирования генов при ЗРП и иных осложнениях беременности изменяется: при ранней форме ЗРП уровень метилирования гена TLR2 и импринтирующей области IGF2/H19 в плазме крови статистически значимо ниже, чем при физиологически протекающей беременности [158]. Эти данные позволяют предположить, что сформированные еще на антенатальном этапе эпигенетические изменения продолжают в неонатальном периоде и имеют большое значение в реализации фетального программирования.

В настоящем исследовании наиболее углублённо изучается роль микроРНК в генезе ЗРП. Физиологические функции регуляторных РНК разнообразны: они выступают основными небелковыми регуляторами онтогенеза, дополняют «классическую» схему регуляции генов. Как правило, микроРНК и другие регуляторные РНК являются негативными регуляторами. Эти молекулы представляют большой интерес в качестве неинвазивных биомаркеров, поскольку могут циркулировать в системном кровотоке, что позволяет фиксировать изменение их уровня при различных заболеваниях и осложнениях.

Изучая гены-мишени и сигнальные пути, удалось установить, что ряд микроРНК, которые можно обнаружить у человека только во время беременности, имеют взаимосвязь с формированием и функционированием плаценты. Некоторые из них можно выделить только из плацентарной ткани, а некоторые циркулируют в крови беременной. Таким образом, профиль плацента-специфичных микроРНК доступен для изучения у беременной женщины. Он меняется в зависимости от срока гестации ввиду различных биологических процессов, которые преобладают на текущем этапе развития беременности, а также при нормальном течении беременности и при развитии осложнений. Роль микроРНК в инициации осложнений беременности на настоящий момент активно изучается. Потенциал данных молекул оценивается как значительный, они могут стать надежными неинвазивными маркерами, которые обладали бы достаточной прогностической и диагностической ценностью в отношении ЗРП и иных осложнений беременности.

После проведения анализа экспрессии 16 плацента-специфичных микроРНК, циркулирующих в крови беременных женщин в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней с ЗРП (59 человек) и с неосложнённым течением беременности (41 человек) статистически значимые различия по концентрации получены по трём микроРНК: микроРНК-103а-3р ($p = 0,001$), микроРНК-26а-5р ($p < 0,001$) и микроРНК-125b-5р ($p = 0,04$), их экспрессия ниже при наличии ЗРП. Дальнейший логистический регрессионный анализ показал, что на уровне чувствительности 84,7% и специфичности 88,9% при превышении порогового уровня экспрессии (St) микроРНК-103а-3р на одну единицу больше значения 33,4 шанс развития у беременной ЗРП возрастает в 1,25 раза. Для микроРНК-26а-5р превышение St более 34,6 на одну единицу повышает шанс развития ЗРП в 1,26 раза (чувствительность 86,4% и специфичность 88,9%). При превышении экспрессии микроРНК-125b-5р на одну единицу выше St = 37 с чувствительностью 69,5% и специфичностью 66,7% в 1,21 раза повышается шанс формирования ЗРП во время беременности.

Наблюдаемые при ЗРП изменения экспрессии микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р в крови можно связать с теми патогенетическими механизмами формирования данного осложнения беременности, которые эти микроРНК регулируют [159]. В основе плацентарной недостаточности, которая является важнейшей причиной ЗРП, лежит нарушение ремоделирования стенок сосудов спиральных артерий в ходе закладки хориона. В результате этого процесса происходит повреждение ворсин хориона и гипоксия межворсинчатого пространства, что запускает коагуляционный каскад и оксидативный стресс. Моделирование гипоксии плаценты с помощью производного оксихинолина продемонстрировало значимое изменение уровня экспрессии большинства генов, кодирующих белки, которые вовлечены в молекулярный механизм процессинга микроРНК [160]. Результатом этого являются выявляемые при данном патологическом процессе изменения экспрессии микроРНК. Гипоксия-ассоциированные микроРНК, которые участвуют в этих каскадах, не являются при этом тканеспецифичными, и уровень

их экспрессии меняется как в плаценте при гипоксии, так и в миокарде и иных тканях [161].

Уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови показал статистически значимую ассоциацию с риском неонатальной потери у женщин, которые во время беременности имели ЗРП ($p = 0,021$). Если Ct данной микроРНК в крови превышает пороговое значение 43,1 единицы, то данная беременная с ЗРП попадает в группу риска по развитию ЗРП на уровне чувствительности 80% и специфичности 66,7%. Также экспрессия микроРНК-125b-5p в крови являлась статистически значимо более низкой среди беременных, имевших критические расстройства фетоплацентарного кровотока. Полученные данные свидетельствуют о том, что более низкая экспрессия микроРНК-125b-5p (Ct более 43,1) в крови является маркером развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока, повышая риск неонатальной гибели.

Добавление к экспрессии микроРНК-125b-5p в крови показателя PAPP-A (MoM) по результатам биохимического скрининга в 11 недель – 13 недель 6 дней позволило разработать многофакторную прогностическую модель риска критических расстройств фетоплацентарного кровотока. Установлено, что снижение PAPP-A на 0,1 MoM увеличивает вероятность развития критических нарушений ФПК в 50 раз, а повышение Ct микроРНК-125b-5p на одну единицу – в 1,17 раза. С помощью ROC-анализа было вычислено пороговое значение функции, которое позволяет отнести беременную к группе высокого ($p \geq 44,6$) и низкого ($p < 44,6$) риска развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока.

Второй этап, представлявший собой когортное исследование на объёме выборки 100 человек, выполнен после завершения первого этапа. Целью данного раздела исследования был поиск микроРНК, обладающих предиктивной ценностью в отношении ранней ЗРП, при определении их экспрессии в крови в 18–21 неделю, после завершения формирования плаценты.

Основным результатом второго этапа исследования было выявление трёх микроРНК – микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-125b-5p, –

экспрессия которых в крови была статистически значимо ниже у пациенток, чья беременность в дальнейшем осложнилась ранней ЗРП. На основании этих данных была разработана математическая модель, используя которую, можно определить у женщины риск развития ЗРП в данную беременность. При значении прогностического индекса более 76,6% женщину следует относить к группе высокого риска развития ранней ЗРП, при значении функции менее 76,6% – к группе низкого риска. Своевременная стратификация групп риска позволяет оптимизировать тактику ведения пациенток с высоким риском развития ранней ЗРП, что способствует снижению риска перинатальной смертности и заболеваемости.

Итак, высокую прогностическую значимость в настоящем исследовании показала именно микроРНК-125b-5p. Выяснить, какую роль играет данная микроРНК в патогенезе ЗРП, помогает анализ генов-мишеней и сигнальных путей, где микроРНК-125b-5p участвует. В результате биоинформационного анализа было установлено и путём лабораторного моделирования подтверждено, что с помощью данной микроРНК происходит реперфузионное повреждение ишемизированных тканей [162, 163]. В опытах на мышах продемонстрировано, что микроРНК-125b-5p, подавляя экспрессию казеинкиназы (СК2 α) и регулируя сигнальный путь СК2 α / НАДФ-оксигенацию, помогает защитить мозговую ткань от реперфузионного повреждения после инсульта [164]. Таким образом, отмеченное снижение экспрессии данной микроРНК у беременных с ЗРП можно объяснить происходящим при формировании плаценты реперфузионным повреждением ворсинок хориона, вызванным снижением плацентарного обмена и повышением концентрации кислорода в межворсинчатом пространстве [159].

