

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КУПЧІК ВЛАДИСЛАВА ІГОРІВНА

УДК 618.39-092-02:618.36-008.6

ДИСЕРТАЦІЯ

**НОВІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ПЕРЕДЧАСНИХ
ПОЛОГІВ ПРИ ПЛАЦЕНТАРНИХ ПОРУШЕННЯХ**

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень.

Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають

посилання на відповідне джерело

_____ В. І. Купчік

Науковий керівник:

ВЕНЦКІВСЬКА ІРИНА БОРИСІВНА

доктор медичних наук, професор.

КИЇВ – 2023

АНОТАЦІЯ

Купчік В.І. Нові аспекти патогенезу передчасних пологів при плацентарних порушеннях. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 Охорона здоров'я за спеціальністю 222 Медицина. (наукова спеціальність «Акушерство та гінекологія»). – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця. – Київ, 2023

Дисертаційна робота присвячена питанню профілактики передчасних пологів шляхом отримання нових даних щодо патогенетичних варіантів передчасної пологової діяльності на тлі плацентарних порушень.

Дослідження виконувалось на базі КНП «Перинатальний центр м. Києва», який є клінічною базою кафедри акушерства і гінекології №1 Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, протягом 2019-2023 рр.

За мету було поставлено підвищення ефективності діагностики причин передчасної пологової діяльності (ПерП) на тлі плацентарних порушень (ПлаП) шляхом визначення маркерів дисфункції плаценти. Для досягнення встановленої мети були поставлені наступні завдання: вивчення особливостей акушерсько-гінекологічного та соматичного анамнезів жінок із передчасними пологами на тлі плацентарних порушень; оцінка у них стану піхвового біоценозу та його зв'язку з розвитком передчасної пологової діяльності; визначення активності р65-субодиниці фактору транскрипції NF-κB у плаценті жінок з передчасними пологами на фоні плацентарних порушень; дослідження співвідношення Т-хелперів I та II типів у зразку крові з наступним встановленням залежності змін показника

від активності р65-субодиниці NF-κB; проведення оцінки рівнів інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-1β у сироватці крові з встановленням залежності їх концентрації від активності р65 NF-κB; дослідження активності каспази-3 у плаценті, а також концентрації каспази-3 у сироватці крові жінок із передчасними пологами і плацентарними порушеннями; визначення ролі поліморфізму гену VEGF (936C/T) у розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів.

У ході роботи було обстежено 147 вагітних, які були поділені на III групи: основну (ГО), порівняльну (ГП) та контрольну (ГК). До основної групи увійшли 107 жінок із передчасними пологами у терміні гестації 28-33⁺⁶ тижні на фоні плацентарних порушень. Наявність ПлаП встановлювали за наявністю хоча б 2 біохімічних критеріїв, які визначались шляхом аналізу даних дослідження плацентарних та плодових гормонів (бета-субодиниця хоріонічного гонадотропіну людини, некон'югований естріол, альфа-фетопротеїн, асоційований з вагітністю білок А < 0,5 МоМ) при першому та другому пренатальних скринінгах та 1 ультразвукового критерію (індексів резистентності кровотоку у артеріях пуповини вище 90 перцентилю). В залежності від наявності запалення та дисбіозу статевих шляхів (що визначалось при комбінованому аналізі даних мікроскопії вагінального мазка та проведення полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі виділень статевих шляхів) вагітні основної групи ділились на групу I (I та II ступені чистоти піхви, відсутній за даними полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) дисбіоз вагінального тракту) та II (III та IV ступені чистоти піхви, наявний дисбіоз вагінального тракту за при проведенні ПЛР), а залежно від клінічного перебігу передчасних пологів - на підгрупи А (із наявністю передчасного розриву плодових оболонок (ПРПО) до початку пологової діяльності) та Б (без ПРПО). До групи контролю

увійшло 20 вагітних з фізіологічним перебігом вагітності (в т.ч. у терміні 28-33⁺⁶ тижні гестації, що було встановлено ретроспективно) та нормальними пологами у доношеному терміні. Додатково було сформовано групу порівняння: 20 вагітних із передчасними пологами без ознак плацентарних порушень.

Результати проведеного вивчення анамнестичних даних виявили, що у всіх досліджуваних групах вік пацієнток коливався від 20 до 45 років, в середньому склавши $30,2 \pm 5,9$ років у групі I-A; $30,4 \pm 7,0$ років у групі I-B; $26,6 \pm 6,3$ років у групі II-A; $27 \pm 6,1$ років у групі II-B, $29 \pm 5,4$ роки у групі порівняння та $31,9 \pm 6,5$ років у контрольній групі. Віковий розподіл вагітних не мав достовірних відмінностей ($p > 0,05$) між підгрупами, а також при співставленні із групами порівняння та контролю, але при аналізі наявності різниці у віці пацієнток між групами I і II без поділу на підгрупи було знайдено достовірну відмінність ($p = 0,007$), тобто привертає увагу той факт, що для групи з виявленою інфекцією та запаленням статевих шляхів характерний більш юний вік вагітних, що може бути пояснено розвитком специфічних та неспецифічних запальних процесів внаслідок особливостей статевої поведінки.

При вивченні акушерсько-гінекологічного анамнезу встановлено, що жінкам з плацентарними порушеннями та передчасними пологами властиві: наявність репродуктивних втрат при попередніх вагітностях, таких як мимовільний викидень (27,6%) та завмерлий плід (20,8%); захворювань із в'ялоперебігаючим запаленням ендометрію: ендометріоз (16,1%), хронічні запальні захворювання статевого тракту (23%); перенесеної в попередній вагітності прееклампсії (16,4%). Факторами ризику розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів при цьому виявились тютюнопаління (25,2%), вживання алкоголю (19,6%),

перенесення гострих респіраторних вірусних інфекцій (29,7%), перенесення SARS-CoV-2 інфікування (22,6%) при поточній вагітності; персистенція стану хронічного стресу на ранніх термінах вагітності (33,7%). Ранніми ознаками розвитку плацентарних порушень виявились наявність ранніх гестозів – 46,3% та ознак загрозливого викидня у вигляді кровотечі із статевих шляхів до 12 тижнів вагітності (22,1%). Соматичному анамнезу властиві були наявність відхилень від нормальних значень ІМТ (у сторону збільшення – 19,6%; у сторону зменшення – 16,8%).

При вивченні стану піхвового біоценозу було встановлено, що розвиток спонтанної передчасної пологової діяльності при плацентарних порушеннях відбувається незалежно від наявності інфекційного та запального чиннику: у 56% обстежених жінок не було знайдено ознак запалення та дисбіозу вагінального тракту. При цьому в разі виявлення дисбіотичних змін у статевих шляхах по даним ПЛР спостерігалась певна залежність клінічного перебігу передчасних пологів при плацентарних порушеннях залежно від характеру збудника. Так, роділлям з передчасним розривом плодових оболонок більш властивим є виявлення ознак запалення та високих титрів асоціацій *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (43,5% проти 16,7% в групах пологової діяльності на тлі цілого плодового міхура), *Mycoplasma genitalium* (25,0% проти 4,2%), уреоплазм (21,7% проти 8,3%). Натомість роділлям з початком передчасних пологів на тлі інтактних мембран більш притаманним є інфікування *Atopobium vaginae* (37,5% проти 13,0% в групах ПРПО), *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. (33,3% проти 8,7%), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. (41,6% проти 21,7%).

При вивченні p65-субодиниці ядерного фактору κB (p65NFκB) було встановлено, що у вагітних із розвитком плацентарних порушень та передчасних пологів характерною була підвищена активність вказаного фактору транскрипції у порівнянні із фізіологічним перебігом пологів, а також із передчасними пологами без ПлаП. Більш високі значення показника активності p65NFκB спостерігались у підгрупах жінок з запаленням та дисбіозом статевих шляхів II-A ($65,4 \pm 7,6\%$) та II-B ($72,8 \pm 7,4\%$, $p < 0,01$ і з ГП, і з ГК), у жінок першої основної групи без запалення та дисбіозу також спостерігались вищі показники активності p65NFκB, але ступінь змін був дещо менш вираженим ($39,3 \pm 5,1\%$ у групі I-A, $40,2 \pm 6,8\%$ у групі I-B, $p < 0,05$). Такі зміни свідчать про запуск активації p65-субодиниці ядерного фактору гіпоксією при порушеннях адекватного функціонування плаценти, а також факторами патогенності мікроорганізмів, що призводить до розвитку передчасної пологової діяльності.

Схожі дані було отримано стосовно співвідношення T-хелперів I та II типів у крові пацієток: показник виявився найвищим у другій групі жінок (із запаленням та дисбіозом статевого тракту) - $2,23 \pm 0,2$ для вагітних групи II-A та $2,39 \pm 0,7$ для групи II-B ($p < 0,01$ і з ГП, і з ГК), також досить високим це співвідношення було і у першій групі пацієток основної когорти (підгрупа I-A $1,41 \pm 0,5$; для підгрупи I-B - $1,56 \pm 0,2$, $p < 0,05$ і з ГП, і з ГК). Зважаючи на подібність виявлених відхилень із даними активності p65NFκB, був виконаний кореляційний аналіз між вищевказаними показниками та встановлено сильний прямий зв'язок між співвідношенням Th1/Th2 та показником активності p65-субодиниці NF-κB ($r = 0,8$; $p < 0,01$). Дані результати свідчать про наявність зсуву у прозапальну сторону балансу T-хелперів I та II типів та активацію імунної відповіді у

жінок із передчасними пологами на фоні плацентарних порушень, що, вірогідніше за все, може бути пов'язане із збільшенням активності p65NFκB.

Схожим чином також повів себе показник концентрації прозапального інтерлейкіну-1β у сироватці крові: у вагітних з запаленням та дисбіозом статевих шляхів II-A (з ПРПО) він становив $128,5 \pm 3,1$ ммоль/л, у підгрупі II-B (без ПРПО) - $139,5 \pm 1,3$ ммоль/л проти $77,3 \pm 2,3$ ммоль/л у контрольній групі та $73,6 \pm 3,5$ ммоль/л у групі порівняння ($p < 0,01$). Що стосується жінок групи I, у них концентрація вказаного прозапального цитокіну також була вищою, але на рівні достовірності $p < 0,05$: $89,7 \pm 2,9$ ммоль/л для підгрупи I-A та $95,1 \pm 3,1$ ммоль/л для жінок з підгрупи I-B. Також, було встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок між концентрацією інтерлейкіну-1β та активністю p65-субодиниці NF-κB ($r = 0,8$; $p < 0,01$). Зважаючи на потужну прозапальну роль даного цитокіну, зазначені дані свідчать про підвищену активність запальних процесів при плацентарних порушеннях у жінок всіх груп, що може бути пов'язано із підвищеною активністю NF-κB.

Концентрація інтерлейкіну-6, який може виступати у різних біохімічних процесах організму як про-, так і протизапальним цитокіном, була найвищою у жінок із відсутністю запалення та дисбіозу статевих шляхів ($119,7 \pm 1,7$ ммоль/л у групі I-A, $108,1 \pm 2,9$ ммоль/л у групі I-B, $p < 0,01$ і з ГП, і з ГК) та дещо більш високою у вагітних із групи II ($94,3 \pm 7,4$ ммоль/л для групи II-A та $89,6 \pm 2,3$ у групі II-B, $p < 0,05$ і з ГП, і з ГК). При внутрішньогруповому порівнянні встановлено вищі концентрації IL-6 у жінок із підгруп I-A та II-A з ПРПО ($p < 0,05$). При проведенні кореляційного аналізу не було встановлено зв'язку із активністю p65-субодиниці NF-κB ($r = -0,017$; $p > 0,05$). Зазначені дані свідчать, що при виявленні

інтерлейкіну-6 у жінок із плацентарними порушеннями можна очікувати у них розвиток передчасних пологів навіть при відсутності ознак активного запального процесу у статевих шляхах, а також імовірний розвиток ПРПО у жінок з підвищеним рівнем даного інтерлейкіну у сироватці.

Активність каспази-3, а також пов'язаний із нею сильним прямим кореляційним зв'язком показник концентрації каспази-3 у сироватці крові, виявились достовірно вищими при плацентарних порушеннях та передчасних пологах при співставленні з ГК та ГП, але на відміну від усіх попередніх показників, значення цього параметру були найвищими у першій групі жінок: $68,3 \pm 1,7\%$ у підгрупі I-A та $59,7 \pm 7,3\%$ у підгрупі I-B ($p < 0,01$ і з ГП, і з ГК). У групі II значення згаданих показників були дещо нижчими, але вірогідно відрізнялись від груп порівняння і контролю ($p < 0,05$ і з ГП, і з ГК): $30,4 \pm 5,1\%$ для жінок підгрупи II-A та $28,4 \pm 3,3\%$ у вагітних підгрупи II-B. При внутрішньогруповому аналізі було встановлено, що активність каспази-3 є вищою у жінок із груп I-A та II-A з ПРПО ($p < 0,05$). Отримані дані свідчать, що процеси апоптозу загалом мають вищу активність у жінок із передчасними пологами на фоні плацентарних порушень і можуть грати роль у активації передчасної пологової діяльності у вагітних без проявів активного запального процесу у статевих шляхах, а також про асоціацію підвищення активності каспази-3 із розвитком передчасного розриву плодових оболонок.

При дослідженні одонуклеотидного поліморфізму гену VEGF (936C/T) виявлено, що наявність алелі «Т» достовірно частіше зустрічається у жінок із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів (15,0% проти групи контролю – 2,5% та групою порівняння - 5,0%). Це свідчить про генетичну зумовленість

виникнення у таких жінок плацентарних порушень та передчасних пологів як їх ускладнення.

Підвищене співвідношення Th1/Th2 та інтерлейкіну-1 β у жінок з плацентарними порушеннями є фактором ризику передчасної пологової діяльності на тлі інтактних мембран та інфекційного процесу в піхві, а каспази-3 та інтерлейкіну-6 – передчасного розродження шляхом передчасного розриву плодових оболонок без інфекційно-запального процесу в статевих шляхах.

На основі вищенаведеного можна зробити висновок, що при наявності плацентарних порушень виникають додаткові чинники розвитку передчасних пологів: надмірна активація p65-субодиниці ядерного фактору κB та каспази-3, та результуючі від них збільшення цитокінів IL-1 β і IL-6, підвищення співвідношення Th1/Th2, що створює прозапальне та імунологічно несприятливе середовище для прогресування вагітності. Наявність поліморфізму гену VEGF (936C/T), особливо гомозиготного набору алелів T/T, є чинником ризику виникнення плацентарних порушень у вагітних.

Для закладів охорони здоров'я надані практичні рекомендації щодо можливості визначення співвідношення Th1/Th2, IL-6 та IL-1 β і каспази-3 у крові вагітних при отриманні відхилень від нормальних значень плацентарних гормонів після проведення першого та другого пренатального скринінгів в якості предикторів розвитку у них передчасних пологів. Також надано рекомендацію визначення наявності у вагітних поліморфізму гену васкулярного ендотеліального фактора росту 936 (C/T) з метою прогнозування розвитку у них плацентарних порушень у них.

Ключові слова: передчасні пологи, плацента, плацентарні порушення, передчасний розрив плодових оболонок, p65NF- κB , T-хелпери, каспаза-3, VEGF, мікробіоценоз статевих шляхів, дисбіоз

підви, ускладнення гестаційного періоду, фетоплацентарний комплекс, вагітність, акушерські ускладнення, інтерлейкіни.

SUMMARY

Kupchik V.I. New aspects of preterm labour pathogenesis during placental disorders. - Qualifying scientific work as a manuscript.

PhD degree dissertation in the field of study 22 Healthcare by Program Subject Area 222 Medicine. – Bogomolets National Medical University, Ukraine, Kyiv, 2023.

The dissertation focuses on the prevention of premature birth by obtaining new data on pathogenetic variants of premature labor on the background of placental disorders.

The study was carried out on the basis of the Kyiv Perinatal Center, which is the clinical base of the Department of Obstetrics and Gynecology №1 of the Bogomolets National Medical University in 2019-2023.

The goal was to reduce perinatal morbidity and mortality by improving the effectiveness of diagnosing the causes of premature labor (PreL) against the background of placental disorders (PlaD). To achieve the established goal, the following tasks were set: to study the peculiarities of the obstetric-gynecological and somatic anamnesis of women with premature birth on the background of placental disorders; to assess the state of vaginal biocenosis in these women and its connection with the development of premature birth activity; to determine the activity of the p65-subunit of the nuclear κ B transcription factor (NF- κ B) in the placenta of women with premature birth with the background of placental disorders; to study the ratio of T-helpers of types I and II in a blood sample followed by establishing the dependence of changes in the indicator on the activity of the p65 subunit of NF- κ B; to assess the levels of interleukin-6 and interleukin-1 β in blood serum with the establishment of the dependence of their concentration on the activity of p65 NF- κ B; to study the activity of caspase-3 in the placenta, as well as the

concentration of caspase-3 in the blood serum of women with premature birth and placental disorders; to determine the role of the vascular endothelial growth factor gene polymorphism (936C/T) in the development of placental disorders and premature birth.