Экспрессия микроРНК-125b-5p также опосредованно участвует в апоптозе кардиомиоцитов после перенесённой ишемии [165]. Повышение экспрессии микроРНК-125b-5p в кардиомиоцитах может значительно снизить уровни таких маркеров апоптоза, как каспаза-3 и белок Вах, и повысить экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2, что приводит к увеличению выживаемости кардиомиоцитов. Снижение же экспрессии микроРНК-125b-5p приводит к

активации процессов апоптоза, что применительно к генезу ЗРП формирует плацентарную недостаточность вследствие уменьшения количества клеток в ткани плаценты [166].

Ещё одним из возможных механизмов влияния этого эпигенетического регулятора на развитие ЗРП является воздействие на гены рецепторов эпидермального фактора роста – лейкоз-ингибирующего фактора (LIFR) и ERBB2 [167]. Поскольку микроРНК-125b-5p, как и другие микроРНК, выступает в качестве негативного регулятора, то при снижении её экспрессии фиксируется активация экспрессии LIFR и ERBB2. Известно, что LIFR участвует в росте трофобласта и дифференцировке плаценты и совместно с геном рецептора ERBB2 регулирует пролиферацию клеток стромы и дифференцировку клеток трофобласта в плаценте после имплантации. Также доказано, что ERBB2 может участвовать в стимуляции ангиогенеза и инвазии трофобласта. Экспрессия LIFR, в свою очередь, частично блокирует активность лейкоз-ингибирующего фактора и вызывает нарушение роста и дифференцировки трофобласта в течение постимплантационного периода, что повышает риск развития плацентарной недостаточности.

На основании полученных результатов предложен индивидуальный алгоритм, основанный на многофакторной прогностической модели, который позволяет персонифицировать акушерскую тактику у беременных с ЗРП. Состояние плода у беременной с высоким риском развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока требует более тщательного и частого мониторинга (доплерометрия один раз в три дня и ежедневная кардиотокография), чем у беременной с низким риском. Это позволяет оптимизировать кратность выполнения диагностических исследований, снизив экономические затраты в тех ситуациях, где столь тщательный мониторинг нецелесообразен, и улучшить при этом перинатальные исходы среди беременных высокого риска, своевременно выявив тяжёлые нарушения ФПК и приняв взвешенное решение о необходимости досрочного родоразрешения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило установить эпигенетические предикторы ЗРП в крови беременных в сроке гестации 18–21 неделя: более низкая экспрессия плацента-специфичных микроРНК-103а-3р, микроРНК-26а-5р и микроРНК-125b-5р. Выявление беременных с высоким риском развития ранней ЗРП в сроки второго ультразвукового скрининга позволяет оптимизировать тактику ведения с целью более тщательного мониторинга за состоянием плодово-плацентарного кровотока и оценки темпов роста плода.

В настоящей работе была продемонстрирована клиническая важность критических расстройств фетоплацентарного кровотока как фактора риска неблагоприятного исхода для новорождённого при ЗРП. Будучи неблагоприятным фоном для течения данного осложнения, декомпенсированные формы плацентарной недостаточности повышают риск неонатальной гибели в 14 раз.

Также предикторами неблагоприятных исходов для новорождённых, перенесших ЗРП, являются более низкий уровень PAPP-A по данным генетического скрининга матери в 12 недель (менее 0,258 МоМ) и низкая экспрессия микроРНК-125b-5р в крови. Экспрессия микроРНК-125b-5р также является минимальной при тяжёлых нарушениях ФПК, коррелируя со степенью его нарушений.

С учетом выявленных факторов была рассчитана формула прогноза развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока у беременных с ЗРП. Таким образом, для оптимизации тактики ведения пациенток с ЗРП используются современные молекулярно-генетические методы (определение экспрессии микроРНК в крови), имеющие важное практическое значение для своевременного выявления вероятности развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока в группе высокого риска.

Применение разработанного персонифицированного алгоритма ведения беременных с ЗРП в сроке гестации 30 недель – 31 неделя 6 дней (Приложение А), включающего оценку риска появления критических расстройств фетоплацентарного кровотока на основании определения экспрессии плацента-специфичной микроРНК-125b-5p в крови, позволяет оптимизировать динамическое наблюдение беременных. Своевременное родоразрешение сокращает длительность пребывания плода в условиях критически нарушенного кровотока, что улучшает исходы для новорождённых.

Перспективой дальнейшей разработки темы является поиск наиболее ранних предикторов ЗРП – выявление прогностически значимых микроРНК в 11 недель – 13 недель 6 дней, с целью наиболее раннего формирования группы высокого риска по развитию ЗРП и усовершенствования наблюдения за такими беременными.

Выводы:

1. Течение беременности пациенток с ранней ЗРП характеризуется уровнем РАРР-А менее 0,637 МоМ в 12 недель, нарушениями маточно-плацентарного кровотока в 18–21 неделю, низким уровнем экспрессии плацента-специфичных микроРНК в крови в 30 недель – 31 неделя 6 дней: микроРНК-103a-3p с уровнем Ct более 33,4, микроРНК-26a-5p с Ct более 34,6 и микроРНК-125b-5p с Ct более 37,7 (показатель Ct является обратно пропорциональным экспрессии микроРНК параметром), при этом уровень экспрессии микроРНК-125b-5p коррелирует с РАРР-А в 12 недель ($r = -0,415$, $p = 0,014$).

2. Уровень экспрессии плацента-специфичных микроРНК у беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней прямо коррелирует с тяжестью нарушений фетоплацентарного кровотока ($r = 0,667$, $p = 0,005$): при критических расстройствах фетоплацентарного кровотока Me экспрессии микроРНК-125b-5p (Ct) составляет 45; при отсутствии критических нарушений – Me Ct = 40,2.

3. Предиктором летального исхода в неонатальном периоде при ЗРП является экспрессия микроРНК-125b-5p с уровнем Ct более 43,1 единицы ($r = 0,326, p = 0,012$) в крови беременных в 30 недель – 31 неделя 6 дней.

4. Определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней позволяет рассчитать индивидуальный риск развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока: при превышении значения функции (p) более 44,6 беременную следует отнести к группе высокого риска развития тяжёлых нарушений ФПК.

5. Расчёт индивидуального риска развития ранней ЗРП, основанный на определении экспрессии микроРНК-125b-5p, микроРНК-26a-5p и микроРНК-103a-3p в крови беременных, позволяет выделить группу риска развития данного осложнения при превышении значения функции (p) более 76,6.

Практические рекомендации:

1. В обследование беременных в сроке 18–21 неделя (соответствует срокам второго ультразвукового скрининга) следует включить определение в венозной крови методом количественной ПЦР трех плацента-специфичных микроРНК: микроРНК-103a-3p, микроРНК-26a-5p, микроРНК-125b-5p – с целью формирования среди беременных группы высокого риска по развитию ранней ЗРП.

2. С целью определения тактики ведения беременности, осложнённой ЗРП в сроки 30 недель – 31 неделя 6 дней, при отсутствии неотложных показаний для родоразрешения необходимо определение экспрессии микроРНК-125b-5p в крови беременных методом ПЦР и расчёт индивидуального риска развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока с помощью многофакторной прогностической модели, учитывающей показатель PAPP-A по данным скрининга в 12 недель и уровень экспрессии микроРНК-125b-5p в крови в сроке 30 недель – 31 неделя 6 дней.

3. Пациенткам с ЗРП в сроке гестации 30 недель – 31 неделя 6 дней следует применять персонафицированный алгоритм наблюдения, который позволяет на

основании многофакторной прогностической модели индивидуализировать акушерскую тактику у беременных с ЗРП с учётом риска развития критических расстройств фетоплацентарного кровотока. Для облегчения расчёта риска развития критических расстройств плодово-плацентарного кровотока целесообразно применять компьютерную программу, учитывающую экспрессию микроРНК-125b-5p (St) в крови беременных с ЗРП в 30 недель – 31 неделю 6 дней и показатель PAPP-A (MoM) в 11 недель – 13 недель 6 дней. Пациенткам с высоким риском усугубления нарушений ФПК необходима маршрутизация в учреждение родовспоможения третьей группы для мониторинга состояния плода с целью раннего выявления показаний для родоразрешения в соответствии со сроком беременности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стрижаков, А.Н. Синдром задержки роста плода: патогенез, диагностика, лечение, акушерская тактика / А.Н. Стрижаков, И.В. Игнатко, Е.В. Тимохина, Л.Д. Белоцерковцева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 120 с.
2. Intrauterine Growth Restriction: New Insight from the Metabolomic Approach / E. Priante, G. Verlato, G. Giordano [et al.] // *Metabolites*. – 2019. – Vol. 9 (11). – P. 267. – Doi: 10.3390/metabo9110267.
3. Figueras, F. An integrated approach to fetal growth restriction / F. Figueras, E. Gratacos // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. – 2017. – Vol. 38. P. 48–58. – Doi: 10.1016/j.bpobgyn.2016.10.006.
4. Павлова, Г.Г. Интраамниальная инфекция в патогенезе плацентарной недостаточности и задержки развития плода / Г.Г. Павлова // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2007. – № 1. – С. 55–58.
5. Gordijn, S.J. Building consensus and standards in fetal growth restriction studies / S.J. Gordijn, I.M. Beune, W. Ganzevoort // *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. – 2018. – Vol. 49. – P. 117–126. – Doi: 10.1016/j.bpobgyn.2018.02.002.
6. ISUOG Practice Guidelines: diagnosis and management of small-for-gestational-age fetus and fetal growth restriction / C.C. Lees, T. Stampalija, A. Baschat [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol*. – 2020. – Vol. 56 (2). – P. 298–312. – Doi: 10.1002/uog.22134.
7. Недостаточный рост плода, требующий предоставления медицинской помощи матери (задержка роста плода): клинические рекомендации / Российское общество акушеров-гинекологов (РОАГ). – URL: https://roag-portal.ru/recommendations_obstetrics.
8. Altered fetal growth, placental abnormalities, and stillbirth / R. Bukowski, N.I. Hansen, H. Pinar [et al.] // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12 (8). – P. e0182874. – Doi: 10.1371/journal.pone.0182874.

9. Aminu, M. Cause of and factors associated with stillbirth: a systematic review of classification systems / M. Aminu, S. Bar-Zeev, N. van den Broek // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2017. – Vol. 96 (5). P. – 519–528. – Doi: 10.1111/aogs.13126.

10. Ray, J.G. Mortality in Infants Affected by Preterm Birth and Severe Small-for-Gestational Age Birth Weight / J.G. Ray, A.L. Park, D.B. Fell // *Pediatrics.* – 2017. – Vol. 140 (6). – P. e20171881. – Doi: 10.1542/peds.2017-1881.

11. American College of Obstetricians and Gynecologists. Fetal growth restriction. Practice bulletin no. 204 // *Obstet Gynecol.* – 2019. – Vol. 133. – P. e97–109.

12. Neonatal morbidities of fetal growth restriction: pathophysiology and impact / A. Malhotra, B.J. Allison, M. Castillo-Melendez [et al.] // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2019. – Vol 10. – P. 55. – Doi: 10.3389/fendo.2019.00055.

13. Закурина, А.Н. Внутриплацентарный кровоток в III триместре беременности, осложненной плацентарной недостаточностью / А.Н. Закурина, Н.Г. Павлова // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2014. – № 5. – С. 51–57.

14. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-foetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal foetuses / E. Hafner, M. Metzenbauer, D. Höfinger [et al.] // *Placenta.* – 2003. – Vol. 24 (4). – P. 336–342. – Doi: 10.1053/plac.2002.0918.

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. – № 7. – С. 4–11.

16. Роль трансформирующего фактора роста β в формировании задержки роста плода / З.В. Хачатрян, Н.Е. Кан, В.В. Вторушина [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2019. № 11. – С. 107–112. – Doi: 10.18565/aig.2019.11.107-112.

17. Прогностическая значимость определения внеклеточной фетальной ДНК в плазме крови при задержке роста плода / Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник, З.В. Хачатрян [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2021. – № 6. – С. 60–65. – Doi: 10.18565/aig.2021.6.60-65.

18. Диагностическая ценность сосудистого эндотелиального фактора роста при задержке роста плода / И.Ф. Фаткуллин, Н.Р. Ахмадеев, Е.В. Ульянина

[и др.] // Доктор.Ру. – 2020. – Т. 19, № 8. – С. 44–48. – Doi: 10.31550/1727-2378-2020-19-8-44-48.

19. Дюсембинова, Ш.Д. Сопоставление пренатальных функциональных маркеров задержки роста и развития плода с экспрессией сосудистых факторов роста в плаценте / Ш.Д. Дюсембинова, Н.Г. Павлова, К.А. Кликунова // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 139–147. – Doi: 10.17816/2313-8726-2021-8-3-139-147.

20. Метаболомный профиль беременных при задержке роста плода // Н.Е. Кан, З.В. Хачатрян, Э.Ю. Амирасланов [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2019. – № 12. – С. 59–65. – Doi:10.18565/aig.2019.12.59-65.

21. Стрижаков, А.Н. Клиническое значение инсулиноподобного фактора роста при синдроме задержки развития плода / А.Н. Стрижаков, Е.В. Тимохина, Т.В. Тарабрина // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2009. – Т. 8, № 5. – С. 5–9.

22. Circulating microRNAs as clinical biomarkers in the predictions of pregnancy complications / M. Tsochandaridis, L. Nasca, C. Toga, A. Levy-Mozziconacci // Biomed Res Int. – 2015. – № 2015. – P. 294954. – Doi:10.1155/2015/294954.

23. MicroRNA and Embryo Implantation / W. Liu, Z. Niu, Q. Li [et al.] // Am J Reprod Immunol. – 2016. Vol. 75 (3). – P. 263–271. – Doi: 10.1111/aji.12470.

24. МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии / Н.В. Низяева, Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник [и др.] // Вестник РАМН. – 2015. – Т. 70, № 4. – С. 484–492. – Doi:10.15690/vramn.v70.i4.1416.

25. Increased levels of microRNA-424 are associated with the pathogenesis of fetal growth restriction / L. Huang, Z. Shen, Q. Xu [et al.] // Placenta. – 2013. – Vol. 34 (7). – P. 624–627. – Doi: 10.1016/j.placenta.2013.04.009.

26. MiR-141 contributes to fetal growth restriction by regulating PLAG1 expression / Q. Tang, W. Wu, X. Xu [et al.] // PLoS One. 2013;8 (3):e58737. – Doi: 10.1371/journal.pone.0058737.

27. Differential microRNA expression in human placentas of term intra-uterine growth restriction that regulates target genes mediating angiogenesis and amino acid

transport / S. Thamocharan, A. Chu, K. Kempf [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12 (5). – P. e0176493. – Doi:10.1371/journal.pone.0176493

28. The role of epigenetics in placental development and the etiology of preeclampsia / C. Apicella, C.S.M. Ruano, C. Méhats [et al.] // Int J Mol Sci. – 2019. – Vol. 20 (11). – P. 2837. – Doi: 10.3390/ijms20112837.

29. Circulating levels of pregnancy-associated, placenta-specific microRNAs in pregnant women with placental abruption / K. Miura, A. Higashijima, Y. Murakami [et al.] // Reprod Sci. – 2017. – Vol. 24 (1):148-155. – Doi: 10.1177/1933719116653837.