In the course of the work, 147 pregnant women were examined, who were divided into III groups: main (MG), comparative (CmG) and control (CnG). The main group included 107 women with premature birth at 28-33+6 weeks of gestation due to placental disorders. The presence of PlaD was determined by the presence of at least 2 biochemical criteria, which were determined by analyzing the data of placental and fetal hormones (beta subunit of human chorionic gonadotropin, unconjugated estriol, alpha-fetoprotein, pregnancy-associated protein A < 0.5 MoM) at the first and second prenatal screenings and 1 ultrasound criterion (indices of blood flow resistance in the umbilical cord arteries above the 90th percentile). Depending on the presence of inflammation and dysbiosis of the genital tract (which was determined by the combined analysis of vaginal smear microscopy data and real-time polymerase chain reaction of genital tract secretions), pregnant women of the main group were divided into group I (I and II degrees of vaginal cleanliness, absent according to polymerase chain reaction chain reaction (PCR) dysbiosis of the vaginal tract) and II (III and IV degrees of vaginal cleanliness, the presence of dysbiosis of the vaginal tract according to PCR), and depending on the clinical course of premature birth - into subgroups A (with the presence of preterm premature rupture of membranes (PPROM) before the start of labor) and B (without PPRM). The control group included 20 pregnant women with a physiological course of pregnancy (including in the period of 28-33+6 weeks of gestation) and normal delivery at full term. In addition, a comparison

group was formed: 20 pregnant women with premature birth without signs of placental disorders.

The results of the study of the anamnestic data revealed that in all studied groups the age of the patients ranged from 20 to 45 years, with an average of 30.2 ± 5.9 years in group I-A; 30.4 ± 7.0 years in group I-B; 26.6 ± 6.3 years in group II-A; 27 ± 6.1 years in the II-B group, 29 ± 5.4 years in the comparison group and 31.9 ± 6.5 years in the control group. The age distribution of pregnant women did not have significant differences ($p > 0.05$) between subgroups, as well as when comparing with comparison and control groups, but when analyzing the presence of a difference in the age of patients between groups I and II without dividing into subgroups, a significant difference was found ($p = 0.007$), i.e. the fact that the group with detected infection and inflammation of the genital tract is characterized by a younger age of pregnant women, which can be explained by the development of specific and non-specific inflammatory processes due to the peculiarities of sexual behavior.

When studying the obstetric and gynecological anamnesis, it was established that women with placental disorders and premature births are characterized by: the presence of reproductive losses in previous pregnancies, such as spontaneous abortion (27.6%) and frozen fetus (20.8%); diseases with sluggish inflammation of the endometrium: endometriosis (16.1%), chronic inflammatory diseases of the genital tract (23%); preeclampsia suffered in the previous pregnancy (16.4%). The risk factors for the development of placental disorders and premature birth were tobacco smoking (25.2%), alcohol consumption (19.6%), transmission of acute respiratory viral infections (29.7%), transmission of SARS-CoV-2 infection (22, 6%) during current pregnancy; persistence of chronic stress in the early stages of pregnancy (33.7%). Early signs of the development of placental disorders were the presence of early gestosis -

46.3% and signs of threatened miscarriage in the form of bleeding from the genital tract before 12 weeks of pregnancy (22.1%). Somatic anamnesis was characterized by the presence of deviations from normal BMI values (increasing - 19.6%; decreasing - 16.8%).

When studying the state of the vaginal biocenosis, it was established that the development of spontaneous premature labor in placental disorders occurs regardless of the presence of an infectious and inflammatory factor: no signs of inflammation and dysbiosis of the vaginal tract were found in 56% of the examined women. At the same time, in the case of detection of dysbiotic changes in the genital tract according to the PCR data, a certain dependence of the clinical course of premature birth with placental disorders was observed, depending on the nature of the causative agent. Thus, it is more typical for women in labor with premature rupture of membranes to detect signs of inflammation and high titers of *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp associations. (43.5% versus 16.7% in groups of labor activity against the background of the entire amniotic sac), *Mycoplasma genitalium* (25.0% versus 4.2%), ureaplasma (21.7% versus 8.3%). Instead, women in labor with the onset of premature labor against the background of intact membranes are more likely to be infected with *Atopobium vaginae* (37.5% versus 13.0% in the PPRM groups), *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. (33.3% vs. 8.7%), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. (41.6% versus 21.7%).

When studying the p65-subunit of nuclear factor κ B (p65NF κ B), it was established that in pregnant women with the development of placental disorders and premature births, the increased activity of this transcription factor was characteristic in comparison with the physiological course of childbirth, as well as with premature births without PlaP. Higher values of p65NF κ B activity index were observed in

subgroups of women with inflammation and dysbiosis of genital tract II-A ($65.4 \pm 7.6\%$) and II-B ($72.8 \pm 7.4\%$, $p < 0.01$ and with HP, and with GC), in women of the first main group without inflammation and dysbiosis, higher indicators of p65NF κ B activity were also observed, but the degree of changes was somewhat less pronounced ($39.3 \pm 5.1\%$ in group I-A, $40.2 \pm 6.8\%$ in group I-B, $p < 0.05$). Such changes indicate the activation of the p65 subunit of the nuclear factor by hypoxia in the event of disturbances in the adequate functioning of the placenta, as well as by factors of the pathogenicity of microorganisms, which leads to the development of premature labor.

Similar data were obtained regarding the ratio of T-helpers of types I and II in the blood of patients: the indicator was the highest in the second group of women (with inflammation and dysbiosis of the genital tract) - 2.23 ± 0.2 for pregnant women of group II-A and 2.39 ± 0.7 for group II-B ($p < 0.01$ both with HP and with GC), this ratio was also quite high in the first group of patients of the main cohort (subgroup I-A 1.41 ± 0.5 ; for subgroup I-B - 1.56 ± 0.2 , $p < 0.05$ both with GP and with GC). Considering the similarity of the detected deviations with p65NF κ B activity data, a correlation analysis was performed between the above indicators and a strong direct relationship was established between the Th1/Th2 ratio and the activity indicator of the p65 subunit of NF- κ B ($r = 0.8$; $p < 0.01$). These results indicate the existence of a shift in the pro-inflammatory side of the balance of T-helpers of types I and II and the activation of the immune response in women with premature birth against the background of placental disorders, which, most likely, can be associated with an increase in the activity of p65NF κ B.

The concentration of pro-inflammatory interleukin- 1β in blood serum also behaved in a similar way: in pregnant women with inflammation and dysbiosis of the genital tract II-A (with PPRM) it was

128.5±3.1 mmol/l, in subgroup II-B (without PPRM) - 139.5±1.3 mmol/l against 77.3±2.3 mmol/l in the control group and 73.6±3.5 mmol/l in the comparison group ($p<0.01$). As for women of group I, their concentration of the indicated pro-inflammatory cytokine was also higher, but at the level of significance $p<0.05$: 89.7 ± 2.9 mmol/l for subgroup I-A and 95.1 ± 3.1 mmol/l in women from subgroup I-B. Also, a strong direct correlation was established between the concentration of interleukin-1 β and the activity of the p65-subunit of NF- κ B ($r=0.8$; $p<0.01$). Given the powerful pro-inflammatory role of this cytokine, these data indicate increased activity of inflammatory processes in placental disorders in women of all groups, which may be associated with increased NF- κ B activity.

The concentration of interleukin-6, which can act as both a pro- and anti-inflammatory cytokine in various biochemical processes of the body, was the highest in women with the absence of inflammation and dysbiosis of the genital tract (119.7±1.7 mmol/l in group I-A, 108.1±2.9 mmol/l in group I-B, $p<0.01$ both with HP and with GC) and slightly higher in pregnant women from group II (94.3±7.4 mmol/l for group II-A and 89.6±2.3 in group II-B, $p<0.05$ both with GP and with GC). Intragroup comparison revealed higher concentrations of IL-6 in women from subgroups I-A and II-A with PPRM ($p<0.05$). When conducting a correlation analysis, no connection was established with the activity of the p65-subunit of NF- κ B ($r=-0.017$; $p>0.05$). These data show that when interleukin-6 is detected in women with placental disorders, they can expect the development of premature birth even in the absence of signs of an active inflammatory process in the genital tract, as well as the probable development of PPRM in women with an increased level of this interleukin in the serum.

The activity of caspase-3, as well as the indicator of the concentration of caspase-3 in blood serum, which is associated with it by a strong direct correlation, were found to be significantly higher in placental disorders and premature births when compared with CnG and CmG, but unlike all previous indicators, the values of this parameter were the highest in the first group of women: $68.3 \pm 1.7\%$ in subgroup I-A and $59.7 \pm 7.3\%$ in subgroup I-B ($p < 0.01$ both with CnG and CmG). In the II group, the values of the mentioned indicators were slightly lower, but probably differed from the comparison and control groups ($p < 0.05$ both with CnG and CmG): $30.4 \pm 5.1\%$ for women of the II-A subgroup and $28, 4 \pm 3.3\%$ in pregnant women of II-B subgroup. In intragroup analysis, it was found that the activity of caspase-3 is higher in women from groups I-A and II-A with PPRM ($p < 0.05$). The obtained data indicate that the processes of apoptosis are generally more active in women with premature birth against the background of placental disorders and may play a role in the activation of premature labor in pregnant women without manifestations of an active inflammatory process in the genital tract, as well as the association of increased caspase-3 activity with the development of premature rupture of fruit membranes.

When studying the single-nucleotide polymorphism of the VEGF gene (936C/T), it was found that the presence of the "T" allele is significantly more common in women with placental disorders and the development of premature birth (15.0% against the control group - 2.5% and the comparison group - 5, 0%). This testifies to the genetic condition of the occurrence of placental disorders and premature births as their complications in such women.

An increased ratio of Th1/Th2 and interleukin-1 β in women with placental disorders is a risk factor for premature labor on the background of intact membranes and an infectious process in the vagina, and caspase-

3 and interleukin-6 are a risk factor for premature delivery due to premature rupture of fetal membranes without infectious-inflammatory process in the genital tract.

Based on the above, it can be concluded that in the presence of placental disorders, additional factors in the development of premature birth arise: excessive activation of the p65 subunit of nuclear factor κ B and caspase-3, and the resulting increase in IL-1 β and IL-6 cytokines, an increase in the Th1/Th2, which creates a pro-inflammatory and immunologically unfavorable environment for the progression of pregnancy. The presence of the VEGF gene polymorphism (936C/T), especially the homozygous set of T/T alleles, is a risk factor for placental disorders in pregnant women.

For health care institutions, practical recommendations are provided on the possibility of determining the ratio of Th1/Th2, IL-6 and IL-1 β and caspase-3 in the blood of pregnant women when deviations from the normal values of placental hormones are obtained after the first and second prenatal screenings as predictors of development they have premature births. It is also recommended to determine the presence of vascular endothelial growth factor gene polymorphism 936 (C/T) in pregnant women in order to determine the risk of developing placental disorders in them.

Key words: premature birth, placenta, placental disorders, premature rupture of fetal membranes, p65NF- κ B, T-helpers, caspase-3, VEGF, microbiocenosis of the genital tract, dysbiosis of the vagina, complications of the gestational period, fetoplacental complex, pregnancy, obstetric complications, interleukins.

**Публікації за темою дисертації та відомості про апробацію
результатів дисертації**

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Ventskovskaya, I., Kupchik, V. (2021). New molecular mechanisms of placental dysfunction. *Reproductive Health Eastern Europe*, 11(6), 730-739. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.6.006> (Дисертантові належить збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації.)

2. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023). Активність р65-субодиниці ядерного фактора NF-κВ та співвідношення Т-хелперів I і II типу у вагітних з плацентарними порушенням та передчасною пологовою діяльністю. *Репродуктивна ендокринологія*, 1(67), 79–83. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2023.67.79-83>

3. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023) Роль активності р65 NF-κВ, каспази-3, а також морфізм гена VEGF у розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях. *Репродуктивне здоров'я жінки*, 1(64), 49–55. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276250>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2020) Вплив р65-субодиниці фактора NF-κВ і маркера апоптозу каспази-3 на розвиток передчасних пологів у вагітних з плацентарною дисфункцією. *Репродуктивне здоров'я. Східна Європа*, 6(10), 654-660. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.10.6.001>

2. Доповідь на 30-тій Міжнародній медичній виставці Public Health 2021 «Сучасні досягнення науки в медичній практиці», секція акушерства і гінекології, 06-08.10.2021 року.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	22
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ НА ФОНІ ІСНУЮЧИХ ПЛАЦЕНТАРНИХ ПОРУШЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	
1.1. Характеристика плацентарних порушень як однієї з ведучих причин розвитку передчасних пологів	32
1.2. Передчасні пологи в контексті інфекційного та асептичного запалення	35
1.3. Ядерний фактор-кВ (NF-кВ) та його роль у розвитку запалення	41
1.4. Апоптоз в контексті розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів.	46
1.5. Васкулярний фактор росту ендотелію VEGF та його роль в патології плаценти.	49
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	
2.1. Матеріали дослідження	52
2.2. Методи дослідження	57
2.3. Методи статистичної обробки	63
РОЗДІЛ 3. КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ	
3.1 Загальний, акушерсько-гінекологічний та соматичний анамнез вагітних	65
3.2 Особливості перебігу даної вагітності	74

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ЛАБОРАТОРНИХ МЕТОДІВ ОБСТЕЖЕННЯ

4.1 Аналіз стану піхвового біоценозу молекулярно-генетичним методом	81
4.2 Дослідження концентрації та активності p-65 субодиниці ядерного фактору κВ у пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.	91
4.3 Дослідження концентрації та співвідношення Т-хелперів I і II типів у пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.	94
4.4 Дослідження концентрації та активності каспази-3 у пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів	98
4.5 Дослідження концентрації IL-1β та IL-6 у навколоплідних водах пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.	103
4.6 Дослідження поліморфізму 936 C/T VEGF у пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів	107
4.7 Особливості стану новонароджених від передчасних пологів із плацентарними порушеннями	111
РОЗДІЛ 5	
АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	119
ВИСНОВКИ	131
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	135
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	136
ДОДАТКИ	153

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

CD	кластер диференціації
c-rel	гомолог C вірусного онкогену ретикулоендотеліозу
DAMP	молекулярні патерни, асоційовані з пошкодженнями
IFN-γ	інтерферон-гамма
IL-1β	інтерлейкін-1-бета
IL-4	інтерлейкін-4
IL-6	інтерлейкін-6
IL-8	інтерлейкін-8
IκB	інгібітор "каппа-бі"
Lg	логарифм
MMP	матриксна металопротеїназа
MoM	кратне медіани
NFκB	ядерний фактор
p65NFκB	p-65 субодиниця ядерного фактору «каппа-бі»
PAMP	молекулярні патерни, асоційовані з патогеном
PRR	репептори впізнавання патогену
RelA	гомолог A вірусного онкогену ретикулоендотеліозу
RelB	гомолог B вірусного онкогену ретикулоендотеліозу
Th1	T-хелпери I типу
Th2	T-хелпери II типу
TLR	толл-подібні рецептори
TNF	фактор некрозу пухлин
VEGF	васкулярний ендотеліальний фактор росту
ГК	група контролю

ГП	група порівняння
ГРВІ	гострі респіраторні вірусні інфекції
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
ПерП	передчасні пологи
ПлаП	плацентарні порушення
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція
ПРПО	передчасний розрив плодових оболонок
УЗД	ультразвукове дослідження

ВСТУП

Актуальність теми

Плацентарні порушення (ПлаП) - це клінічний синдром, обумовлений морфологічними і функціональними змінами в плаценті, що проявляється порушенням росту і розвитку плода, його гіпоксією, які виникають в результаті реакції плода і плаценти на різні порушення стану вагітної [1,92,93]. В основі даного синдрому лежать патологічні зміни плодового або матково-плацентарного комплексів з порушенням компенсаторно-приспосувальних механізмів на молекулярному, клітинному і тканинному рівнях. При цьому порушується транспортна, трофічна, ендокринна, метаболічна, антитоксична функції плаценти, котрі лежать в основі виникнення патології у плода та новонародженого. Тому не викликає подиву той факт, що дисфункціональна плацента є прямою причиною так званих «Великих акушерських синдромів»: преєклампсії, обмеження росту плода, передчасних пологів, передчасного розриву плодових оболонок, пізнього мимовільного абортів і відшарування плаценти [1,94]. Протягом кількох десятиліть питання плацентарних порушень вивчається вченими багатьох країн, але єдиного погляду на її патогенез при різних ускладненнях вагітності не визначено, як і не розроблено точних рекомендацій щодо раннього виявлення і лікування цього патологічного стану [2,96, 97].

Передчасні пологи (ПерП) - це пологова діяльність, що відбувається в терміні гестації менше 37 тижнів. Передчасні пологи становлять 75% перинатальної смертності та більше 50% у структурі довгострокової захворюваності [12]. Хоча більшість недоношених дітей виживають, вони часто мають наслідки незрілості систем багатьох органів, а також порушення нервової системи, такі як ДЦП,

розлади інтелекту, зору, слуху та інші [13]. На додачу, багаторічні спостереження свідчать про те, що передчасно народжені діти мають вищі шанси розвитку хронічних захворювань у дорослому віці [14].

Передчасні пологи мультифакторні за своєю етіологією. Більшість випадків ПерП пов'язують з наявністю висхідної інфекції з первинним вогнищем у статевих шляхах, але неефективність антибіотикотерапії в попередженні та запобіганні передчасній пологовій діяльності змушують шукати інші етіологічні чинники, на які можливо було б вплинути, задля пролонгації вагітності [17,98,99]. Останні літературні дані все частіше звертаються до вивчення плацентарних порушень як причини ПерП, особливо у випадках «спонтанних» передчасних пологів.