30. Elevated microRNA-141-3p in placenta of non-diabetic macrosomia regulate trophoblast proliferation / D. Guo, H. Jiang, Y. Chen [et al.] // EBioMedicine. – 2018. – Vol. 38. – P. 154–161. – Doi: 10.1016/j.ebiom.2018.11.002.

31. Профиль экспрессии плацентарных микроРНК-регуляторов окислительного стресса при синдроме задержки роста плода / В.А. Гусар, А.В. Тимофеева, Н.Е. Кан [и др.] Акушерство и гинекология. – 2019. – № 1. – С. 74–80. <https://dx>. – Doi.org/10.18565/aig.2019.1.74-80.

32. Vaiman, D. Genes, epigenetics and miRNA regulation in the placenta / D. Vaiman // Placenta. – 2017. Vol. 52. – P. 127–133. – Doi: 10.1016/j.placenta.2016.12.026.

33. MicroRNA-30a-3p is overexpressed in the placentas of patients with preeclampsia and affects trophoblast invasion and apoptosis by its effects on IGF-1 / Z.R. Niu, T. Han, X.L. Sun [et al.] // Am J Obstet Gynecol. – 2018. – Vol. 218 (2). – P. 249.e1–249.e12. – Doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.568.

34. Reference values for circulating pregnancy-associated microRNAs in maternal plasma and their clinical usefulness in uncomplicated pregnancy and hypertensive disorder of pregnancy / Y. Murakami, K. Miura, S. Sato [et al.] // J Obstet Gynaecol Res. – 2018. – Vol. 44 (5). – P. 840–851. – Doi: 10.1111/jog.13610.

35. Identification of microRNA signatures in umbilical cord blood associated with maternal characteristics / J. Juracek, P. Piler, P. Janku [et al.] // PeerJ. – 2019. – Vol. 7. – P. e6981.

36. Umbilical cord miRNAs in small-for-gestational-age children and association with catch-up growth: a pilot study / B. Mas-Parés, S. Xargay-Torrent, A. Bonmatí [et al.] // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 2019. – Vol. 104 (11). – P. 5285–5298.
37. 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. – Doi:10.1371/journal.pone.0078487.
38. Youssef, H.M.G. Association of microRNA-210 and microRNA-155 with severity of preeclampsia / H.M.G. Youssef, E.S. Marei // *Pregnancy Hypertens.* – 2019. – Vol. 17. – P. 49–53. – Doi: 10.1016/j.preghy.2019.05.010.
39. Cardiovascular and cerebrovascular disease associated microRNAs are dysregulated in placental tissues affected with gestational hypertension, preeclampsia and intrauterine growth restriction / I. Hromadnikova, K. Kotlabova, L. Hympanova, L. Krofta // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10 (9). – P. e0138383. – Doi:10.1371/journal.pone.0138383.
40. MicroRNA regulation of transthyretin in trophoblast differentiation and intra-uterine growth restriction / S. Saha, S. Chakraborty, A. Bhattacharya [et al.] // *Sci Rep*. – 2017. – Vol. 7 (1). – P. 16548. – Doi:10.1038/s41598-017-16566-0.
41. Fetal growth restriction and intra-uterine growth restriction: guidelines for clinical practice from the French College of Gynecologists and Obstetricians / C. Vayssiere, L. Sentilhes, A. Ego [et al.] // *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. – 2015. – Vol. 193. – P. 10–18.
42. Characterization of the role of microRNA-517a expression in low birth weight infants / G.Y. Song, W.W. Song, Y. Han [et al.] // *J Dev Orig Health Dis*. – 2013. – Vol. 4 (6). – P. 522–526. – Doi:10.1017/S204017441300024X.
43. First trimester screening of circulating C19MC microRNAs and the evaluation of their potential to predict the onset of preeclampsia and IUGR / I. Hromadnikova, K. Kotlabova, K. Ivankova, L. Krofta // *PLoS One*. – 2017. – Vol. 12 (2). – P. e0171756. – Doi:10.1371/journal.pone.0171756.

44. MicroRNA expression profiles and networks in placentas complicated with selective intrauterine growth restriction / H. Wen, L. Chen, J. He, J. Lin // *Mol Med Rep.* – 2017. – Vol. 16 (5). – P. 6650–6673. – Doi:10.3892/mmr.2017.7462.
45. MicroRNA-125b inhibits tube formation of blood vessels through translational suppression of VE-cadherin / F. Muramatsu, H. Kidoya, H. Naito [et al.] // *Oncogene* 32. – 2013. – P. 414–421. – Doi: 10.1038/onc.2012.68.
46. Ранний и поздний синдром задержки роста плода: особенности течения беременности и перинатальные исходы / В.Ф. Долгушина, Ю.В. Фартунина, Т.В. Надвикова [и др.] // *Вестник СурГУ. Медицина: научно-практический журнал.* – 2019. – № 4. – С. 29–35. – Doi: 10.34822/2304-9448-2019-4-29-35.
47. Ранняя и поздняя задержка роста плода. Дифференциальная диагностика, критерии неблагоприятного перинатального исхода / Н.Р. Ахмадеев, Л.Е. Терегулова, Е.В. Ульянина, Д.Г. Ахмадеева // *Дневник казанской медицинской школы.* – 2019. – № 1 (23). – С. 158–162.
48. Дифференциальная диагностика ранней и поздней задержки роста плода на основании маркеров про- и антиоксидантной систем / М.Б. Ганичкина, М.Ю. Высоких, В.Л. Тютюнник [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2020. – № 9. С. 66–72. – Doi: 10.18565/aig.2020.9.66-72.
49. Fenton, T.R. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants / T.R. Fenton, J.H. Kim // *BMC Pediatr.* – 2013. – Vol. 13. – P. 59. – Doi: 10.1186/1471-2431-13-59.
50. Balcells, I. Specific and sensitive quantitative RT-PCR of miRNAs with DNA primers / I. Balcells, S. Cirera, P.K. Busk // *BMC Biotechnol.* – 2011. Vol. 11. – P. 70. – Doi: 10.1186/1472-6750-11-70.
51. Livak, K.J. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-Delta Delta C (T)} method / K.J. Livak, T.D. Schmittgen // *Methods.* – 2001. – Vol. 25 (4). – P. 402–408. – Doi: 10.1006/meth.2001.1262.
52. Орлов, А.В. Этиопатогенетические аспекты развития плацентарной недостаточности и задержки роста плода / А.В. Орлов, Е.И. Кудинова // *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* – 2016. – № 4. – С. 4–10.

53. Intrauterine growth restriction in infants of less than thirty-two weeks' gestation: associated placental pathologic features / C.M. Salafia, V.K. Minior, J.C. Pezzullo [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 1995. – Vol. 173 (4). – P. 1049–1057.

54. Павлова, Н.Г. Спорные вопросы диагностики плацентарной дисфункции и нарушений функционального состояния плода / Н.Г. Павлова // *Акушерство и Гинекология Санкт-Петербурга.* – 2017. – № 2. – С. 15–17.

55. Gruenwald, P. Abnormalities of placental vascularity in relation to intrauterine deprivation and retardation of fetal growth. Significance of avascular chorionic villi / P. Gruenwald // *N Y State J Med.* – 1961. – Vol. 61. – P. 1508–1513.

56. Burton, G.J. Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction / G.J. Burton, E. Jauniaux // *Am J Obstet Gynecol.* – 2018. – Vol. 218 (2S). – P. S745–S761. – Doi: 10.1016/j.ajog.2017.11.577.

57. Angiogenic factors in placentas from pregnancies complicated by fetal growth restriction (Review) / V. Gourvas, E. Dalpa, A. Konstantinidou [et al.] // *Molecular Medicine Reports.* – 2012. – Vol. 6. – P. 23–27. – Doi: 10.3892/mmr.2012.898.

58. Teasdale, F. Idiopathic intrauterine growth retardation: histomorphometry of the human placenta / F. Teasdale // *Placenta.* – 1984. Vol. 5 (1). – P. 83–92. – Doi: 10.1016/s0143-4004 (84)80051-x.

59. Stereological investigation of placental morphology in pregnancies complicated by pre-eclampsia with and without intrauterine growth restriction / T.M. Mayhew, C. Ohadike, P.N. Baker [et al.] // *Placenta.* – 2003. – Vol. 24 (2–3). – P. 219–226. – Doi: 10.1053/plac.2002.0900.

60. Pre-eclampsia and fetal growth restriction: how morphometrically different is the placenta? / M. Egbor, T. Ansari, N. Morris [et al.] // *Placenta.* – 2006. – Vol. 27 (6–7). – P. 727–734. – Doi: 10.1016/j.placenta.2005.06.002.

61. Ранние сроки беременности / под ред. В.Е. Радзинского, А.А. Оразмурадова. – М.: Медиабюро Статус презенс, 2009. – 479 с.

62. Maternal and fetal cord blood lipids in intrauterine growth restriction / U. Pecks, M. Brieger, B. Schiessl [et al.] // *J Perinat Med.* – 2012. – Vol. 40 (3). – P. 287–96. – Doi: 10.1515/jpm.2011.135.

63. Use of proteomic analysis of endometriosis to identify different protein expression in patients with endometriosis versus normal controls / H. Zhang, Y. Niu, J. Feng [et al.] // *Fertil Steril.* – 2006. – Vol. 86 (2). – P. 274–282. – Doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.01.028.

64. Афанасьева, Н.В. Исходы беременности и родов при фетоплацентарной недостаточности различной степени тяжести // Н.В. Афанасьева, А.Н. Стрижаков // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии.* – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 7–13.

65. Константинова, Н.Н. Развитие представлений об универсальных гемодинамических реакциях в функциональной системе мать–плацента–плод / Н.Н. Константинова, Н.Г. Павлова // *Журнал акушерства и женских болезней.* – 2004. – Т. 53, № 1. – С. 27–30.

66. Lancet Ending Preventable Stillbirths Series study group; Lancet Stillbirth Epidemiology investigator group. Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030 / J.E. Lawn, H. Blencowe, P. Waiswa [et al.] // *Lancet.* – 2016. – Vol. 387 (10018). – P. 587–603. – Doi: 10.1016/S0140-6736 (15)00837-5.

67. 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. – № 7. – С. 4–11.

68. Small-for-gestational-age infants among uncomplicated pregnancies at term: a secondary analysis of 9 Maternal-Fetal Medicine Units Network studies / H. Mendez-Figueroa, V.T. Truong, C. Pedroza [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2016. – Vol. 215 (5). – P. 628.e1–628.e7. – Doi: 10.1016/j.ajog.2016.06.043.

69. Fetal Doppler velocimetry and bronchopulmonary dysplasia risk among growth-restricted preterm infants: an observational study / A. Lio, P. Rosati, R. Pastorino [et al.] // *BMJ Open.* – 2017. – Vol. 7 (7). – P. e015232. – Doi: 10.1136/bmjopen-2016-015232.

70. Cohen, E. Brain-sparing in intrauterine growth restriction: considerations for the neonatologist / E. Cohen, W. Baerts, F. van Bel // *Neonatology.* – 2015. – Vol. 108 (4). – P. 269–276. – Doi: 10.1159/000438451.

71. Neurodevelopment at age 10 years of children born <28 weeks with fetal growth restriction / S.J. Korzeniewski, E.N. Allred, R.M. Joseph [et al.] // *Pediatrics*. – 2017. – Vol. 140 (5). – P. e20170697. – Doi: 10.1542/peds.2017-0697.

72. Review: Neuroinflammation in intrauterine growth restriction / J.A. Wixey, K.K. Chand, P.B. Colditz, S.T. Bjorkman // *Placenta*. – 2017. – Vol. 54. – P. 117–124. – Doi: 10.1016/j.placenta.2016.11.012.

73. Barker, D.J. In utero programming of chronic disease / D.J. Barker // *Clin Sci (London)*. – 1998. – Vol. 95 (2). – P. 115–128.

74. Neonatal and long-term consequences of fetal growth restriction / M. Colella, A. Frérot, A.R.B. Novais, O. Baud // *Curr Pediatr Rev*. – 2018. – Vol. 14 (4). – P. 212–218. – Doi: 10.2174/1573396314666180712114531.

75. Crispi, F. Intrauterine growth restriction and later cardiovascular function / F. Crispi, F. Crovetto, E. Gratacos // *Early Hum Dev*. – 2018. – Vol. 126. – P. 23–27. – Doi: 10.1016/j.earlhumdev.2018.08.013.

76. Royal College of Obstetricians and Gynecologists. The investigation and management of the small-for-gestational-age fetus. Green-top guideline no. 31. 2013. 2nd ed. – URL: https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/gtg_31.pdf.

77. Lausman, A. Intrauterine growth restriction: screening, diagnosis and management. SOGC clinical practice guideline no. 295 / A. Lausman, J. Kingdom // *J Obstet Gynaecol Can*. – 2013. – Vol. 35. – P. 741–748.

78. Guideline for the management of suspected small for gestational age singleton pregnancies and infants after 34 wk' gestation / New Zealand Maternal Fetal Medicine Network. 2014. – URL: <http://www.edu.cdhb.health.nz/Hospitals-Services/Health-Professionals/maternity-care-guidelines/Documents/NZMFM-SGA-Guideline.pdf>.

79. Fetal growth restriction recognition, diagnosis management. Clinical practice guideline no. 28. 2017. Version 1.1 / Institute of Obstetricians and Gynecologists Royal College of Physicians of Ireland. – URL: <http://www.hse.ie/eng/services/publications/Clinical-Strategyand-Programmes/Fetal-Growth-Restriction.pdf>.

80. Ведение беременности при задержке роста плода / М.Б. Ганичкина, Д.А. Мантрова, Н.Е. Кан [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2017. – № 10. – С. 5–11. – Doi: 10.18565/aig.2017.10.5-11.
81. Павлова, Н.Г. Антенатальная кардиотокография – проблемы и возможности / Н.Г. Павлова // *Журнал акушерства и женских болезней*. – 2015. – Т. 64, № 2. – С. 64–68.
82. Early onset fetal growth restriction / A. Dall'Asta, V. Brunelli, F. Prefumo [et al.] // *Matern Health Neonatol Perinatol*. – 2017. – Vol. 3. – P. 2. – Doi:10.1186/s40748-016-0041-x.
83. Митьков, В.В. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике: в 5 т. Т. 2. Акушерство, заболевания лимфатической системы, молочных и щитовидной желез / В.В. Митьков. – М.: Видар, 1996.
84. TRUFFLE study group. 2 year neurodevelopmental and intermediate perinatal outcomes in infants with very preterm fetal growth restriction (TRUFFLE): a randomised trial / C.C. Lees, N. Marlow, A. van Wassenaer-Leemhuis [et al.] // *Lancet*. – 2015. – Vol. 385 (9983). – P. 2162–2172.
85. How to monitor pregnancies complicated by fetal growth restriction and delivery before 32 weeks: post-hoc analysis of TRUFFLE study / W. Ganzevoort, N. Mensing Van Charante, B. Thilaganathan [et al.] // *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*. – 2017. – № 49. – P. 769–777.
86. Lai, E.C. Micro RNAs are complementary to 3' UTR sequence motifs that mediate negative post-transcriptional regulation / E.C. Lai // *Nat Genet*. – 2002. – Vol. 30 (4). – P. 363–364. – Doi:10.1038/ng865.
87. Calin, G.A. MicroRNA signatures in human cancers / G.A. Calin, C.M. Croce // *Nat Rev Cancer*. – 2006. – Vol. 6 (11). – P. 857–866. – Doi:10.1038/nrc1997.
88. MicroRNAs, immune cells and pregnancy / M. Bidarimath, K. Khalaj, J.M. Wessels, C. Tayade // *Cell Mol Immunol*. – 2014. – Vol. 11 (6). – P. 538–547. – Doi:10.1038/cmi.2014.45.