Початковий розвиток плаценти відбувається в умовах фізіологічної низької концентрації кисню, оскільки таким чином створюються умови середовища існування ембріону, які захищають його від пошкодження активними формами O₂ протягом періоду органогенезу, а також слугують допоміжним фактором реалізації потенціалу стовбурових клітин. На початку диференціювання органів плода виникає потреба у більшому надходженні кисню для підтримки швидшого росту плода, відповідно, має відбутися перехід від гістотрофного живлення до гемотрофного постачання з кровообігу матері. Гемохоріальний тип плацентації у людини створює певні проблеми для розвитку адекватної плацентарної гемодинаміки, оскільки досить великі обсяги материнської крові мають бути доставлені під низьким тиском і швидкістю для запобігання механічному пошкодженню вразливих ворсинчатих розростань. При нормальній вагітності це забезпечується спільним впливом естрогену, прогестерону, хоріонічного гонадотропіну людини та інших гормонів і факторів, що виділяються плацентою,

тому першим «дзвіночком» формування плацентарних порушень можуть слугувати відхилення від нормальних значень цих біологічно активних речовин, які клініцисти мають змогу оцінити при проведенні пренатальних скринінгів. Також для успішного перебігу ранніх термінів вагітності є важливою є помірна активність процесів апоптозу, імунної і запальної відповіді, які б контролювали адекватне проходження процесів ремодулювання спіральних артерій, яке триватиме аж до кінця II триместру вагітності. Очевидно, що при порушенні балансу цих процесів внаслідок дії певного етіологічного чинника виникнення ПлаП, з'являється ризик для подальшого розвитку вагітності.

Виникнення плацентарних порушень є проблемою сучасного акушерства, оскільки важко встановити маркери, на які можна було б орієнтуватись для оцінки адекватного розвитку фето-плацентарного комплексу на ранніх етапах вагітності. Утруднення діагностики пов'язано із важкодоступністю та легкоковразливістю системи мати-плацента-плід, і в основному клініцисти зустрічаються вже із субкомпенсованою та декомпенсованою формами плацентарних порушень, які проявляються у виникненні синдрому затримки розвитку плода та дистресі плода, а також із картиною вже сформованих патологічного чи термінального кровотоку у артеріях пуповини. Тому для акушерсько-гінекологічної клінічної практики доцільним є розгляд молекулярних механізмів патогенезу плацентарних порушень з метою пошуку ланки, яка одночасно відображала б локальні патологічні процеси у плаценті та була доступною для вивчення «системними» методами, без механічного впливу на фетоплацентарний комплекс.

Роль механізмів апоптозу в патогенезі передчасної пологової діяльності на даний час вивчена недостатньо. Відомо, що на ранніх

стадіях вагітності низькоактивні процеси запрограмованої смерті клітин є необхідними для інвазії трофобласту та функціонування плаценти. [18,100] Після 18-20 тижня ці процеси мають зменшитись в інтенсивності. Але гіперактивація апоптозних механізмів після 22 тижня гестації за даними літератури є одним із факторів розвитку передчасних пологів, особливо через передчасний розрив плодових оболонок [19,80]. У розвитку процесів запрограмованої клітинної смерті велику роль відіграє каспаза-3 із сімейства цистеїнових протеаз. Це ефекторний ензим, активація якого призводить до ураження плаценти на клітинному рівні, руйнування структур клітини та її загибелі [20,101].

У літературі існують переконливі докази центральної ролі васкулярного ендотеліального фактору росту (VEGF) у внутрішньоутробному та плацентарному ангиогенезі [86]. VEGF є потужним ангиогенним фактором, від якого повністю залежить васкуляризація фетоплацентарного комплексу. Цей фактор росту пригнічує апоптоз ендотеліальних клітин і сприяє підтримці зрілої функціональної судинної системи. Дефект у VEGF може дизрегулювати баланс між апоптозом і проліферацією клітин ендотелію, що призводить до порушення васкуляризації, пошкодження тканин, розвитку плацентарних порушень і, як наслідок, до розвитку передчасної пологової діяльності [20,85].

Вищезазначене диктує необхідність глибокого та всебічного вивчення проблеми плацентарних порушень та їх ролі у розвитку передчасної пологової діяльності.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Роботу виконано в рамках наукової тематики кафедри акушерства та гінекології № 1 Національного медичного університету імені О. О. Богомольця «Сучасні технології збереження

та відновлення репродуктивного здоров'я жінки в умовах зміни структури акушерської та гінекологічної патології», № держреєстрації 0117U000266.

Мета дослідження - підвищення ефективності діагностики передчасної пологової діяльності на тлі плацентарних порушень шляхом визначення маркерів дисфункції плаценти.

Завдання дослідження:

1. Вивчити особливості акушерсько-гінекологічного та соматичного анамнезів роділь із передчасними пологами на фоні плацентарних порушень.

2. Оцінити стан піхвового біоценозу у пацієнток із плацентарними порушеннями та його зв'язок з розвитком передчасної пологової діяльності у жінок досліджуваних груп.

3. Визначити активність субодиноці р65 фактору транскрипції NF-κB у плаценті пацієнток із передчасними пологами і плацентарними порушеннями та порівняти її з показниками роділь з доношеною вагітністю.

4. Визначити співвідношення Т-хелперів I та II типів зразку крові жінок з передчасними пологами на тлі плацентарних порушень і визначити його залежність від активності р65-субодиноці NF-κB.

5. Провести оцінку рівнів IL-6 та IL-1β у сироватці пацієнток із передчасними пологами і плацентарними порушеннями і визначити їх кореляцію з активністю р65-субодиноці NF-κB.

6. Дослідити активність ефекторної цистеїнової протеази - каспази-3 - у плаценті пацієнток із передчасними пологами і плацентарними порушеннями та порівняти її з показниками роділь з доношеною вагітністю.

7. Визначити роль поліморфізму гену VEGF (936C/T) у розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів.

8. Визначити оптимальні лабораторні критерії для прогнозування передчасних пологів у жінок з плацентарними порушеннями.

Об'єктом дослідження є перебіг вагітності на тлі плацентарних порушень з передчасною пологовою діяльністю.

Предмет дослідження: анамнез вагітних, стан біоценозу піхви, активність субодиниці p65 фактору транскрипції NF-κB, активність каспази-3, Т-хелпери I типу, Т-хелпери II типу, зв'язок активності p65NF-κB та співвідношення Т-хелперів I та II типу, інтерлейкін-1β, інтерлейкін-6, залежність концентрацій інтерлейкіну-1β та інтерлейкіну-6 від активності p65NF-κB, поліморфізм гену VEGF (936C/T).

Методи дослідження:

1. Клінічні (збір анамнестичних даних)
2. Лабораторні (імунологічні: імуноферментний аналіз, імунофенотипування методом проточної цитометрії)
3. Молекулярної діагностики (полімеразна ланцюгова реакція «real-time»)
4. Генетичні (визначення однонуклеотидного поліморфізму).
5. Обробка та статистичний аналіз отриманих даних.

Наукова новизна отриманих результатів.

Вперше було показано збільшення активності p65-субодиниці ядерного фактору транскрипції κB та каспази-3 в плаценті при плацентарних порушеннях і передчасній пологовій діяльності.

Вперше встановлено підвищення активності p65-субодиниці ядерного фактору транскрипції κB у плаценті жінок із плацентарними порушеннями та наявними інфекційно-запальними змінами у статевих шляхах, і каспази-3 (як у плаценті, так і у

сироватці жінок) без ознак дисбіозу та запалення у вагінальному тракті.

Доведено існування прямого сильного кореляційного зв'язку між активністю р65-субодиниці ядерного фактору κВ у плаценті та співвідношенням сироваткових Т-хелперів I і II типу, а також інтерлейкіну-1β, що надає нове патогенетичне пояснення імунних механізмів розвитку передчасної пологової діяльності.

Вперше виявлено підвищений ризик плацентарних порушень у жінок із наявним поліморфізмом гену васкулярного ендотеліального фактору росту у локусі 936 (C/T), особливо у разі гомозиготного стану.

На підставі отриманих даних сформульовано патогенетичні відмінності розвитку різних механізмів передчасної пологової діяльності на тлі плацентарних порушень.

Практичне значення отриманих результатів.

Отримані результати надали змогу покращити уявлення про процеси, які відбуваються у плаценті під час плацентарних порушень, що призводять до розвитку передчасної пологової діяльності. Визначення досліджуваних факторів патогенезу ПерII при функціональній недостатності плаценти є передумовою розробки нових можливостей прогнозування передчасних пологів при плацентарних порушеннях.

Практичне значення мають виявлені в роботі дані про співвідношення Th1/Th2, концентрацію сироваткових каспази-3 та інтерлейкінів (IL-6, IL-1β) і їх кореляцію з плацентарними розладами у жінок з передчасною пологовою діяльністю.

Отримані дані дозволяють науково обґрунтувати необхідність покращення схем діагностики плацентарних порушень на етапі жіночої консультації під час проведення I та II пренатальних

скринінгів вагітності (11-13⁺⁶ та 18-22 гестаційні тижні) з метою прогнозування у них передчасних пологів.

Особистий внесок здобувача.

Разом із науковим керівником було обрано тему дисертаційної роботи, визначено тему, завдання, об'єкт та предмет дослідження, відібрано матеріали і методи дослідження. Здобувачем було опрацьовано та проаналізовано різноманітні зарубіжні та вітчизняні літературні джерела, сформовано групи дослідження, виконана статистична обробка отриманих даних з клінічних, лабораторних, молекулярних, генетичних досліджень. Дисертантом самостійно написано всі розділи роботи, сформульовано висновки та практичні рекомендації. Дисертант є автором та співавтором наукових публікацій за темою дисертації.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертації були представлені на 30-тій Міжнародній медичній виставці Public Health 2021 «Сучасні досягнення науки в медичній практиці», секція акушерства і гінекології, 06-08.10.2021 року.

Публікації: Результати дослідження опубліковано у 4 наукових працях, з них: 1 стаття в наукових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття у науковому міжнародному видавництві, 2 – включені до міжнародної наукометричної бази Scopus.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 153 сторінках друкованого тексту, з яких 17 сторінок займає список використаних джерел, 1 сторінку – додаток. Робота складається з вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, характеристики досліджуваних груп, розділу власних досліджень, аналізу отриманих даних, обговорення, висновків, списку використаних джерел, який містить 101 джерело, а також 1 додатку. Робота включає в себе 22 таблиці та 13 рисунків.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ПРО МЕХАНІЗМИ РОЗВИТКУ ПЕРЕДЧАСНИХ ПОЛОГІВ НА ФОНІ ІСНУЮЧИХ ПЛАЦЕНТАРНИХ ПОРУШЕНЬ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Характеристика плацентарних порушень як однієї з ведучих причин розвитку передчасних пологів

Плацентарні порушення (ПлаП) - це акушерський клінічний синдром, обумовлений функціональними і структурними змінами в плаценті, який проявляється порушенням росту і розвитку плода, його гіпоксією, які виникають в результаті реакції плода і плаценти на різні порушення стану вагітної. В основі його лежать патологічні зміни плодового або матково-плацентарного комплексів з порушенням компенсаторно-приспосувальних механізмів на молекулярному, клітинному і тканинному рівнях. При цьому порушується транспортна, трофічна, ендокринна, метаболічна, антитоксична функції плаценти, що і веде до виникнення патології у плода та новонародженого. Тому не викликає сумніву той факт, що функціональна неспроможність плаценти є прямою причиною так званих «Великих акушерських синдромів»: прееклампсії, обмеження росту плода, передчасних пологів, передчасного розриву плодових оболонок, пізнього мимовільного абортів і відшарування плаценти [1]. Протягом кількох десятиліть питання плацентарних порушень вивчається вченими багатьох країн, але єдиного погляду на їх патогенез при різних ускладненнях вагітності не визначено, як і не розроблено точних рекомендацій щодо раннього виявлення і лікування цього патологічного стану.

На сьогоднішній день основні етіологічні фактори, які можуть призвести до плацентарних порушень, недостатньо вивчені, ведеться активна робота з чіткого виокремлення причин та визначення патернів патогенезу даного стану. Факторами ризику плацентарних порушень, роль яких у розвитку цього стану є доведеною доказовою медициною, є гіпертонічні розлади в анамнезі, паління, вживання наркотиків (включаючи кокаїн або героїн), вживання алкоголю, похилий вік матері, попередня вагітність плодом із розвитком ЗВУР тощо [2,3]. Доведено, що до підвищення ризику розвитку затримки росту і розвитку плоду, вірогідніше за все через порушення метаболізму плаценти, призводить також вживання деяких ліків: інгібіторів ангітензин-перетворюючого ферменту (каптоприл, еналаприл, лизиноприл), антикоагулянтів (варфарин, панварфін, кумадин), фенітоїнів (дилантин), протисудомних (карбамазепін, фенобарбітал, клоназепам) тощо, а також відхилення від нормальних значень індексу маси тіла матері [4]. Під час проведення досліджень із залученням жінок, анамнез яких був скомпрометований з приводу вищевказаних «факторів ризику», було продемонстровано, що вже на початку вагітності закладається неспроможність фето-плацентарного комплексу через неповноцінну трансформацію судин плаценти [5,6].

Крім того, дуже багато робіт присвячено намаганням експериментального відтворення розвитку плацентарних порушень на моделях тварин, з метою дослідження впливу того чи іншого методу лікування на подальший перебіг вагітності у них. Не можливо не задатись питанням, наскільки ці моделі відображають патофізіологію плацентарної недостатності у людей, особливо при відсутності стандартного визначення поняття плацентарних порушень. Навіть у МКХ-10 дисфункція плаценти закодована під назвою «Плацентарні порушення, неуточнені», що наголошує на

неможливості однозначного виділення етіологічного та патогенетичного компонентів. Ця відсутність однозначності робить як порівняння фундаментальних наукових досліджень, так і застосування їхніх результатів до популяції жінок із наявними ПлаП практично неможливим [7, 8].

Також слід звернути увагу на відсутність єдиного методу обстеження, який найкраще відображав би функцію плаценти. У літературі з'являється все більше параметрів, які пропонуються у якості найкращого діагностичного маркера виникнення згаданої патології: швидкість кровоплину у маткових артеріях, кровотік у пуповинній артерії, біохімічні маркери в сироватці крові матері (термостабільна фракція лужної фосфатази, альфа-фетопроутеїн тощо), показники росту та розвитку плода за даними ультразвукового дослідження та багато інших. Часто проблема полягає у відсутності єдиного підходу та узагальнення пропонованих методів: діаграми та порогові значення, що використовуються для виявлення плацентарних порушень та ЗВУР, надзвичайно різняться у кожного автора [9]. Але важливо також усвідомити, що всі ці параметри є лише відображенням функції плаценти, тобто вони не є прямими показниками біологічної активності та функціонування органу. Найкращими потенційними кандидатами для оцінки функції плаценти є біохімічні показники материнської сироватки плацентарного походження, однак їх використання в якості скринінгового тесту протягом останніх років не призвело до суттєвого зменшення показника перинатальної смертності [9]. Також важко встановити, який саме показник функції плаценти слід першочергово використовувати для виявлення та контролю плацентарних порушень [10]. Проблематичним залишається також питання лікування, спрямованого на поліпшення перфузії та функції

плаценти: досліджуються численні стратегії відновлення процесів плацентації та попередження несприятливих перинатальних наслідків, однак неможливо продемонструвати, чи змінюють такі втручання процеси, що лежать в основі плацентарних порушень, оскільки чітко встановлених критеріїв порівняння результатів остаточно не розроблено [11].

Враховуючи усе вищесказане, стає очевидно, що між плацентарними порушеннями та несприятливими перинатальними наслідками існує прямий зв'язок, а проведення дослідницького пошуку з ПлаП у вагітних жінок залишається актуальною темою для клініцистів та науковців і сьогодні. Незважаючи на увесь спектр наукових потужностей для вивчення плацентарних порушень, однозначного механізму патогенезу розвитку даного стану не з'ясовано і досі, тому пошуки оптимальних методів виявлення патології, а також термінів, у які ці дослідження можуть бути проведені для отримання найінформативніших та найбільш вчасних результатів, все ще тривають і становлять значний інтерес для лікарів та науковців у сфері акушерства і гінекології.

1.2. Передчасні пологи в контексті інфекційного та асептичного запалення

Передчасні пологи - це пологова діяльність, що відбувається в термінах вагітності менших за 37 тижнів гестації. Передчасні пологи становлять 75% перинатальної смертності та більше 50% у структурі довгострокової захворюваності [12]. Хоча більшість недоношених дітей виживають, вони часто мають наслідки незрілості систем багатьох органів, а також порушення нервової системи: дитячий церебральний параліч, відхилення інтелектуального розвитку, патологія зору та слуху [13]. Також, ПерП є фактором ризику для

несприятливих короткострокових та довгострокових наслідків для здоров'я нації у цілому: короткострокові - це смертність новонароджених та малюкова смертність до 5 років [14]; довгострокові - підвищення ризику гіпертонії, серцево-судинних та цереброваскулярних захворювань, діабету 2 типу, хронічних захворювань нирок, астми, порушення функції легень та нейрокогнітивні розлади к дорослому житті [15,16]. Крім того, виходжування недоношених дітей є значно більш економічно затратним, ніж догляд за здоровим новонародженим, тому передчасні пологи призводять до збільшення витрат держави на охорону здоров'я [17], а також можуть робити внесок у соціально-економічну неспроможність населення зрілого віку внаслідок виходжування та лікування передчасно народжених дітей [18].

Через дуже обмежений успіх різних медичних стратегій для зниження ризику розвитку передчасних пологів необхідні нові підходи до ведення та профілактики передчасних пологів. Наприклад, для гальмування передчасної пологової діяльності акушери-гінекологи використовують токолітики (інгібітори циклооксигенази, блокатори кальцієвих каналів або бетаміметики), дія яких спрямована на припинення перейм і затримку пологів; на жаль, вони не усувають основний стимул, який ініціював процес розродження, що призводить до нетривалих результатів від застосовуваних заходів [42]. Таким чином, раннє виявлення факторів ризику, а також розробка ефективних профілактичних заходів залишаються важливими об'єктами досліджень у області вивчення передчасних пологів.

Клінічно ПерП можна розділити на «спонтанні» (70%) та «індуковані»: спонтанні передчасні пологи характеризуються раптовим початком розширення шийки матки або передчасним

розривом оболонки, тоді як індуковані ініціюються штучно акушерами-гінекологами у зв'язку з ускладненнями вагітності з метою збереження шансів на порятунок життя плода [19]. Останні дослідження вказують на те, що етіологічні чинники передчасних пологів часто збігаються, а при гістологічному дослідженні посліду від таких вагітностей характерним є ураження плацентарної судинної системи. Поряд із судинними порушеннями певну роль відіграє плацентарна реакція на гіпоксичний стан або пряму дію факторів патогенності мікроорганізмів у вигляді запалення [20]. Хоча молекулярні механізми, що лежать в основі пологів, багато у чому залишаються загадкою для науковців, загальновизнаним є те, що "каскад пологової діяльності" активується шляхом передчасного стимулювання прозапальної відповіді матки та фетоплацентарного комплексу [21-23]. Баланс між прозапальними та протизапальними факторами є ключовим для подовження термінів гестації вагітності. Виникнення запалення у фетоплацентарному комплексі веде до ускладнень вагітності та незадовільних перинатальних наслідків, таких як передчасні пологи, затримка росту плода, мертвонародження та прееклампсія [24,25].

Для демонстрації несприятливого впливу запалення інфекційного походження на функцію плаценти було створено та використано багато моделей клітин плаценти людини та тварин [26,27]. У людини стрептокок групи В є основною причиною перинатальної інфекції, а стрептококова інфекція у матері збільшує ризик передчасних пологів [28]. Для моделювання і дослідження цього явища деякі дослідники вводили внутрішньоутробно вагітним мишам вбитих тепловою енергією *S. agalacticae*. В результаті, приблизно 86% вагітних мишей народжували протягом 18 годин, а у плаценті та плодових оболонках виявляли ознаки запалення [29]. В

іншій моделі, де стрептокок вводили вагінальним шляхов, результати були схожими: у 75% мишей було виявлено розвиток передчасних пологів, у посліді виявлялись аналогічні першій моделі апоптичні зміни [30]. Також нашу увагу привернули роботи, присвячені ще одному інфекційному чиннику, який зазвичай інфікує внутрішньоматкове середовище, є найчастіше виділюваним бактеріальним збудником у випадках хоріоамніоніту, а також викликає передчасні пологи у людей - уреоплазмі, представнику сімейства *Mycoplasmataceae*. Згідно з деякими дослідженнями, введення діацильованого ліпопептиду, отриманого з *Ureaplasma parvum*, в матку вагітних мишей призвело до передчасних пологів, хоча до цього ніяких натяків на подібні зміни у прогресуванні вагітності не спостерігалось. Причиною же цих явищ теоретично могла стати індукція передчасних пологів шляхом активації запального або апоптичного каскаду [31,32].

Однак часто інфекції не можуть бути виявленими при використанні традиційних мікробіологічних методів при ускладненнях вагітності, незважаючи на наявність запалення [33]. Існує статистика з приводу виявлення інфекційних чинників при розвитку передчасних пологів: лише близько у 30% жінок вдається виявити збудник-ініціатор передчасної пологової діяльності, а у 70% за розвиток запальної відповіді та передчасних пологів повинні бути відповідальними інші фактори [34]. В таких випадках використовується концепція «стерильного» або «асептичного» запалення, оскільки незважаючи на відсутність інфекційного чинника, виявляються продукти запалення, такі як, наприклад, підвищений рівень прозапальних медіаторів, аларміни, також відомі як DAMP (damaged-associated molecular patterns - молекулярні патерни, пов'язані із пошкодженням), цитокіни тощо [35,36].

Трофобласти є основним типом клітин плаценти та єдиним типом клітин, який безпосередньо контактує з імунною системою матері та будь-якими циркулюючими патогенами або запальними стимулами, включаючи DAMP. Синцитіотрофобласт відіграє багато важливих ролей на материнсько-фетальному інтерфейсі, опосередковуючи газообмін, транспортування поживних речовин, видалення відходів і забезпечуючи фізичний бар'єр, що захищає плід. Було також показано, що трофобласт відіграє важливу імунологічну роль у опосередкуванні толерантності матері до напівалогенного плоду та в захисті від патогенів [37]. Клітини трофобласта (синцитіотрофобласт, цитотрофобласт і екстраворсинчасті трофобласти) експресують рецептори розпізнавання патернів (pattern recognition receptors - PRR), які важливі для позаклітинного розпізнавання патогенів та імунного нагляду. До них належать члени сімейства Toll-подібних рецепторів (таких як TLR-1, -2, -3 і -4) і Nod-подібні рецептори – внутрішньоклітинні «сприймачі», які реагують в основному на бактеріальний компонент і діють як друга лінія захисту від патогенів [38]. Різні молекулярні патерни, пов'язані з патогенами (pathogen-associated molecular patterns - PAMP), стимулюють різні рецептори розпізнавання патернів і мають специфічну дію. Також, плацента містить резидентну популяцію макрофагів – так звані клітини Гофбауера, що мають фетальне походження. Вони знаходяться в плацентарних ворсинках і складають понад 90% усіх плацентарних імунних клітин [39]. Незважаючи на відсутність прямого контакту з імунною системою матері або циркулюючими збудниками, вони все ще дуже важливі для імунного нагляду, особливо у випадках порушення плацентарного бар'єру. Клітини Хофбауера експресують TLR-2, TLR-3 і TLR-4, реагують на інфекційні стимули, на

підвищенням рівня мРНК і білка прозапальних цитокінів (IL-6 та IL-8) [40].

Отже, було доведено, що плацентарні клітини, головним чином трофобласти та клітини Хофбауера, здатні розпізнавати та ініціювати імунну відповідь проти бактеріальних та вірусних інфекцій [41]. Однак багато ускладнень вагітності виникають за відсутності будь-якого виявленого інфекційного агента, але демонструють ознаки стерильного запалення. Це пояснюється підвищенням рівня DAMP при існуванні гіпоксичного стану на інтерфейсі плаценти, що діє подібно до факторів патогенності мікроорганізмів та призводить до стимулювання запальної відповіді. В подальшому доля клітини може бути наступною: виживання чи загибель. Виживання можливе при сприятливих для цього умовах шляхом ліквідації запалення адекватною роботою імунної системи та відсутністю значного пошкодження клітин, а деструкція відбувається як правило за одним із двох головних шляхів: некрозу або апоптозу. Враховуючи тривалоіснуючу гіпоксію фетоплацентарного комплексу при ПлаП, можна припустити, що надмірна активація вищезгаданих двох механізмів загибелі клітини і призводить до розвитку передчасної пологової діяльності у жінок із плацентарними порушеннями. В якості діагностичних факторів, які могли б допомогти у встановленні правомірності вищевказаного припущення, пропонується визначення р65-субодиниці ядерного фактору κВ, каспази-3, а також визначення поліморфізму гену ендотеліального судинного фактору росту 936(C/T)VEGF.

1.3. Ядерний фактор-кВ (NF-кВ) та його роль у розвитку запалення

На сьогоднішній день велика увага надається молекулярним механізмам норми та розвитку патології, винятком не стали і пологи та великі акушерські синдроми. Для успішного початку і прогресування пологової діяльності необхідна активація певних патернів, які призвели б до збільшення кількості та біоактивності фосфоліпідних медіаторів, таких як, наприклад, простагландини та цитокіни [43]. В результаті відбувається утворення утеротонічних агентів, ремоделювання позаклітинного матриксу шийки матки, а при залученні колаген-розщеплюючих матриксних металопротеїназ - розрив плодових оболонок. Було визначено ряд транскрипційних регуляторів, які координують своєчасну експресію цих кінцевих ефекторних шляхів, серед яких на особливу увагу заслуговує прозапальний фактор транскрипції - ядерний фактор-кВ (NF-кВ) [44-45].

Фактор транскрипції NF-кВ, а особливо його субодиниця p65, відіграє важливу роль у розвитку запальних та імунних процесів у плаценті. Він є відповідальним за перемикання продукції Т-лімфоцитів з синтезу переважно Т1-типу на Т2-тип, що не дає організму матері реагувати на плід як на чужорідний організм. Активація ліпополісахаридами клітинної стінки бактерій або DAMP фактору NF-кВ призводить до вмикання механізмів запальної відповіді, що в свою чергу викликає гіперпродукцію прозапальних цитокінів і білків-ініціаторів пологів (таких як, наприклад, група білків що входять до групи activator protein-1: Jun, Fos, Mafs і ATF), впливаючи на підвищення збудливості матки та розвиток передчасних пологів. У гестаційних тканинах людини активація NF-

κB регулює прозапальні цитокіни IL-6, IL-8, TNF, утворення простагландинів, що відіграє критичну роль для початку пологів [46].

Сімейство NF-κB/Rel ссавців складається з п'яти представників: NF-κB1 (p105/p50), NF-κB2 (p100/p52), p65 (RelA), c-rel та RelB, які регулюють низку генів, залучених до імунної, запальної, антиапоптозної та гострофазної відповідей. Кожен представник родини NF-κB/Rel має N-кінцевий гомологічний домен Rel з 300 амінокислот, який опосередковує зв'язування ДНК і димеризацію субодиниць (як правило, в активному стані вищевказані білки утворюють між собою «пари»), але різні димери Rel зв'язуються з різними промоторними ділянками цільових генів, що і забезпечує широту функцій вказаного комплексу NF-κB. Пригнічення активності комплексу забезпечується зв'язуванням із білком - інгібітором κB (IκB), а в активній формі NF-κB як правило складається з гетерогенних димерів різних комбінацій субодиниць комплексу: кожен представник сімейства NF-κB, крім RelB, може утворювати гомодимери, а також гетеродимери між собою. RelB утворює гетеродимери з p100, p52 і p50. Завдяки наявності негомологічних доменів трансактивації у білках p65, c-rel та RelB, комплекси, утворені з цих білків можуть керувати транскрипцією ДНК, але у субодиницях p50 та p52 такі домени відсутні, а отже, гомодимери цих білків можуть лише зв'язувати ДНК для придушення експресії генів у спокійних клітинах. Прототиповою і найбільш поширеною активованою формою NF-κB є гетеродимер p50/p65 [47-48].

У стані спокою клітини NF-κB утримується в цитоплазмі в неактивній формі через асоціацію з білками IκB, найважливішими з яких є IκB-альфа, IκB-бета та IκB-епсилон. Усі IκB характеризуються

наявністю множинних анкіринових повторів, які опосередковують зв'язування з доменом гомології Rel NF-кВ. Білки-попередники p105 і p100 також містять анкіринові повтори і можуть функціонувати як ІкВ-подібні білки. Найкраще вивченим і найбільш функціонально значимим є ІкВ-альфа – саме він є інгібітором найбільш поширеної формою NF-кВ - гетеродимера p50/p65. Різні білки ІкВ виявляють чіткі переваги щодо асоціації з певними димерами NF-кВ (наприклад, ІкВ-альфа, як вже було сказано, переважно зв'язує p50/p65, ІкВ-епсilon зв'язує p65/c-rel, p100 зв'язує RelB). Але кристалографічний структурний аналіз комплексу ІкВ α :p65:p50 показав, що молекула ІкВ-альфа маскує лише «дані» про субодиницю p65, залишаючи відкритою p50, тому активність гетеродимеру p50/p65 доречно визначати саме за активністю звільненої від свого інгібітора p65-субодиниці [49-51].

На сьогодні окреслено три різні сигнальні шляхи NF-кВ, кожен з яких залежить від послідовної активації кіназ, генерації ДНК-зв'язуючих димерів NF-кВ та посилення транскрипційної активності NF-кВ: класичний, неканонічний (альтернативний) та атиповий. Ключовим регулятором усіх індукцйбельних сигнальних шляхів NF-кВ є комплекс кіназ ІкВ (ІКК), який складається з двох кіназ (альфа та бета) та регуляторної субодиниці під назвою основний модулятор NF-кВ (NEMO). Роль кіназ полягає у розщепленні ІкВ, в результаті чого комплекс p65/p50 набуває активності, отримує змогу мігрувати з цитоплазми у ядро та впливати на транскрипцію ДНК. Класичний шлях ініціюється в основному бактеріальними ліпополісахаридами та полягає в тому, що після впливу активуючого фактору NEMO дає сигнал почати процеси убіквітинації та деградації ІКК β комплексу, внаслідок чого ІкВ-альфа «демаскує» p65-субодиницю і комплекс p65/p50 набуває біологічної активності. Неканонічний шлях

активується у відповідь на різноманіття індукторів NF-κB, таких як лімфотоксин β, паління матері (вплив сигаретного диму на епітеліальну поверхню легенів призводить до збільшення виробництва активних форм кисню), фактор активації B-клітин або ліганд CD40, хоча вони також можуть запускати канонічний шлях. Запуск цього патерну веде до ізольованої, непов'язаної із NEMO деградації IKKα, але в даному випадку відбувається фосфорилювання субодиниці p100 (що, як було сказано раніше, через свою структуру має властивості інгібітора в комплексі з іншими субодиницями NF-κB); даний механізм активації є визначальним для «пари» p100/RelB. Третій шлях викликається пошкодженням ДНК і вважається нетиповим, оскільки він не включає зв'язування з рецептором і не залежить від комплексу IKK. Наприклад, активація NF-κB ультрафіолетовим опроміненням передбачає багаторазове фосфорилювання IκB-альфа на кінцевих залишках С за допомогою активованої p38 казеїнкінази 2, що також в результаті призводить до втрати функції IκB-альфа та активації субодиниць NF-κB, що інгібуються цим [52-54]. Таким чином, регулювання сигналювання NF-κB є складним, і відмінності у результатах його активації можуть залежати від типу експресованих кіназ, характеру чинника-активатора і субодиниці NF-κB, що вивільняється чи демаскується.

Дослідниками було встановлено, що під час вагітності відсутність активації NF-κB сприяє її нормальному перебігу, а активація фактору транскрипції відіграє значну роль у початку пологів, в тому числі передчасному. Як було зазначено, зниження регуляції NF-κB у T-клітинах вагітних жінок є важливим для підтримання цитокінового профілю, необхідного для успішного виношування вагітності. Пригнічення активації NF-κB у децидуальній тканині першого триместру відбувається завдяки

імуносупресивним механізмам, які переважають під час вагітності. Частиною цих механізмів є стероїдні гормони, найбільш значним з яких при вагітності є прогестерон, що підтримує матку в інтактному стані протягом більшої частини вагітності [55]. Експериментально доведено, що у багатьох видах тварин відміна цього прогестеронового ефекту внаслідок зниження рівня циркулюючого прогестерону у матері є причиною початку пологів. В епітеліальних клітинах амніону людини деякі дослідники намагались продемонструвати взаємний антагонізм між транскрипційною активністю прогестерону та NF-κB. Прогестерон також може безпосередньо зв'язуватися з рецептором окситоцину, щоб інгібувати його вироблення, а як відомо, окситоцинові рецептори є регуляторами скоротливості матки і містять сайти зв'язування NF-κB у своїй промоторній ділянці [56-58,102,103]. Протягом усієї вагітності та, ще більш гостро, під час пологів відбувається поступове розтягнення волокон маткового м'язу і плодових оболонок зростаючим плодом. Дослідження на вагітних щурах свідчать про те, що розтягнення матки є головним регулятором скорочувальної здатності гладких м'язів, що є поясненням факту підвищеного ризику передчасних пологів у жінок з багатоводдям та багатопліддям [59]. Окситоцинові рецептори відіграють важливу роль у скороченні матки під час пологів, а експресія їх мРНК регулюється *in vitro* механічним розтягуванням міоцитів матки. Промотор окситоцинового рецептору містить три передбачувані сайти зв'язування NF-κB, але було доведено, що розтягнення не призводить до активації комплексом NF-κB окситоцинових рецепторів [60-63].

Важливість прозапальних цитокінів у пологах давно вважають беззаперечною. При термінових та передчасних пологах концентрації IL-1, IL-8, IL-6 та TNF-альфа підвищені в

навколоплідних водах та тканинах матки, і як правило вони опосередковують передчасні пологи, спричинені інфекцією [64]. Крім того, ізольоване системне введення ІЛ-1 може спричинити передчасні пологи у вагітних мишей [65]. Високий рівень прозапальних цитокінів, виявлених у тканинах матки, може частково походити від мігруючих до плаценти лейкоцитів при запальному стані, однак децидуальні клітини міометрія, амніону та плаценти можуть і самі виробляти прозапальні ці біологічно активні речовини. Багато генів, що кодують прозапальні цитокіни, такі як TNF- α , ІЛ-1, ІЛ-8 та ІЛ-6, містять елементи розпізнавання NF- κ B у своїх промоторах, і, як відомо, NF- κ B сприяє утворенню цитокінів у багатьох типах клітин. На користь безпосереднього впливу на продукцію прозапальних цитокінів із сторони NF- κ B свідчить також той факт, що блокування зв'язування NF- κ B з ДНК через введення сульфасалазину або N-ацетил-цистеїну пригнічувало вивільнення ІЛ-6, ІЛ-8 та TNF-альфа з оброблених ліпополісахаридом плацентарних, хоріодецидуальних та амніонних клітин [66]. Крім того, існують певні дослідження, які свідчать про наявність механізму «порочного кола» у взаємодії ядерного фактору транскрипції κ B та прозапальних цитокінів: індукований цитокінами NF- κ B може результувати у посилення вироблення цитокінів, які будуть через альтернативні шляхи призводити до подальшої активації NF- κ B [67].