89. Dicer1 is essential for female fertility and normal development of the female reproductive system / X. Hong, L.J. Luense, L.K. McGinnis [et al.] // *Endocrinology*. – 2008. – Vol. 149 (12). – P. 6207–6212. – Doi:10.1210/en.2008-0294.
90. MicroRNA expression profiles of trophoblastic cells / D.M. Morales-Prieto, W. Chaiwangyen, S. Ospina-Prieto [et al.] // *Placenta*. – 2012. – Vol. 33 (9). – P. 725–734. – Doi:10.1016/j.placenta.2012.05.009.
91. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma / S.S. Chim, T.K. Shing, E.C. Hung [et al.] // *Clin Chem*. – 2008. – Vol. 54 (3). – P. 482–90. – Doi:10.1373/clinchem.2007.097972.
92. Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes / S.S. Luo, O. Ishibashi, G. Ishikawa [et al.] // *Biol Reprod*. – 2009. – Vol. 81 (4). – P. 717–729. – Doi:10.1095/biolreprod.108.075481.
93. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes / R.B. Donker, J.F. Mouillet, T. Chu [et al.] // *Mol Hum Reprod*. 2012. – Vol. 18 (8). – P. 417–424. – Doi:10.1093/molehr/gas013.
94. Review: placenta-specific microRNAs in exosomes - good things come in nano-packages / Y. Ouyang, J.F. Mouillet, C.B. Coyne, Y. Sadovsky // *Placenta*. 2013. – Vol. 35 (Suppl). – P. S69–S73. – Doi:10.1016/j.placenta.2013.11.002.
95. The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction / J.F. Mouillet, T. Chu, C.A. Hubel [et al.] // *Placenta*. – 2010. – Vol. 31 (9). – P. 781–784. – Doi:10.1016/j.placenta.2010.07.001.
96. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas / Y. Gu, J. Sun, L.J. Groome, Y. Wang // *Am J Physiol Endocrinol Metab*. – 2013. – Vol. 304 (8). – P. E836–E843. – Doi:10.1152/ajpendo.00660.2012.
97. A comprehensive survey of maternal plasma miRNAs expression profiles using high-throughput sequencing / H. Li, L. Guo, Q. Wu [et al.] // *Clin Chim Acta*. – 2012. – Vol. 413 (5–6). – P. 568–576. – Doi:10.1016/j.cca.2011.11.026.
98. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor / K. Mayor-Lynn,

T. Toloubeydokhti, A.C. Cruz, N. Chegini // *Reprod Sci.* – 2011. – Vol. 18 (1). – P. 46–56. – Doi:10.1177/19337191110374115.

99. MiR-205 silences MED1 in hypoxic primary human trophoblasts / J.F. Mouillet, T. Chu, D.M. Nelson // *FASEB J.* – 2010. – Vol. 24 (6). – P. 2030–2039. – Doi:10.1096/fj.09-149724.

100. MicroRNA-378a-5p promotes trophoblast cell survival, migration and invasion by targeting Nodal / L. Luo, G. Ye, L. Nadeem [et al.] // *J Cell Sci.* – 2012. – Vol. 125 (Pt 13). – P. 3124–3132. – Doi:10.1242/jcs.096412.

101. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia / B.L. Pineles, R. Romero, D. Montenegro [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2007. – Vol. 196 (3). – P. 261.e1–6.

102. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies / X.M. Zhu, T. Han, I.L. Sargent [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2009. – Vol. 200 (6). – P. 661.e1–7. – Doi:10.1016/j.ajog.2008.12.045.

103. Potential role of circulating microRNAs as early markers of preeclampsia / B. Ura, G. Feriotto, L. Monasta [et al.] // *Taiwan J Obstet Gynecol.* – 2014. – Vol. 53 (2). – P. 232–234. – Doi:10.1016/j.tjog.2014.03.001.

104. MicroRNA expression profiles in placenta with severe preeclampsia using a PNA-based microarray / S.Y. Choi, J. Yun, O.J. Lee [et al.] // *Placenta.* – 2013. – Vol. 34 (9). – P. 799–804. – Doi:10.1016/j.placenta.2013.06.006.

105. Chan, S.Y. MicroRNA-210: a unique and pleiotropic hypoxamir / S.Y. Chan, J. Loscalzo // *Cell Cycle.* – 2010. – Vol. 9 (6). – P. 1072–1083. – Doi:10.4161/cc.9.6.11006.

106. A hypoxia-induced positive feedback loop promotes hypoxia-inducible factor 1alpha stability through miR-210 suppression of glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like / T.J. Kelly, A.L. Souza, C.B. Clish, P. Puigserver // *Mol Cell Biol.* – 2011. – Vol. 31 (13). – P. 2696–2706. – Doi:10.1128/MCB.01242-10

107. Идентификация ассоциированных с преэклампсией микроРНК методом глубокого секвенирования и количественной полимеразной цепной реакции в

реальном времени / А.В. Тимофеева, В.А. Гусар, К.Н. Прозоровская [и др.] // *Акушерство и гинекология*. – 2016. – № 8. – С. 60–70. – Doi: 10.18565/aig.2016.8.60-70.

108. Maccani, M.A. MiR-16 and miR-21 expression in the placenta is associated with fetal growth / M.A. Maccani, J.F. Padbury, C.J. Marsit // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6 (6). – P. e21210. – Doi:10.1371/journal.pone.0021210.

109. Reduced cystathionine γ -lyase and increased miR-21 expression are associated with increased vascular resistance in growth-restricted pregnancies: hydrogen sulfide as a placental vasodilator / T. Cindrova-Davies, E.A. Herrera, Y. Niu [et al.] // *Am J Pathol*. – 2013. – Vol. 182 (4). – P. 1448–1458. – Doi:10.1016/j.ajpath.2013.01.001.

110. *Акушерство: национальное руководство* / Э.К. Айламазян, В.И. Кулаков, В.Е. Радзинский, Г.М. Савельева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 1200 с.

111. Dicer-dependent miRNAs provide an endogenous restraint on cytotrophoblast proliferation / K. Forbes, F. Farrokhnia, J.D. Aplin, M. Westwood // *Placenta*. – 2012. – Vol. 33 (7). – P. 581–585. – Doi:10.1016/j.placenta.2012.03.006.

112. MicroRNA-155 is involved in the remodelling of human-trophoblast-derived HTR-8/SVneo cells induced by lipopolysaccharides / Y. Dai, Z. Diao, H. Sun [et al.] // *Hum Reprod*. – 2011. – Vol. 26 (7). – P. 1882–1891. – Doi:10.1093/humrep/der118.

113. Altered expression of miR-518b and miR-519a in the placenta is associated with low fetal birth weight / D. Wang, Q. Na, W.W. Song, G.Y. Song // *Am J Perinatol*. – 2014. – Vol. 31 (9). – P. 729–734. – Doi:10.1055/s-0033-1361832.