1.4. Апоптоз в контексті розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів.

Як вже було сказано, запалення відіграє значну роль у патофізіології «спонтанних» передчасних пологів, а одним із наслідків його тривалого існування може бути активація апоптозу – запрограмованої клітинної загибелі. Апоптоз - це активний

енергозатратний процес, який регулюється складним молекулярним сигнальним механізмом, а також може регулювати виживання клітини як при патологічних, так і при фізіологічних станах макроорганізму. Вивчення апоптозу та запалення при передчасних пологах на даний час також активно ведеться у області неонаталогії, оскільки зменшення вироблення запальних цитокінів, зниження активації мікрогліальних клітин, обмеження апоптозу результує у зменшення неонатальної травми головного мозку, тобто продемонстровано потенційно нейропротекторний ефект від зменшення вираженості цих процесів у новонароджених [68-70]. Що стосується акушерства та антенатального періоду, вивчення процесів запрограмованої загибелі клітин лише розпочинається у цій галузі. Інфекція та запалення можуть змінити чутливий баланс між загибеллю та виживанням клітин, що призводить до подальшого зниження функції плаценти при існуванні її недостатності, а також відіграє важливу роль у патофізіології передчасного розриву плодових оболонок і передчасних пологів. На користь важливої ролі клітинної загибелі у розвитку ПерП чого свідчать дослідження, згідно з якими доведено існування прискореної апоптичної загибелі клітин хоріону при наявності гістологічного хоріоамніоніту [71]. Однак важко остаточно і однозначно встановити зв'язок запалення та апоптозу, а також механізм розвитку та у ініціації пологової діяльності, в тому числі передчасної [72-73].

Отже, роль механізмів апоптозу в патогенезі передчасної пологової діяльності на даний час вивчена недостатньо. Відомо, що на ранніх стадіях вагітності низькоактивні процеси запрограмованої смерті клітин є необхідними для інвазії трофобласту та функціонування плаценти [74], а після 18-20 тижня вони мають зменшитись в інтенсивності. З літературних даних відомо, що одним

із механізмів початку активації апоптозу у тканинах плаценти є дисбаланс між активними формами кисню та антиоксидантами, який може виникати, в тому числі, внаслідок плацентарних порушень. В результаті надмірного окислювального стресу запускається апоптоз трофобласта та відбувається ініціація пологів шляхом посилення експресії проапоптичних генів JNK, MST3 та CASP3 [75], роль «виконавця» при цьому належить каспазі-3. Каспази — це внутрішньоклітинні ферменти, сімейство цистеїнових протеаз, які відіграють важливу роль в апоптозі, некрозі та запаленні. Вони являють собою ефекторні ензими, активація яких призводить до ураження плаценти на клітинному рівні, руйнування структур клітини та її загибелі, одним з наслідків чого може бути розвиток передчасних пологів. Каспази існують у цитоплазмі всіх клітин у вигляді неактивних проферментів, які активуються через протеолітичне розщеплення залишків аспартату. У людини на даний момент ідентифіковано одинадцять каспаз, серед яких виділяють три класи: ініціаторні (каспази-2, -8, -9, -10), ефекторні (каспази-3, -6, -7) та інгібуючі. Каспаза-3 належить до ефекторних каспаз, активація яких призводить до розщеплення інших білкових субстратів всередині клітини, тобто безпосередньо до самого процесу апоптозу [76-77]. В даний час загально визнано, що мітохондрії відіграють ключову роль у регуляції апоптозу. На ранніх стадіях апоптотичної загибелі клітин мітохондрії вивільняють різні проапоптотичні білки з міжмембранного простору в цитозоль. Серед них - цитохром С, який потрапляючи в цитозоль, розщеплює про-каспазу-9, отримуючи активну форму ферменту. Каспаза-9, у свою чергу, розщеплює та активує про-каспазу 3, ефекторну каспазу, відповідальну за розщеплення різних білків, що призводить до біохімічних та морфологічних особливостей, характерних для апоптозу. Каспаза-3 є

встановленим маркером апоптозу і в даний час вважається, що її активація призводить до апоптотичної смерті клітини [78].

Іншим механізмом, який може запустити процес неконтрольованої клітинної загибелі у гестаційних тканинах є незалежна від NF- κ B активація прозапальних факторів, особливо TNF-альфа, внаслідок гіпоксії при патології плацентарного ложа. Після того, як певна кількість проінфламаторних цитокінів активується, відбувається стимуляція вироблення простагландинів, скорочення матки, посилення функціональності матриксних металопротеїназ (ММР) і, нарешті, активності апоптозу. Як правило, це результує у ослаблення плодових мембран і розвиток передчасного розриву плодових оболонок [79-81].

1.5. Васкулярний фактор росту ендотелію VEGF та його роль в патології плаценти.

Як відомо, дуже важливим чинником правильної плацентації та відсутності багатьох ускладнень вагітності є правильне функціонування контролюючих ендотелій генів, і, як наслідок, успішно проведений процес ремодулювання спіральних артерій. На сьогоднішній день багато генів вивчаються з точки зору їх можливого впливу на розвиток плацентарних порушень та передчасної пологової діяльності. Один з центральних маркерів, який природно привертає до себе увагу, став фактор росту ендотелію судин (VEGF) – ген-регулятор ангиогенезу. Він є головним ангиогенним фактором та головним регулятором проліферації ендотеліальних клітин, відіграючи вирішальну роль у фізіологічному судинному генезисі та проникності судин [82]. Ген, що кодує VEGF, знаходиться в хромосомі 6 і містить 14-kb кодуєчу область з вісьмома екзонами та сімома інтронами, з чого випливає його

схильність до поліморфізму. Серед найбільш поширених є поліморфізми -634 C/G (rs2010963), +936 C/T (rs3025039), -1154 A/G (rs1570360) і -2578 A/C (rs699947), ці варіанти мають найбільші функціональні наслідки, і, крім того, доведеним є їх роль у наявності схильності до прееклампсії [83]. Експресія мРНК VEGF швидко та оборотно індукується гіпоксією як *in vitro*, так і *in vivo*. Його експресія також регулюється як у фізіологічних, так і в патологічних станах, де спостерігається посилений ангиогенез, наприклад, в ендометрії та яєчниках під час менструального циклу [84]. Існують вагомі докази, що підтверджують тісний взаємозв'язок між ембріональним розвитком та станом васкуляризації ворсин хоріона. Нормальна васкуляція ворсин хоріона має важливе значення для безперешкодного розвитку вагітності [85]. VEGF є специфічним мітогеном та фактором виживання для ендотеліальних клітин та вирішальним промотором ангиогенезу у фізіологічних та патологічних станах [86]. Під час вагітності VEGF необхідний для проліферації трофобластів, розвитку ембріональної судинної системи та росту материнських та фетальних кровоносних судин у матці [87].

Також, моделі *in vivo* показують, що система VEGF відіграє важливу роль у регуляції рівня циркулюючого прогестерону, а послаблення сигналізації VEGF у середині вагітності призводить до початку пологів через зменшення рівня циркулюючого прогестерону [88]. Відомо, що через одонуклеотидні поліморфізми (SNP) у генах їх функція може знижуватись або зникати зовсім. Дослідниками вже встановлено, що у тайванської популяції та популяції грецьких жінок SNP у гені VEGF-A зустрічаються досить часто, особливо у жінок, які перенесли передчасні пологи [89,90]. У жінок європеїдної раси виявлена схильність до поліморфізму гену VEGF [91], але його роль

у розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів вивчена недостатньо.

Враховуюче усе вищесказане, можна підсумувати, що одним з наслідків плацентарних порушень є розвиток передчасної пологової діяльності, але механізми її розвитку можуть бути різноманітними: активація ядерного фактору κB , надмірний несвоєчасний розвиток процесів клітинної загибелі, генетичних порушень через поліморфізм генів васкулярного ендотеліального фактору росту. До того ж відомо, що зниження чутливості до прогестерону також має вирішальне значення для початку пологів у людини, а NF- κB крім посередництва у процесах запалення може антагонізувати прогестеронові рецептори, щоб імітувати стан відсутності чи нестачі прогестерону в організмі. Таким чином можна зробити висновок, що NF- κB є центральною ланкою багатьох шляхів, що призводять до початку пологів, тому варто розглянути цю молекулу як потенційну терапевтичну мішень у лікуванні передчасних пологів. Лікування, спрямоване на деактивацію чи гальмування NF- κB , може бути більш ефективним за сучасні методи зупинки пологової діяльності, а також мати додаткову перевагу у запобіганні шкідливих наслідків інфекції/запалення для плода. Вищезазначене диктує необхідність глибокого та всебічного вивчення проблеми залежності розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів від модуляції ефекту вказаних субстанцій та генів.

Отримані у даному розділі результати відображено у наступних публікаціях:

1. Ventskovskaya, I., Kupchik, V. (2021). New molecular mechanisms of placental dysfunction. *Reproductive Health Eastern Europe*, 11(6), 730-739. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.6.006>

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали дослідження

До проведення дослідження за типом «випадок-контроль» було залучено 147 жінок, госпіталізованих до клінічної бази кафедри акушерства і гінекології №1 - КНП «Перинатальний центр м. Києва» - з 2019 по 2022 рр.

Усі жінки були проінформовані про дослідження, його хід та мету, а також засвідчили свою згоду на участь у ньому шляхом підписання інформованої згоди.

Із дослідження виключено жінок, у яких в процесі подальшого спостереження виявлено резус-імунізацію плода, а також тих, у яких антенатально або постнатально було діагностовано генетичні аномалії плода та грубі вади розвитку. Також критеріями виключення були наявність у жінок прееклампсії, вагітність внаслідок використання допоміжних репродуктивних технологій, багатоплідна вагітність, дистрес плода, через потужний взаємний вплив цих гестаційних ускладнень на функціонування плацентарного комплексу.

До дослідження не включали жінок, перебіг вагітності яких ускладнився істміко-цервікальною недостатністю, що її корегували циркулярним швом на шийку матки або акушерським песарієм. Тривалий вплив цих заходів, ефективність яких для попередження передчасного розродження є досить високою, порушує динаміку цервікальних змін при розвитку пологової діяльності, змінює біоценоз піхви.

До основних груп дослідження увійшли 107 жінок, яких було госпіталізовано до Перинатального центру міста Києва з причини спонтанної передчасної пологової діяльності або передчасного розриву плодових оболонок із наступною пологовою діяльністю у терміні 28-33⁺⁶ тижні гестації на фоні плацентарних порушень. Наявність ПлаП виявлялась у жінок анамнестично шляхом вивчення результатів першого та другого пренатальних скринінгів вагітності, а також за результатами даних ультразвукового дослідження, проведеного з 22 тижня вагітності. Таким чином, до жінок із розвитком плацентарних порушень відносили тих вагітних, у яких спостерігались мінімум 2 біохімічних та 1 ультразвуковий критерій із вказаних нижче:

а) біохімічні критерії:

- кількість бета-субодиниці хоріонічного гонадотропіну людини $\leq 0,5$ multiple of median (MoM);
- кількість некон'югованого естріолу $\leq 0,5$ (MoM);
- кількість альфа-фетопротейну $\leq 0,5$ (MoM);
- кількість асоційованого з вагітністю білка А $\leq 0,5$ (MoM);

б) ультразвукові критерії:

- збільшення індекса резистентності в артерії пуповини вище 90-го перцентилю;
- зменшення цереброплацентарного відношення – нижче 10-го перцентилю.

Далі жінок розподіляли на групи та підгрупи за наявністю запалення й дисбіозу статевих шляхів, а також за часом вилиття вод. Оскільки провідним чинником передчасної пологової діяльності розглядають запальний процес та інфікування нижнього полюсу плідного міхура, вагітних з передчасною пологовою діяльністю було розділено на 2 групи залежно від наявності ознак інфікування піхви.

Наявність запалення та дисбіозу статевого тракту визначали шляхом поєднаного дослідження результатів мікроскопії вагінальних виділень (встановлення ступеню чистоти піхи) та проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі для кількісного визначення генетичного матеріалу 16 видів мікроорганізмів (нормальної, облагатно-патогенної та патогенної мікрофлори вагінального тракту).

До першого ступеню чистоти піхви відносили жінок, у вагінальному мазку яких було виявлено лише поодинокі лейкоцити на фоні домінуючої кількості кислотопродукуючих паличок, які є нормальною флорою піхвового середовища, без патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів. Критеріями віднесення мазку до другого ступеню чистоти піхви були наявність 5-10 лейкоцитів у полі зору, великої кількості паличок Дедерлейна, з поодинокими домішками умовно-патогенної флори. Третій ступінь – 10-30 лейкоцитів у полі зору з невеликою кількістю лактобацил та домінуванням помірної кількості змішаної флори. Четвертий ступінь чистоти піхви визначався як домінування у мазку змішаної, переважно кокової, флори без ідентифікації паличок Дедерлейна на фоні суцільного покриття поля зору лейкоцитами. Після проведення ПЛР вагінальних виділень при виявленні у титрах $\geq 10^5$ умовно-патогенної, облігатно-патогенної флори або мікоплазм та одночасної наявності III-IV ступенів чистоти піхви за результатами мікроскопічного дослідження вагінальних виділень жінок відносили до групи із наявністю мікробного запалення статевих шляхів – групу II. Вагітних із I-II ступенями чистоти піхви навіть при виявленні ізольованої асоціації факультативно- або облігатно-анаеробної флори у титрі не вище за 10^5 відносили до групи без наявності запальних змін статевого тракту – групу I. Далі кожен групу було розподілено

на 2 підгрупи залежно від часу розриву плодових оболонок: підгрупу А - з ПРПО (розривом навколоплідних оболонок за 12 та більше годин до початку пологової діяльності) та підгрупу Б – з початком передчасної пологової діяльності на тлі цілого плодового міхура. Підтвердження розриву плодових оболонок здійснювалось на підставі скарг вагітної, візуалізації витікання вод з цервікального каналу при огляді шийки матки в дзеркалах, за наявності сумнівів – із застосуванням тесту для виявлення інсуліноподібного фактору росту, що зв'язує білок-1, специфічної для амніотичної рідини молекули (Actim PROM). Критерієм включення до підгрупи Б була спонтанна передчасна пологова діяльність та невідворотність передчасного розродження, а саме регулярні перейми не менше 2 за 10 хвилини, згладжена шийка матки та розкриття її 3 см та більше.

Таким чином, сформувалось 2 групи дослідної когорти з 2 підгрупами у кожній (таб. 2.1, рис. 2.1):

- підгрупа I-A – 31 жінка без виявленого запалення й значного інфікування статевих шляхів з передчасним розривом плодових оболонок;

- підгрупа I-B – 29 жінок без виявленого запалення та інфекції вагінального тракту з вилиттям навколоплідних при наявній пологовій діяльності;

- підгрупа II-A – 23 жінки з запаленням піхвового каналу, інфекцією у високому титрі та ПРПО;

- підгрупа II-B – 24 жінки із запаленням статевого тракту, інфекцією та вилиттям навколоплідних вод при наявній пологовій діяльності.

Також було сформовано групу порівняння (ГП): 20 жінок, госпіталізованих з причини ПРПО або пологової діяльності в

терміни 28-33 тижнів 6 днів без плацентарних порушень в першій половині вагітності.

Всі роділлі з передчасною пологовою діяльністю отримували в умовах Перинатального центру медичну допомогу згідно клінічних настанов «Передчасні пологи», що включала магnezіальну терапію з метою нейропротекції, антибіотикопрофілактику до настання пологової діяльності та в пологах, стероїдну профілактику. Всім недоношеним новонародженим надано допомогу, що включала необхідний обсяг респіраторної підтримки (з наданням переваги малоінвазивним), ранній початок ентєрального годування, профілактику інших ускладнень недоношеності.

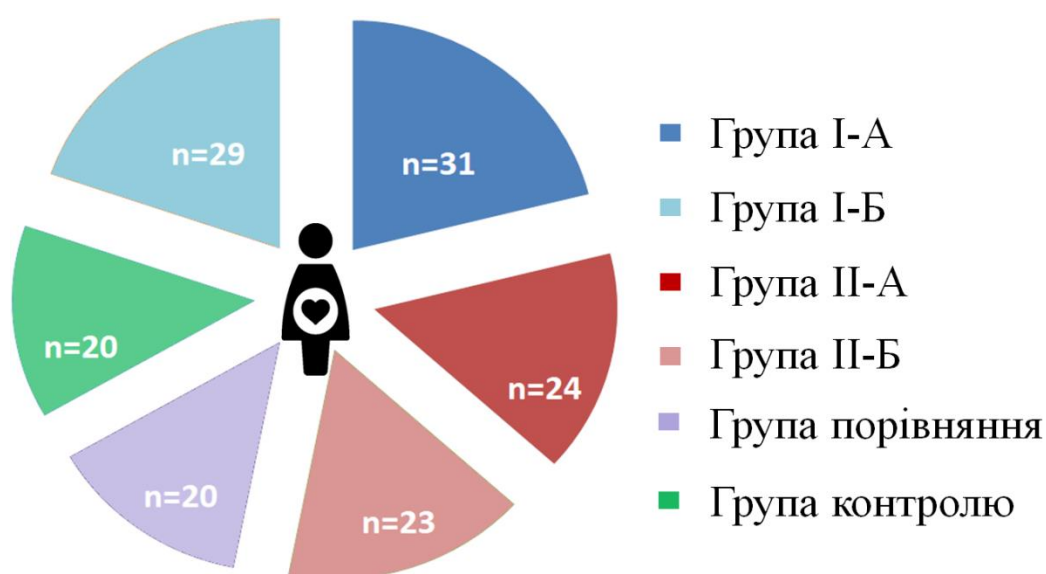


Рис. 2.1. Поділ вагітних на підгрупи (абс.)

Таблиця 2.1

Поділ вагітних на підгрупи (абс.)

Групи		Кількість жінок
I група (жінки без запалення і дисбіозу статевих шляхів)	I-A (ПРПО)	29
	I-B (без ПРПО)	31
II група (жінки з запаленням і дисбіозом статевих шляхів)	II-A (ПРПО)	23
	II-B (без ПРПО)	24
Група порівняння		20
Група контролю		20
Всього		n = 147

До групи контролю (ГК) увійшли 20 жінок із фізіологічним перебігом вагітності, без критеріїв плацентарних порушень, без ознак загрози передчасних пологів, у яких відбулись нормальні пологи в доношеному терміні, головному передлежанні плода, без ускладнень після пологів.

2.2. Методи дослідження.

У всіх вагітних, які увійшли до дослідження, додатково до опрацювання офіційних форм обмінної карти (форма 113/у) та історій пологів (форма 096/0) було проведено анкетування за допомогою спеціально розробленої анкети. До опитувальника увійшли питання із гінекологічного анамнезу (характер менструальної функції, захворювання репродуктивної системи, інфекції статевих шляхів), репродуктивного анамнезу (кількість вагітностей та пологів, наявність абортів, викиднів, завмерлих вагітностей, історія непліддя), перебігу поточної вагітності (перенесені захворювання, відмова від шкідливих звичок, ранні

гестози, загроза переривання вагітності на ранніх термінах), соматичного анамнезу (перенесені або хронічні захворювання органів і систем), способу життя (вид діяльності, паління, вживання алкоголю чи наркотичних речовин при вагітності та до неї). Усі ці дані визначались для оцінки факторів ризику, які могли б призвести до виникнення плацентарних порушень у жінок, оскільки часто використання лише стандартних форм є недостатнім для складання повної клінічної картини історії життя пацієнта та формування зв'язку між наявністю патології та її причиною виникнення. Так, наявність перенесених інфекцій чи захворювань репродуктивної системи могло стати підґрунтям для виникнення порушень у імплантації та плацентації через існування в'ялоперебігаючих процесів запалення ще до настання вагітності. Наявність репродуктивних втрат, а також розвиток ускладнень у попередніх вагітностях, може слугувати індикатором генетично зумовлених розладів нормального розвитку фетоплацентарного комплексу. Порушення нормального перебігу вагітності вже на її ранніх термінах у вигляді гестозів, загрози переривання тощо є раннім свідченням несприятливого перебігу та розвитку ускладнень. При цьому дуже важливо визначити фактори, які могли мати вплив на подібний несприятливий плин виношування дитини, якими могли б бути перенесені гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ), неприпинення шкідливих звичок (тютюнопаління, вживання алкоголю, наркотичних речовин – негативні наслідки яких на розвиток плода та плаценти є беззаперечними). Також до опитувальника було включене питання наявності стресу у повсякденному житті, при цьому ми керувались суб'єктивними відчуттями власне жінки без використання додаткових стандартизованих опитувальників його оцінки. Звичайно, такі дані

важко використовувати для об'єктивної оцінки, але наявність нервового напруження, яке жінка відчуває в сучасних умовах і тим паче відмічає сама, у будь-якому випадку негативно впливає на гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову вісь, викликаючи дисбаланс гормонів, що може негативно вплинути на перебіг вагітності.

Усім пацієнткам проводилось визначення біоценозу вагінального тракту шляхом використання молекулярно-генетичного методу полімеразно-ланцюгової реакції у режимі «реального часу» (real-time) з метою детекції дезоксирибонуклеїнових кислот нормальних та умовно-патогенних мікроорганізмів уrogenітального тракту (*Lactobacillus* spp., *Ureaplasma parvum* + *Ureaplasma urealyticum*, *Gardnerella vaginalis*/ *Prevotella bivia*/ *Porphyromonas* spp., *Enterobacterium* spp., *Eubacterium* spp., *Atopobium vaginae*, *Leptotrichia* spp./*Sneathia* spp./*Fusobacterium* spp., *Megasphaera* spp./*Veilonella* spp./ *Dialister* spp., *Lachnobacterium* spp./*Clostridium* spp., *Streptococcus* spp., *Mycoplasma hominis*, *Staphylococcus* spp., *Mobiluncus* spp./*Corynebacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Candida* spp.). Дослідження проводилось на базі медичної лабораторії CSD Lab. Збір здійснювали під час госпіталізації, при неможливості його дослідження у день забору пробірки типу епендорф з матеріалом зберігали згідно до рекомендацій, наведених у методиці при температурі 2-4°C до 7 днів. Використовували одноразові зонди-тампони, робочу частину яких спочатку для максимального збору виділень (обертальним рухом по поверхнях бічного та заднього нижнього склепіння піхви), а потім опускали в епендорф об'ємом 1,5 мл з 0,5 мл спеціальним транспортним середовищем та обламували, залишаючи зонд у пробірці. Пробірку щільно закривали кришкою та маркували. Метод заснований на застосування процесу ампліфікації ДНК, пов'язаної з температурною денатурацією

дезоксирибонуклеїнових кислот у повторюваних циклах з подальшим додаванням праймерів з комплементарними послідовностями і добудовою полінуклеотидних ланцюгів Taq-полімеразою.

Також, у всіх жінок було проведено визначення активностей p65-субодиниці NF-κB та каспази-3 у лізатах клітин плаценти шляхом використання наборів імуноферментного аналізу (ELISA) виробництва RayBiotech. Дослідження проводилось на базі лабораторії КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», що є клінічною базою кафедри акушерства і гінекології №1. Для визначення p65NF-κB використовували набір Phospho-NF-κB P65 (Ser536) and Total NF-κB P65 ELISA Kit, для встановлення активності каспази-3 брали набір Cleaved-Caspase-3 (Asp175) and Caspase-3 ELISA Kit. Лізати були виготовлені згідно до методики, вказаної у інструкції до реагентів: після ретельного промивання фосфатним буфером та проведення висічення тканини плаценти масою близько 50 г у вертикальній площині, забирали одночасно материнську та плодову поверхні плаценти, уникаючи місць із кальцифікацією чи масивними згустками. Після повного видалення фосфатного буферу тканину подрібнювали та інкубували у присутності лізатного буферу з використанням шейкера 30 хвилин при 2-8°C. Далі матеріал центрифугували (13000 об/хв) без змін температури протягом 10 хвилин, супернатант видаляли, а готові лізати клітин плаценти використовували одразу для дослідження або зберігали до постановки при при -70°C. Згідно до методики, ступінь активності білків визначалась у відсотковому співвідношенні між кількістю загального та активованого протеїну (2.1).

$$\text{Активність (\%)} = \frac{\text{Активна фракція } \left(\frac{\text{пг}}{\text{мл}}\right)}{\text{Загальна фракція } \left(\frac{\text{пг}}{\text{мл}}\right)} \quad (2.1)$$

Всім жінкам також проводилось визначення Т-хелперів I і II типу у зразку цільної крові, шляхом використання проточної цитофлюориметрії. Дослідження проводилось на базі медичної лабораторії CSD Lab. Цільну кров у кількості 200 мкл вносили за допомогою дозатора у сортувальну пробірку, що містила 20 мкл моноклональних антитіл до поверхневого антигену Т-хелпера CD₄ (CD₄-PerCP, Becton Dickinson, Каліфорнія) та інкубували при кімнатній температурі в темряві протягом 10 хв. Потім додавали 500 мкл 1% параформальдегіду для стабілізації утвореного комплексу. Еритроцити лізували за допомогою лізуючого розчину, через 8 хвилин центрифугували при 2000 об/хв протягом 5 хвилин, надосадову рідину відсмоктували, додавали 500 мкл розчину для пермеабілізації та інкубували протягом 10 хвилин при кімнатній температурі в темряві. Після промивання до клітин додавали цитокін-специфічні антитіла (20 мкл мічених фікоеритрином анти-IL-4 та 20 мкл мічених ізотіоціанатом анти-IFN- γ) і інкубували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі в темряві. Після останнього промивання клітини ресуспендували в 500 мкл 1% параформальдегіду і зберігали при 4°C до аналізу проточною цитометрією. Дослідження проводили на проточному цитофлюориметрі FACSCantoII, Beckman-Coulter. Клітини CD⁴+ IFN- γ + були ідентифіковані як Т-хелпери I типу, CD⁴+IL-4+ клітини вважали за Т-хелпери II типу. Показник співвідношення визначався як частка між Т-хелперами I типу і Т-хелперами II типу (2.2).

$$\text{Співвідношення Th1/Th2} = \frac{\text{Кількість Т-хелперів I типу (\%)}}{\text{Кількість Т-хелперів II типу (\%)}} \quad (2.2)$$

Також усім вагітним було проведено визначення концентрацій інтерлейкіну-6 та інтерлейкіну-1 β у сироватці крові, забір якої відбувався при госпіталізації жінки. Дослідження проводилось на базі лабораторії КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», що є клінічною базою кафедри акушерства і гінекології №1. Цільну кров центрифугували для отримання надосадової рідини (власне сироватки), відбирали у епендорф об'ємом 2 мл та зберігали до постановки при -20°C. Використовували імуноферментний метод, набори FineTest Human IL-6 (Interleukin 6) ELISA Kit та Elabscience Human IL-1 β (Interleukin 1 Beta) ELISA Kit.

Визначення сироваткових рівнів каспази-3 також проводився за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (ELISA) набором Human Caspase-3 (Caspase-3) ELISA Kit (MyBioSource Inc., Сан-Дієго, Каліфорнія). Дослідження проводилось на базі лабораторії КНП «Київська міська клінічна лікарня №18», що є клінічною базою кафедри акушерства і гінекології №1. Згідно до інструкції виробника, зразки крові відбирали у пробірки з етилендіамінтетраоцтовою кислотою в якості консерванта, зберігались не менше 8 годин при 4°C з наступним центрифугуванням протягом 10 хвилин при 3000 обертів/хв. Відбирали сироватку та зберігали до постановки реакції при -20°C.

Вагітних всіх груп було обстежено на носійство однонуклеотидного поліморфізму гену VEGF 936C/T (rs3025039) шляхом проведення полімеразної ланцюгової реакції із наступною рестрикцією ендонуклеазами. Дослідження проводилось на базі медичної лабораторії CSD Lab. Виділення ДНК із зразків цільної

крові виділяли за стандартною методикою набором реагентів PROMEGA ReliaPrep Blood gDNA Miniprep System. Комплементарну добудову ланцюга починали зі створення стартових блоків використанням 20 нуклеотидних пар-праймерів 5'-AAGGAAGAGGAGACTCTGCGC-3' та 5'-TATGTGGGTGGGTGTGTCTACAGG-3'. Подальше дослідження проводилось методом електрофорезу в агарозному гелі.

Проаналізовано методом кореляційного зв'язку залежність між вмістом новітніх запропонованих маркерів плацентарних порушень – p65-субодиниці NF-кВ та каспази-3 та доступних імунологічних маркерів.

Стан новонароджених проаналізовано з урахуванням оцінки їх за шкалою Апгар на першій та п'ятій хвилині життя, антропометричних показників, необхідності та тривалості респіраторної підтримки, перебування у відділенні інтенсивної терапії. Порівняно поширеність в групах основних властивих недоношеності ускладнень – внутрішньошлуночкових крововиливів (ВШК) та некротичного ентероколіту (НЕК).

2.3 Методи статистичної обробки

Для проведення статистичної обробки використовували програми MedStat v.5.2, EZR v3.4.1 та Microsoft Excel 2007. Для порівняння абсолютних величин, середніх значень, обчислення середнього квадратичного відхилення, вірогідності розсіювання даних з врахуванням обмеженої вибірки, дані були проаналізовані методами варіаційного аналізу та множинних порівнянь (метод Шеффе). При порівнянні середніх величин статистичний аналіз здійснювали за допомогою критерію Стьюдента t, для обчислення якого використовували формулу (2.3)

$$t = \frac{\overline{M}_1 - \overline{M}_2}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}; \quad (2.3)$$

де: \overline{M}_1 та \overline{M}_2 - середні значення величин;

σ_1 та σ_2 - середнє квадратичне відхилення;

n_1 та n_2 - кількість обстежених у групах.

Для встановлення можливого зв'язку між активністю р65NF-кВ та співвідношенням Т-хелперів I і II типів, а також між концентраціями інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 було використано метод кореляційного аналізу. Для обчислення коефіцієнта кореляції було використано формулу (2.4):

$$r = \sqrt{\frac{S^2}{1+S^2}} \sqrt{\frac{mn}{(m-1)(n-1)}}; \quad (2.4)$$

Де: r - коефіцієнт кореляції;

S^2 - коефіцієнт зв'язку

m - кількість різновидів одного явища;

n - кількість різновидів іншого явища.

Коефіцієнт кореляцій при цьому вказував на силу та характер зв'язку між явищами і знаходився у межах від -1 до 1, при позитивних значеннях зв'язок вважався прямим, при від'ємних – зворотнім; $r < 0,3$ вважався слабким зв'язком, при $r = 0,3-0,5$ - помірним, при $r = 0,5-0,7$ - значним, при $r = 0,7-0,9$ - сильним, при $r \geq 0,9$ - дуже сильним.

Статистично достовірними відмінностями вважалися ті, при яких значення р-критерію становило $p \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3

КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ВАГІТНИХ

3.1 Загальний, акушерсько-гінекологічний та соматичний анамнез вагітних

Однією із засад сучасної акушерсько-гінекологічної науки є не лише лікування виявлених патологій, але і профілактика виникнення несприятливих станів при вагітності та в пологах, проведення якої можливе при виявленні загрозливих факторів в анамнезі вагітної. Особливо важливим є дотримання цього принципу при ПерП, оскільки при виявленні факторів ризику у конкретної вагітної стає можливим вплив на них, що може допомогти вчасно вдатись до мір запобігання розвитку передчасної пологової діяльності. Тому початковим етапом нашого дослідження було вивчення анамнезу вагітних, залучених до нашого дослідження.

Першим було проаналізовано можливий зв'язок із професійною діяльністю жінок (таблиця 3.1, рис. 3.1). При статистичній обробці вищевказаних даних єдиною достовірною відмінністю стало переважання у першій групі вагітних осіб, які працюють приватними підприємцями та відмічають пов'язані із роботою часті нервозні стани та стрес (45,1% і 41,4% у групах І-А та І-Б відповідно, у інших групах – не вище 20%). Однак однозначно говорити про вплив професійного чинника на розвиток передчасної пологової діяльності при плацентарних порушеннях в даному випадку недоцільно, оскільки дизайн дослідження не передбачає стандартизування емоційного напруження та стресу у всіх групах жінок. Також слід відмітити, що у жодної вагітної не було виявлено професій із

Таблиця 3.1

Професійна діяльність обстежених вагітних (абс.ч, %)

Вид діяльності	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
Студентки	8 (25,8)	7 (24,1)	12 (52,2)*	11 (45,8)*	3 (15,0)	4 (20,0)
Приватні підприємці	14 (45,2)*	12 (41,4)*	4 (17,4)	6 (25,0)	6 (30,0)	5 (25,0)
Службовці	3 (9,7)	3 (10,3)	2 (8,7)	3 (12,5)	4 (20,0)	5 (25,0)
Не працюють	6 (19,3)	7 (22,2)	5 (21,7)	4 (16,7)	7 (35,0)	6 (30,0)

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

можливим впливом шкідливих чинників (забрудненості середовища, іонізуючого випромінювання, хімічних речовин тощо) на перебіг вагітності або контакту з ними до настання вагітності. Також достовірна відмінність була знайдена у групі II, де переважають вагітні, які навчаються у вищих навчальних закладах (52,2% групи II-A, 45,8% групи II-B, загалом 48,9% від усієї групи II; $p < 0,01$). Для цієї групи жінок характерним є приєднання інфекції, що також може мати свій внесок у процеси розвитку передчасної пологової діяльності при плацентарних порушеннях, оскільки (як буде додатково проілюстровано нижче, при порівнянні вікової характеристики пацієнток) більш молоді жінки мають певні особливості сексуальної поведінки, є більш схильними до імпульсивних рішень, які можуть врешті-решт негативно відобразитись на перебігу вагітності.