114. MiR-518b enhances human trophoblast cell proliferation through targeting rap1b and activating ras-MAPK signal / M. Liu, Y. Wang, H. Lu [et al.] // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2018. – Vol. 9. – P. 100. – Doi:10.3389/fendo.2018.00100.

115. Бурлев, В.А. Ангиогенез и ангиогенные факторы роста в регуляции репродуктивной системы у женщин / В.А. Бурлев, С.В. Павлович // *Проблемы репродукции*. – 1999. – № 5. – С. 6–13.

116. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus expresses an array of viral microRNAs in latently infected cells / X. Cai, S. Lu, Z. Zhang [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2005. – Vol. 102 (15). – P. 5570–5575. – Doi:10.1073/pnas.0408192102.

117. Endogenous microRNAs in human microvascular endothelial cells regulate mRNAs encoded by hypertension-related genes / A.J. Kriegel, M.A. Baker, Y. Liu [et al.] // *Hypertension*. – 2015. – Vol. 66 (4). – P. 793–799. – Doi:10.1161/hypertensionaha.115.05645.

118. Differential secretion of angiopoietic factors and expression of microRNA in umbilical cord blood from healthy appropriate-for-gestational-age preterm and term newborns – in search of biomarkers of angiogenesis-related processes in preterm birth / D. Gródecka-Szwajkiewicz, Z. Ułańczyk, E. Zagrodnik [et al.] // *Int J Mol Sci*. – 2020. – Vol. 21 (4). – P. 1305. – Doi:10.3390/ijms21041305.

119. MicroRNA-125a/b-5p inhibits endothelin-1 expression in vascular endothelial cells / D. Li, P. Yang, Q. Xiong [et al.] // *J Hypertens*. – 2010. – Vol. 28 (8). – P. 1646–1654. – Doi:10.1097/HJH.0b013e32833a4922.

120. ROS-dependent neuroprotective effects of NaHS in ischemia brain injury involves the PARP/AIF pathway / Q. Yu, Z. Lu, L. Tao [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem*. – 2015. – Vol. 36 (4). – P. 1539–1551. – Doi:10.1159/000430317.

121. International network of cancer genome projects. International Cancer Genome Consortium / T.J. Hudson, W. Anderson, A. Artez [et al.] // *Nature*. 2010. – Vol. 464 (7291). – P. 993–998. – Doi:10.1038/nature08987.

122. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia / D.A. Enquobahrie, D.F. Abetew, T.K. Sorensen [et al.] // *Am J Obstet Gynecol*. – 2011. – Vol. 204 (2). – P. 178.e12–21. – Doi:10.1016/j.ajog.2010.09.004.

123. Serum microRNAs are promising novel biomarkers / S. Gilad, E. Meiri, Y. Yogevev [et al.] // *PLoS One*. – 2008. – Vol. 3 (9). – P. e3148. – Doi:10.1371/journal.pone.0003148.

124. Анализ метаболических путей при задержке роста плода / Н.Е. Кан, З.В. Хачатрян, В.В. Чаговец [и др.] // *Биомедицинская химия*. – 2020. – Т. 66, вып. 2. – С. 174–180. – Doi: 10.18097/PBMC20206602174.

125. Sharma, D. Intrauterine growth restriction: Antenatal and postnatal aspects / D. Sharma, S. Shastri, P. Sharma // *Clin Med Insights Pediatr.* 2016. – Vol. 10. – P. 67–83. – Doi: 10.4137/CMPed.S40070.
126. Fahey, J. Intrauterine asphyxia: clinical implications for providers of intrapartum care / J. Fahey, T.L. King // *J Midw Womens Health.* – 2005. – Vol. 50. – P. 498–506.
127. Baschat, A.A. Neurodevelopment after fetal growth restriction / A.A. Baschat // *Fetal Diagn Ther.* – 2014. – Vol. 36 (2). – P. 136–142. – Doi: 10.1159/000353631.
128. Клинико-анамнестические особенности, осложнения беременности и исходы родов при синдроме задержки роста плода / В.Ф. Долгушина, Н.К. Вереина, Ю.В. Фартунина [и др.] // *Уральский медицинский журнал.* – 2019. – № 12 (180). – С. 70–74. – Doi: 10.25694/URMJ.2019.12.16.
129. Ивих, К.А. Клинико-анамнестическая характеристика женщин с синдромом задержки роста плода / К.А. Ивих, Е.С. Коростелева // *Innova.* – 2017. – № 3 (8). – С. 28–30.
130. Алирзаева, Х. Оценка факторов риска развития задержки роста плода / Х. Алирзаева // *Здоровье женщины.* – 2020. – № 9–10 (155–156). – С. 50–53. – Doi: 10.15574/HW.2020.155-156.50.
131. Особенности анамнеза, течения беременности и исходы родов при задержке роста плода в сочетании с преэклампсией / В.Ф. Долгушина, Ю.В. Фартунина, Н.К. Вереина [и др.] // *Уральский медицинский журнал.* – 2020. – № 3 (186). – С. 164–168. – Doi: 10.25694/URMJ.2020.03.32.
132. Санькова, Е.О. Задержка роста плода: факторы риска / Е.О. Санькова, И.В. Хунданов // *Научный медицинский вестник Югры.* – 2019. – № 2 (20). – С. 108–109. – DOI 10.25017/2306-1367-2019-19-2-108-109.
133. Clinical significance of subchorionic and retroplacental hematomas detected in the first trimester of pregnancy / S. Nagy, M. Bush, J. Stone [et al.] // *Orv. Hetil.* – 2005. – Vol. 146 (42). – P. 2157–2161.

134. Threatened abortion: A risk factor for poor pregnancy outcome, a population-based screening study / J.L. Weiss, F.D. Malone, J. Vidaver [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 190 (3). – P. 745–750.

135. Maternal and perinatal outcome in women with threatened miscarriage in the first trimester: a systematic review / L. Saraswat, S. Bhattacharya, A. Maheshwari, S. Bhattacharya // *BJOG.* – 2010. – Vol. 117 (3). – P. 245–257.

136. Perinatal outcomes in women with subchorionic hematoma. A systematic review and meta-analysis / M.G. Tuuli, S.M. Norman, A.O. Odibo [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2011. – Vol. 117 (5). – P. 1205–1212.

137. Ultrasound-detected subchorionic hemorrhage and the obstetric implications / S.M. Norman, A.O. Odibo, G.A. Macones [et al.] // *Obstet. Gynecol.* – 2010. – Vol. 116 (2, pt. 1). – P. 311–315.

138. Eskild, A. Abnormal bleeding associated with preeclampsia: a population study of 315,085 pregnancies / A. Eskild, L.J. Vatten // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2009. – Vol. 88 (2). – P. 154–158. – Doi: 10.1080/00016340802613242.

139. First-trimester serum PAPP-A and f β -hCG concentrations and other maternal characteristics to establish logistic regression-based predictive rules for adverse pregnancy outcome / R. van Ravenswaaij, M. Tesselaar-van der Goot, S. de Wolf [et al.] // *Prenat Diagn.* – 2011. – Vol. 31 (1). – P. 50–57. – Doi: 10.1002/pd.2610.

140. Low maternal PAPP-A is associated with small-for-gestational age newborns and stillbirths / J. Marttala, S. Peuhkurinen, P. Laitinen [et al.] // *Acta Obstet Gynecol Scand.* – 2010. – Vol. 89 (9). – P. 1226–1228. – Doi: 10.3109/00016349.2010.493195.

141. First trimester maternal serum free beta human chorionic gonadotrophin and pregnancy associated plasma protein A as predictors of pregnancy complications / C.Y. Ong, A.W. Liao, K. Spencer [et al.] // *BJOG.* – 2000. – Vol. 107 (10). – P. 1265–1270. – Doi: 10.1111/j.1471-0528.2000.tb11618.x.

142. Peterson, S.E. First-trimester pregnancy-associated plasma protein A and subsequent abnormalities of fetal growth / S.E. Peterson, H.N. Simhan // *Am J Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 198 (5). – P. e43-5. – Doi: 10.1016/j.ajog.2007.12.026.

143. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial) / L. Dugoff, J.C. Hobbins, F.D. Malone [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2004. – Vol. 191 (4). – P. 1446–1451. – Doi: 10.1016/j.ajog.2004.06.052.

144. Говоруха, И.Т. Результативность использования биохимических маркеров пренатального скрининга для выявления синдрома задержки роста плода / И.Т. Говоруха, А.А. Железная, К.В. Шаров // *Медико-социальные проблемы семьи.* – 2020. – Т. 25, № 3. – С. 16–19.

145. First-trimester uterine artery doppler for the prediction of SGA at birth: the great obstetrical syndromes study / O. Drouin, A. Boutin, K. Paquette [et al.] // *J Obstet Gynaecol Can.* – 2018. – Vol. 40 (12). – P. 1592–1599.

146. Prediction of small-for-gestational-age neonates: screening by uterine artery Doppler and mean arterial pressure at 19–24 weeks / C. Lesmes, D.M. Gallo, Y. Saiid [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2015. – Vol. 46 (3). – P. 332–340.

147. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis / J.S. Cnossen, R.K. Morris, G. ter Riet [et al.] // *CMAJ.* – 2008. – Vol. 178 (6). – P. 701–711. – Doi: 10.1503/cmaj.070430.

148. Орлов, А.В. Этиопатогенетические аспекты развития плацентарной недостаточности и задержки роста плода / А.В. Орлов, Е.И. Кудинова // *Журнал фундаментальной медицины и биологии.* – 2016. – № 4. – С. 4–10.

149. Placental pathology in relation to uterine artery doppler findings in pregnancies with severe intrauterine growth restriction and abnormal umbilical artery doppler changes / K. Levytska, M. Higgins, S. Keating [et al.] // *Am J Perinatol.* – 2017. – Vol. 34 (5). – P. 451–457.

150. Progression of Doppler abnormalities in intrauterine growth restriction / O.M. Turan, S. Turan, S. Gungor [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2008. – Vol. 32 (2). – P. 160–167. – Doi: 10.1002/uog.5386.

151. Trudinger, B.J. Doppler umbilical and uterine flow waveforms in severe pregnancy hypertension / B.J. Trudinger, C.M. Cook // *Br J Obstet Gynaecol.* – 1990. – Vol. 97 (2). – P. 142–148. – Doi: 10.1111/j.1471-0528.1990.tb01739.x.

152. Baschat, A.A. Fetal growth restriction – from observation to intervention / A.A. Baschat // *J Perinat Med.* – 2010. – Vol. 38 (3). – P. 239–246. – Doi: 10.1515/jpm.2010.041.

153. Evaluation of an optimal gestational age cut-off for the definition of early- and late-onset fetal growth restriction / S. Savchev, F. Figueras, M. Sanz-Cortes [et al.] // *Fetal Diagn Ther.* – 2014. – Vol. 36 (2). – P. 99–105.

154. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study / J. Unterscheider, S. Daly, M.P. Geary [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 2013. – Vol. 208 (4). – P. 290.e1-6. – Doi: 10.1016/j.ajog.2013.02.007.

155. Brar, H.S. Reverse end-diastolic flow velocity on umbilical artery velocimetry in high-risk pregnancies: an ominous finding with adverse pregnancy outcome / H.S. Brar, L.D. Platt // *Am J Obstet Gynecol.* – 1988. – Vol. 159 (3). – P. 559–561.

156. Absent end-diastolic velocity in umbilical artery: risk of neonatal morbidity and brain damage / A. Valcamonico, L. Danti, T. Frusca [et al.] // *Am J Obstet Gynecol.* – 1994. – Vol. 170 (3). – P. 796–801.

157. Relationship between monitoring parameters and perinatal outcome in severe, early intrauterine growth restriction / C.M. Bilardo, H. Wolf, R.H. Stigter [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2004. – Vol. 23 (2). – P. 119–125. – Doi: 10.1002/uog.965.

158. Метилирование генов TLR2 и импринтинг-контролирующей области IGF2/H19 в плазме крови при задержке роста плода / Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник, З.В. Хачатрян [и др.] // *Акушерство и гинекология.* – 2021. – № 5. – С. 79–84. – Doi: 10.18565/aig.2021.5.79-84.

159. Волочаева, М.В. Современные представления о патогенезе задержки роста плода / М.В. Волочаева, О.Р. Баев // *Акушерство и гинекология.* – 2021. – № 8. – С. 13–17. – Doi: 10.18565/aig.2021.8.13-17.

160. Нерсисян, С.А. Факторы, участвующие в созревании микроРНК, изменяют уровень своей экспрессии при имитации гипоксии плаценты в клетках BeWo b30 / С.А. Нерсисян, М.Ю. Шкурников, Е.Н. Князев // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. – Т. 493, № 1. – С. 385–388. – Doi: 10.31857/s2686738920040186.

161. Жук, С.И. Исследование микроРНК-21 и микроРНК-210 в пуповинной крови как потенциальных биомаркеров дистресса плода / С.И. Жук, О.Д. Щуревская // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2018. – Т. 8, № 6. – С. 832–837.

162. Bioinformatic analysis to explore key genes associated with brain ischemia-reperfusion injury in rats / H. Ke, X. Zhang, L. Cheng [et al.] // Int J Neurosci. – 2019. – Vol. 129 (10). – P. 945–954. – Doi: 10.1080/00207454.2019.1595615.

163. MiR-125 Family in Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases / Y. Wang, J. Tan, L. Wang [et al.] // Front Cell Dev Biol. – 2021. – Vol. 9. – P. 799049. – Doi: 10.3389/fcell.2021.799049.

164. Inhibition of MiRNA-125b Decreases Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury by Targeting CK2 α /NADPH Oxidase Signaling / Y. Liang, J. Xu, Y. Wang [et al.] // Cell Physiol Biochem. – 2018. – Vol. 45 (5). – P. 1818–1826. – Doi: 10.1159/000487873.

165. MiR-125b inhibits cardiomyocyte apoptosis by targeting BAK1 in heart failure / B. Zhang, S. Mao, X. Liu [et al.] // Mol Med. – 2021. – Vol. 27 (1). – P. 72. – Doi: 10.1186/s10020-021-00328-w.

166. Апоптоз и его роль в формировании фетоплацентарной недостаточности / И.С. Липатов, Ю.В. Тезиков, А.В. Быков [и др.] // Вестник Самарского государственного университета. – Сер. Естественная. – 2006. – № 4–4 (44). – С. 220–226.

167. MicroRNAs and Endometrial Pathophysiology / H.H. Chill, U.P. Dior, L. Kogan, A. Revel // Adv Exp Med Biol. – 2015. – Vol. 887. – P. 143–145. – Doi: 10.1007/978-3-319-22380-3_8.

Приложение А. Индивидуальный алгоритм ведения беременных с задержкой роста плода



, где p – значение регрессионной функции $p = 1 / (1 + e^{-z}) * 100\%$ при $z = -3,77 - 6,48 * X_{\text{PAPPA-A}} + 0,156 * X_{\text{miR125b}}$