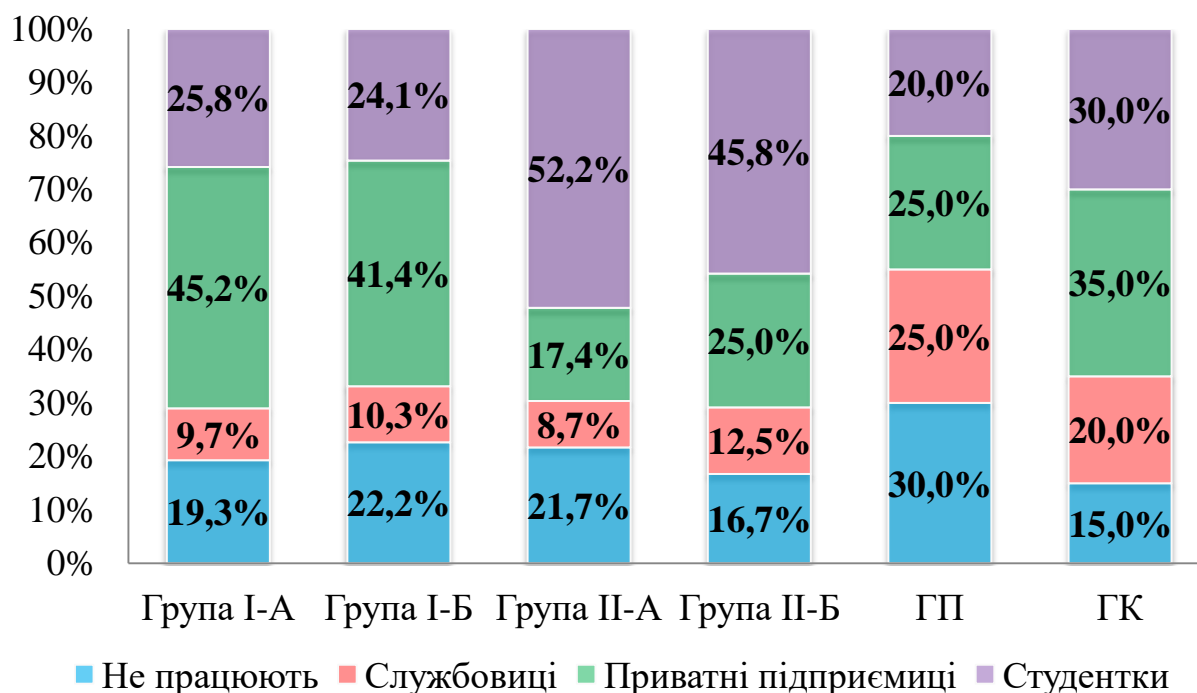


Рис. 3.1 Професійна діяльність обстежених вагітних (%)

При дослідженні соціального статусу виявлено, що у кожній групі з однаковою частотою зустрічаються заміжні та незаміжні жінки, тобто не можна говорити про його вплив на частоту ПерП при плацентарних порушеннях.

У всіх досліджуваних групах вік пацієнток (табл. 3.2) коливався від 20 до 45 років, в середньому склавши $30,2 \pm 5,9$ років у групі I-A; $30,4 \pm 7,0$ років у групі I-Б; $26,6 \pm 6,3$ років у групі II-A; $27 \pm 6,1$ років у групі II-Б та $31,9 \pm 6,5$ років у контрольній групі. Віковий розподіл вагітних не мав достовірних відмінностей ($p > 0,05$) між підгрупами, а також при порівнянні з контрольною групою, але при порівнянні віку пацієнток між групами I і II без поділу на підгрупи, було знайдено достовірну відмінність ($p = 0,007$), тобто привертає увагу той факт, як уже було сказано вище, що для групи плацентарних порушень та передчасними пологами з виявленою інфекцією характерний більш юний вік вагітних, що може бути

Таблиця 3.2

Розподіл вагітних за віком (абс.ч, %)

Вік	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
20-25 років	9 (29,0)	8 (27,6)	12 (52,2)* □	12 (50,0)* □	6 (20,0)	3 (15,0)
26-30 років	6 (19,4)	5 (17,2)	6 (26,1)	5 (20,8)	2 (10,0)	4 (20,0)
31-35 років	8 (25,8)	7 (24,1)	2 (8,7)	4 (16,7)	5 (30,0)	5 (25,0)
36-40 років	6 (19,4)	5 (17,3)	2 (8,7)	2 (8,3)	5 (30,0)	5 (25,0)
Старше 40 років	2 (6,4)	4 (13,8)	1 (4,3)	1 (4,2)	2 (10,0)	3 (15,0)

Примітки: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

□ – $p < 0,05$ при співставленні з групою дослідження I

пояснено розвитком специфічних та неспецифічних запальних процесів внаслідок особливостей сексуальної поведінки.

При вивченні репродуктивного (таблиця 3.3) та акушерсько-гінекологічного (таблиця 3.4, рис. 3.2) анамнезів жінок можна побачити, що досить малий відсоток досліджуваних є схильними при першій вагітності до розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів як з інфекційним компонентом, так і без нього (всього 15% учасниць групи I та 23% жінок групи II, вищий відсоток другої групи можна пояснити більш молодим віком досліджуваних пацієнток у цій когорті). Як правило, у жінок із плацентарними порушеннями та передчасними пологами є анамнез репродуктивних

Таблиця 3.3

Репродуктивний анамнез жінок (абс.ч, %)

Вік		Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
		Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
Кількість вагітностей в анамнезі	0	4 (12,9)	5 (17,2)	5 (21,7)	6 (25,0)	4 (20,0)	1 (5,0)
	1	12 (38,7)	7 (24,2)	11 (47,8)	8 (33,3)	5 (25,0)	7 (35,0)
	2-3	8 (25,8)	11 (37,9)	4 (17,4)	6 (25,0)	8 (40,0)	9 (45,0)
	≥4	7 (22,6)	6 (20,7)	3 (13,1)	4 (16,7)	3 (15,0)	3 (15,0)
Кількість пологів (враховуючи поточні)	1	19 (61,3)*	15 (51,7)*	14 (60,9)*	12 (50,0)*	8 (40,0)	7 (35,0)
	2-3	11 (35,5)	12 (41,4)	7 (30,4)	10 (41,7)	7 (35,0)	11 (55,0)
	≥4	1 (3,2)	2 (6,9)	2 (8,7)	2 (8,3)	5 (25,0)	2 (10,0)

Примітка: * – $p < 0,05$ з контрольною та порівняльною групами

втрат, якими закінчувались попередні пологи – звідси і висока частка жінок, які вагітні повторно, але народжували вперше (достовірна різниця у всіх досліджуваних групах, не менше 50% вагітних). Співставляючи дані із акушерсько-гінекологічним анамнезом можна побачити, що як правило плацентарні порушення та слідуючі за ними передчасні пологи достовірно частіше розвиваються у жінок, які мали такі ускладнення попередніх вагітностей як мимовільний викидень (22,5% групи I-A, 27,6% у групі I-B, 21,7% у групі II-A, 25% групи II-B, $p < 0,01$ у порівнянні з контрольною когортою), завмерла вагітність (у групі I-A 25,8%, I-B -20,7%, II-A - 17,4%, II-B - 20,8% жінок), преєклампсія (від 12 до 17% вагітних у кожній групі)

та ендометріоз різних локалізацій (від 13% до 16% жінок у кожній групі). У жінок другої групи достовірно вища кількість вагітних, які мали у анамнезі хронічні запальні процеси органів малого тазу (ОМТ) – 26,1% та 29,2% у групах II-А та II-Б відповідно.

Дослідженню також підлягала менструальна функція жінок до настання вагітності. Оцінювали її за такими характеристиками, як початок менархе, проміжок часу, за який остаточно встановився регулярний цикл, тривалість менструального циклу, тривалість менструації, кількість менструальної крововтрати (табл. 3.5).

Таблиця 3.4

Акушерсько-гінекологічний анамнез жінок (абс.ч, %)

Ознака	Група I-А	Група I-Б	Група II-А	Група II-Б	ГП	ГК
	(n=31)	(n=29)	(n=23)	(n=24)	(n=20)	(n=20)
	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
Завмерла вагітність	8(25,8) *	6 (20,7)*	4 (17,4)*	5 (20,8)*	1 (5,0)	1 (5,0)
Мимовільні викидні	7(22,5) *	8 (27,6)*	5 (21,7)*	6 (25,0)*	3 (15,0)	1 (5,0)
Хронічні запальні захворювання ОМТ	3(9,7)	5 (17,2)	6 (26,1)*	7 (29,2)*	3 (15,0)	2 (10,0)
Ендометріоз	5(16,1) *	4 (13,8)*	3 (13,1)*	1 (4,2)	1 (5,0)	1 (5,0)
Пухлини матки	3(9,7)	2 (6,9)	1 (4,3)	2 (8,3)	1 (5,0)	3 (15,0)
Прееклампсія в попередній вагітності	5 (16,1)*	4 (13,8)*	4 (17,4)*	3 (12,5)*	-	1 (5,0)

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

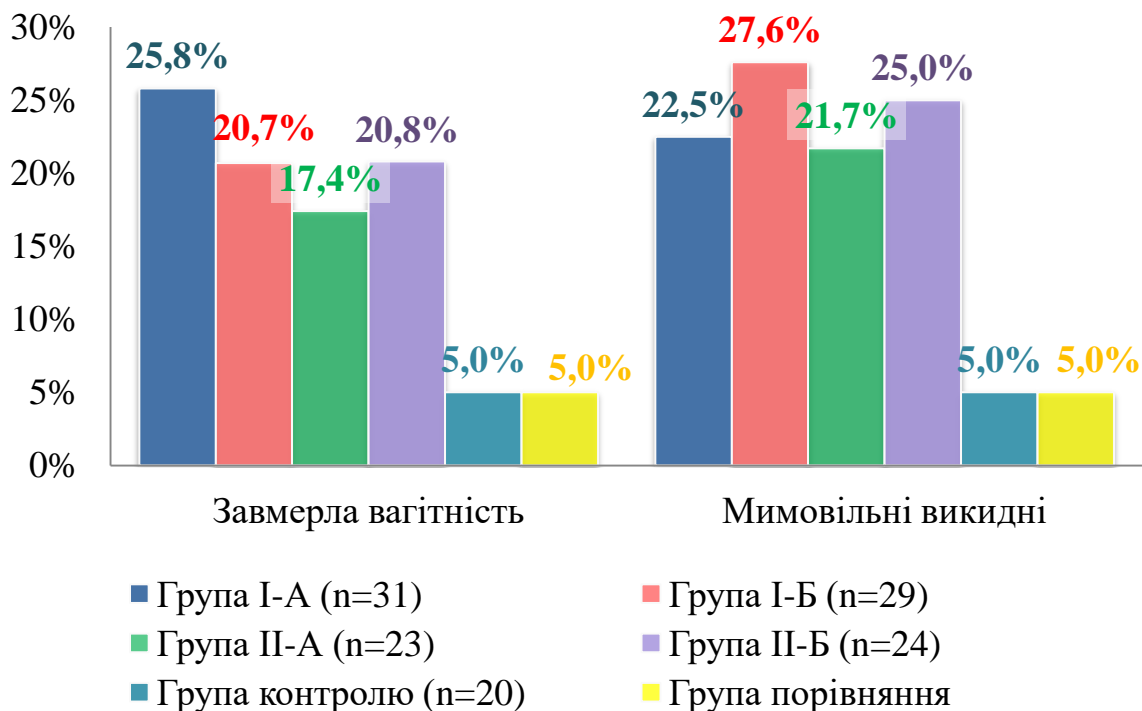


Рис. 3.2 Акушерсько-гінекологічний анамнез жінок (%)

Середній вік початку становлення менструації у вагітних із ПлП та ПерП становив: $15,6 \pm 1,3$ років для підгрупи I-A; для когорти I-B - $15,7 \pm 1,2$ років; у підгрупі II-A - $14,9 \pm 2,2$ років, у II-B - $14,8 \pm 1,3$ років. У контрольній групі зазначені вище показники становили $15,5 \pm 1,2$ року, відповідно ($p > 0,05$). Час становлення регулярного оваріо-менструального циклу в основній групі нашого дослідження становив в середньому 1,4 року, тоді як у контрольній групі аналогічний показник, що нами аналізувався, становив 1,3 роки. Достовірної різниці у менструальній функції статеві системи між групами, таким чином, виявлено не було ($p > 0,05$).

Тривалість оваріо-менструального циклу становила: $27,5 \pm 2,3$ діб для підгрупи I-A; для когорти I-B - $28,8 \pm 2,2$ діб; у підгрупі II-A - $27,9 \pm 2,4$ доби, у II-B - $26,9 \pm 1,9$ діб, у респонденток з контрольної групи нашого клінічного дослідження - $27,4 \pm 2,3$ доби. Статистичної вірогідності за зазначеним показником нами не визначалась ($p > 0,05$).

Таблиця 3.5

Аналіз менструальної функції вагітних (M±m)

Ознака	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Вік менархе (років)	15,6 ±1,3	15,7 ±1,2	14,9 ±2,2	14,8 ±1,3	15,1 ±1,4	15,5 ±1,2
Становлення регулярного циклу (років)	1,5±0,9	1,4±1,1	1,3 ±0,5	1,5 ±1,3	1,4 ±1,2	1,3 ±1,8
Тривалість циклу (діб)	27,5 ±2,3	28,8±2,2	27,9 ±2,4	26,9 ±1,9	28,4 ±2,3	27,4 ±2,3
Кількість крововтрати під час менструації, мл	75,3 ±10,2	79,2 ±8,4	73,4 ±9,1	72,2 ±10,3	74,4 ±9,1	75,4 ±10,3

Примітка: статистичної різниці не виявлено

Кількість менструальної крововтрати ми оцінювали приблизно, на основі свідчень жінок щодо кількості використаних тампонів або прокладок під час менструацій. У пацієток з основної групи, які мали ПД, загальна крововтрата під час місячних сягала: 75,3±10,2 мл для підгрупи I-A; для когорти I-B - 79,2±8,4 мл; у підгрупі II-A - 73,4±9,1 мл, у II-B - 72,2±10,3 мл. Статистичної вірогідності також не визначалось ($p>0,05$).

Крім гінекологічного та акушерського анамнезів також були досліджені особливості соматичної історії вагітних (таб. 3.6, рис. 3.3). Крім наявності власне особливостей здоров'я вагітних зверталася увага на зв'язок із масою тіла, оскільки для сучасного контингенту характерним є існування як схильності до ожиріння –

«епідемії ХХІ сторіччя», так і схильності до недостатньої маси тіла до вагітності внаслідок популярних у молодих жінок «модельних» типів зовнішнього вигляду.

Таблиця 3.6

Соматичний анамнез жінок (абс.ч, %)

Ознака	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
Гіпертонічна хвороба	4 (13,0)	2 (6,9)	3 (13,0)	1 (4,2)	1 (5,0)	1 (5,0)
Хронічні запальні стани нирок	4 (13,0)	3 (10,5)	3 (13,0)	3 (12,5)	-	1 (5,0)
Ожиріння (ІМТ \geq 30 кг/м ²)	7 (22,6)*	6 (20,6)*	4 (17,4)*	5 (20,8)*	2 (10,0)	3 (15,0)
Недостатня маса тіла (ІМТ \leq 18,5 кг/м ²)	6 (19,4)*	6 (20,6)*	2 (8,7)	4 (16,7)*	2 (10,0)	2 (10,0)
Вегето-судинна дистонія	8 (29,0)	8 (27,6)	7 (30,5)	8 (33,3)	9 (45,0)	8 (40,0)
Варикозна хвороба нижніх кінцівок	8 (29,0)	7 (24,1)	9 (39,1)	5 (20,8)	1 (5,0)	2 (10,0)

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

У пацієток кожної групи було знайдено достовірно вищу у порівнянні із контрольною когортою частоту наявності хронічних запальних захворювань нирок: піело- та гломерулонефритів (близько 13% у кожній групі). Іншими патологіями, що зустрічались у вагітних, були гіпертонічна хвороба – у 9% пацієток, вегето-судинна дистонія (за гіпер-, гіпотонічним та змішаним типами) – у 29% жінок, а також варикозна хвороба нижніх кінцівок – у 27,9%

жінок, причому вегето-судинна дистонія та варикозна хвороба були характерні для усіх груп пацієток основної когорти.

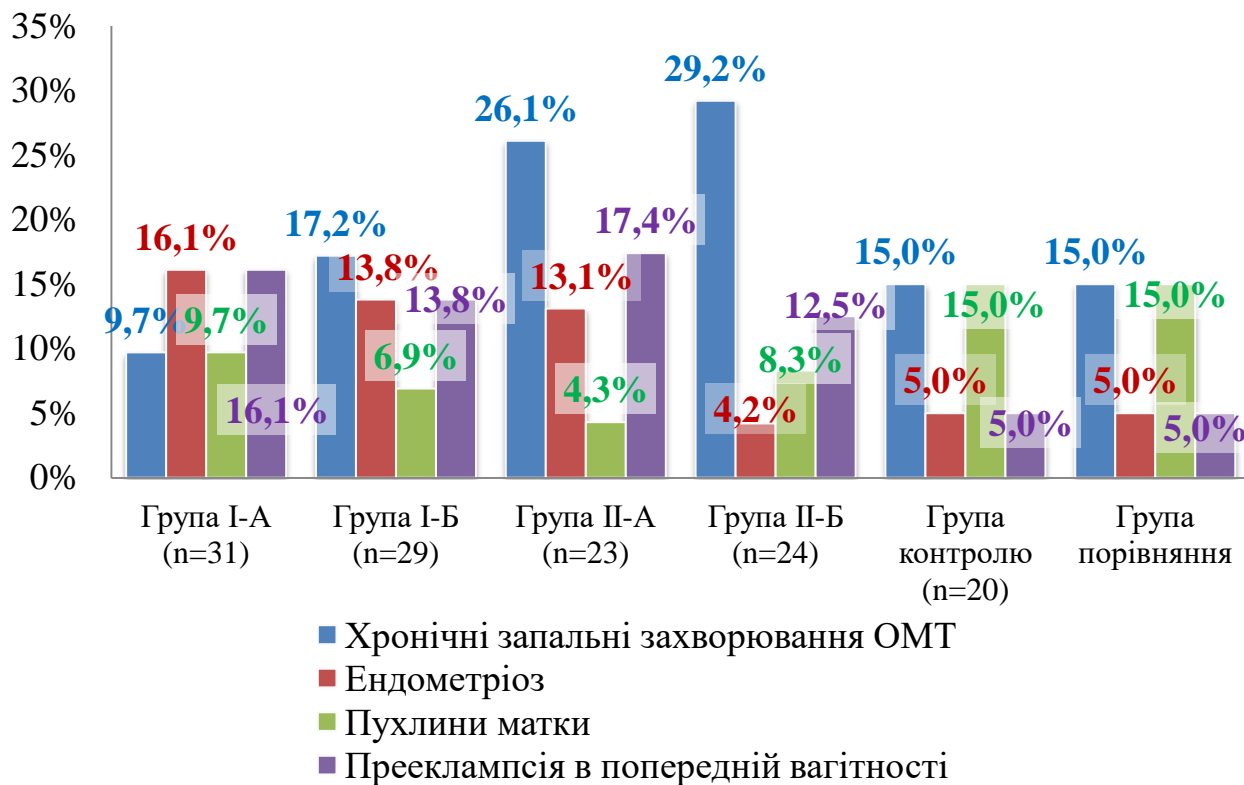


Рис. 3.3 Соматичний анамнез обстежених жінок (%)

Що стосується аналізу маси тіла, ожиріння I ступеню було виявлено у 21% вагітних основної групи, причому у кожній підгрупі мала місце достовірна різниця від контрольної групи. Недостатня маса тіла до вагітності була виявлена у 16,8% пацієток основної групи і також мала достовірно вищу частоту знаходження у всіх підгрупах, крім II-A когорти.

3.2 Особливості перебігу даної вагітності

Далі ми досліджували особливості перебігу даної вагітності (таблиця 3.7, рис. 3.4, рис. 3.5). В першу чергу акцент пошуку був

спрямований на виявлення прямих етіологічних чинників виникнення плацентарних порушень, таких як перенесені у ранніх термінах гострі респіраторні вірусні інфекції (ГРВІ), окремо виділяли підтверджений ПЛР-тестом перенесений SARS-CoV-2, шкідливі звички під час вагітності (паління, вживання алкоголю), розвиток раннього гестозу у вагітних, а також кровотечі до та після 12 тижнів вагітності.

Таблиця 3.7

Особливості даної вагітності (абс.ч, %)

Ознака	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
Гостра вірусна інфекція	12 (38,7)*	9 (31,0)*	7 (30,4)*	6 (25,0)*	3 (15,0)	2 (10,0)
Перенесений SARS-CoV-2	7 (22,6)*	5 (17,2)*	5 (21,7)*	5 (20,8)*	2 (10,0)	1 (5,0)
Ранні гестози	15 (48,3)*	12 (41,4)*	10 (43,5)*	11 (45,8)*	3 (15,0)	1 (5,0)
Вагінальна кровотеча до 12 тижнів	6 (19,4)*	7 (24,1)*	6 (19,4)*	5 (20,8)*	2 (10,0)	1 (5,0)
Вживання алкогольних напоїв на ранніх термінах вагітності	6 (19,3)*	5 (17,2)*	5 (21,7)*	5 (20,8)*	2 (10,0)	1 (5,0)
Тютюнопаління на ранніх термінах вагітності	8 (25,8)*	7 (24,1)*	6 (26,1)*	7 (29,2)*	3 (15,0)	1 (5,0)

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

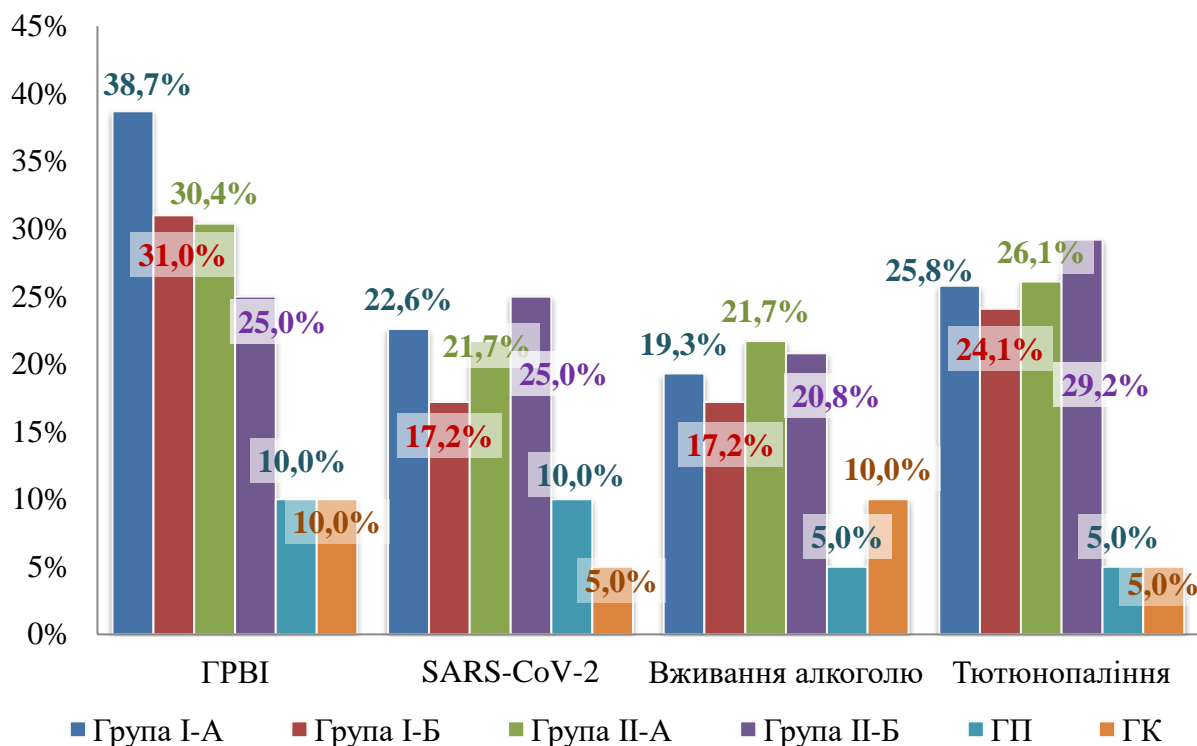


Рис. 3.4 Особливості перебігу даної вагітності - фактори ризику (%)

Відомо, що перенесена під час вагітності гостра вірусна інфекція має кореляційний позитивний зв'язок із виникненням ускладнень у подальшому виношуванні. Багато вірусних агентів мають тропізм до децидуальної оболонки, а вираженість впливу на вагітність залежить від індивідуальних особливостей організму матері: ступеню експресії тропного до вірусу рецептора на поверхні клітин плаценти, гестаційного терміну захворювання на ГРВІ («критичні» періоди вагітності), а також від імунної відповіді матері на інфекцію. У нашому дослідженні загалом 31,8% жінок (35% вагітних групи I, 27,7% - з групи II) перенесли на ранніх термінах вагітності вірусну інфекцію із епізодом підвищення температури вище 38°C та катаральними явищами, що мало достовірні відмінності від контрольної групи ($p < 0,01$). Що стосується інфекції SARS-CoV-2, наразі досі ведуться дослідження та спостереження щодо її впливу на

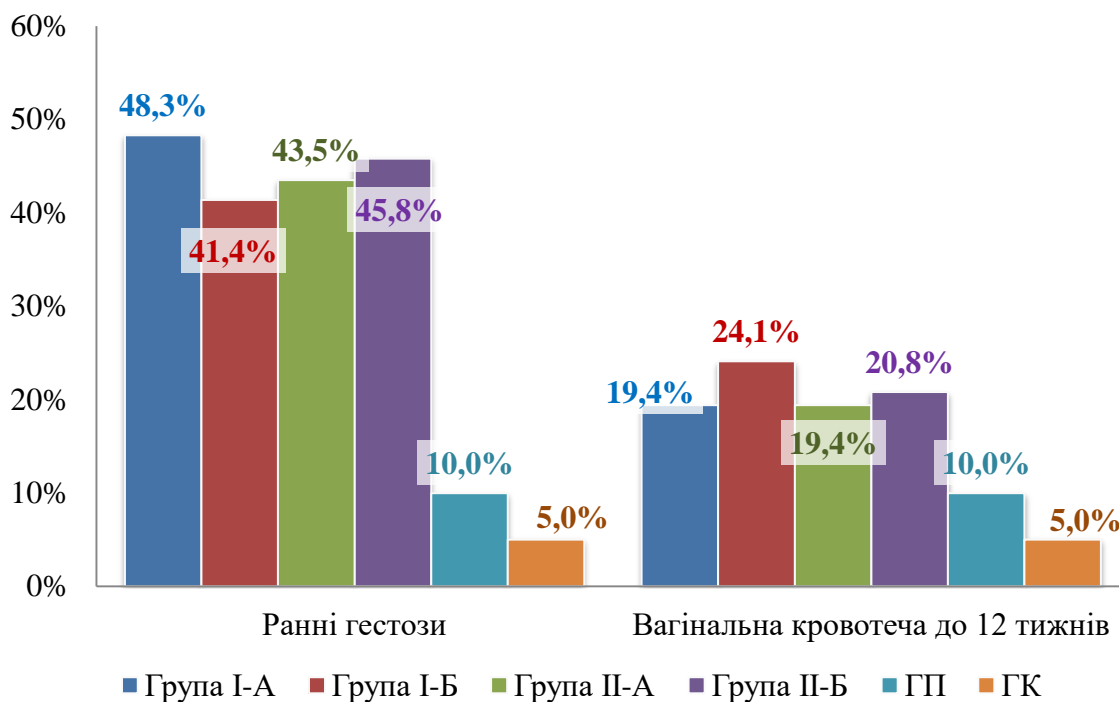


Рис. 3.5 Особливості перебігу даної вагітності - перебіг (%)

перебіг вагітності, але уже є повідомлення як вітчизняних, так і зарубіжних науковців, що перенесений «ковід» має негативні негайні та віддалені наслідки на перебіг вагітності та безпосередньо на плід. SARS-CoV-2 був ідентифікований методом ПЛР у 22 (20,5%) пацієнток основної групи (16,7% жінок першої групи, 21% жінок другої групи), що також мало достовірну різницю ($p < 0,01$) у порівнянні із групою контролю.

Розвиток ранніх гестозів у вагітних часто може ускладнювати перебіг вагітності. Плацентарні порушення можуть бути безпосередньою причиною їх розвитку, адже негаразди у процесах плацентації ведуть до неспроможності фето-плацентарного комплексу, реакції материнського організму на порушення на ці зміни, виділення стресових біологічно активних речовин та посилення патологічної аферентації до центральної нервової

системи, що й слугує причиною розвитку гестозу I половини вагітності. У нашому дослідженні розвиток раннього гестозу мав місце у 48 (44,9%) вагітних основної групи (45% жінок першої групи, 44,7% жінок другої групи), що також має достовірну різницю ($p < 0,01$).

Також у досліджуваних вагітних можна було спостерігати досить високу схильність до вагінальних кровотеч як загрозової ознаки вагітності. Загалом кровотечі до 12 тижнів вагітності спостерігались у 24 жінок (13 вагітних першої групи, що становить 21,6%, та 11 жінок – 23,4% - другої групи), а кровотечі після 12 тижнів – у 9 жінок: 5 осіб з групи I (8,3%) та 4 особи з групи II (8,5%), що мало достовірну різницю при порівнянні із групою контролю ($p < 0,01$).

При дослідженні впливу шкідливих звичок на перебіг вагітності у жінок із плацентарними порушеннями було встановлено, що досить високий відсоток жінок не кинули палити після настання вагітності, а деякі продовжували вживати слабоалкогольні напої на ранніх термінах. Вплив нікотину має несприятливі наслідки для перебігу вагітності, оскільки порушує баланс між проліферацією та диференціюванням цитотрофобласта, прямо чи опосередковано впливає на створення патологічно гіпоксичного середовища, що і є передумовою для розвитку плацентарних порушень у вагітних. Тютюнопаління не припинили 28 (26,1%) жінок основної групи, 25% вагітних першої групи та 27,7% пацієток другої групи ($p < 0,01$ при порівнянні з контрольною).

Що стосується впливу алкоголю на вагітність, то слід зазначити, що існують два основні механізми, через які здійснюється порушення функції плаценти: при низьких дозах це короточасний спазм пуповини, при підвищенні доз та тривалості вживання –

вазоконстрикція плацентарного ложа та підвищення перфузійного тиску. Також відомо, що етанол має властивість проходити через фето-плацентарний бар'єр та призводити до розвитку патології у плода. У нашому дослідженні алкоголь у невеликих дозах (до 2 «дрінків» на день) продовжувала вживати 21 жінка (19,6%) основної групи (18% першої групи та 21,3% другої групи), що мало достовірну відмінність від групи контролю ($p < 0,01$). Після встановлення підозри на розвиток плацентарних порушень та надані рекомендації щодо припинення паління та вживання алкоголю, жінки як правило починали дотримуватись здорового способу життя, але до суттєвого покращення перебігу вагітності в подальшому це не призводило.

Отже, підсумовуючи результати, було знайдено певні особливості анамнезу у жінок із передчасними пологами на фоні плацентарних порушень. Певний внесок у розвиток передчасних пологів при плацентарних порушеннях без інфекції може мати зайнятість вагітних у професіях, які передбачають нервово-емоційне перевантаження, а у тих жінок, які завагітніли будучи студентками і, відповідно, знаходяться у більш юному віці, характерне приєднання інфекційного чинника. Для розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів характерні також такі особливості акушерсько-гінекологічного анамнезу як наявність попередніх мимовільних викиднів, завмерлих вагітностей, прееклампсії та ендометріозу. Для жінок групи II характерний також розвиток хронічних інфекцій статевого тракту. Також у досліджуваних було знайдено певні особливості соматичного анамнезу: достовірно вища захворюваність на цукровий діабет, хронічні запальні захворювання нирок, гіпертонічну хвороба, а також відхилення в масі тіла, як у бік ожиріння, так і у сторону недостатньої маси тіла до вагітності. Що стосується перебігу даної вагітності, то достовірно частіше розвиток плацентарних порушень та передчасних пологів є характерною для жінок, які при даній вагітності

перенесли ГРВІ (в т.ч. SARS-CoV-2), ранні гестози, мали розвиток вагінальних кровотеч у терміні до 12 тижнів вагітності, а також у тих, хто не повністю або взагалі не припинив тютюнопаління чи вживання алкоголю після настання поточної вагітності.

Отримані у даному розділі результати відображено у наступних публікаціях:

1. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023) Роль активності p65 NF-κB, каспази-3, а також морфізм гена VEGF у розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях. *Репродуктивне здоров'я жінки*, 1(64), 49–55. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276250>

РОЗДІЛ 4

РЕЗУЛЬТАТИ ЛАБОРАТОРНИХ МЕТОДІВ ОБСТЕЖЕННЯ

4.1 Аналіз стану піхвового біоценозу молекулярно-генетичним методом

Мікробний склад вагінальних виділень є відображенням загального здоров'я жінки. Протягом життя він регулюється багатьма чинниками: гормональними, імунними загальними та місцевими тощо. При вагітності, як особливому періоді життя жінки, часто спостерігаються зміни у біоценозі піхвового середовища внаслідок локальної імуносупресії, що є результатом пристосування до виношування напів чужорідного організму. Як відомо, інфекційний фактор є одним із основних причин розвитку передчасної пологової діяльності, в тому числі у пацієток із існуючими попередньо виявленими плацентарними порушеннями.

Результати дослідження мікробіоценозу піхвового вмісту наведений у таблицях нижче (таб. 4.1, таб. 4.2, таб. 4.3). Нормоценоз можливий лише при переважанні кислотопродукуючих паличок у піхвовому вмісті, які зумовлюють низький рН вагінального середовища, що слугує фактором захисту від інфекцій; а також підтримують рівновагу мікроорганізмів, пригнічуючи ріст та розвиток інших видів мікрофлори. При кількісному аналізі вмісту лактобацил було знайдено достовірну різницю між жінками II групи і жінками з групи I та контрольної: якщо для останніх двох груп характерні високі рівні лактобацил у вагінальному секреті (87,1% жінок групи I-A мали високий бактеріальний вміст лактобацил - в середньому $7,2 \pm 0,7$ ГЕ/мл; подібні результати знайдено у групі I-Б:

93,1% вагітних мали бактеріальне навантаження лактобацилами в середньому $7,1 \pm 0,8$ ГЕ/мл, 90,0% у контрольній когорті теж мали високий вміст паличок Додерлейна – в середньому $7,1 \pm 1,0$ ГЕ/мл), то для жінок із групи II фізіологічні кількості кислотоутворюючих паличок було знайдено лише у 13% жінок підгрупи II-A та у 20,8% групи II-B ($p < 0,01$), причому середній вміст лактобактерій у цих групах становив $4,7 \pm 1,1$ ГЕ/мл та $4,5 \pm 1,2$ ГЕ/мл відповідно.

Таблиця 4.1

Результати кількісного та якісного складу нормальної вагінальної, а також факультативно-анаеробної мікробіоти в досліджуваних групах (абс., %; $M \pm \sigma$)

Мікроорганізм и піхвового середовища (в Lg ГЕ/мл)		Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Lactobacillus spp	$\geq 10^6$ ГЕ/мл абс. (%)	27 (87,1)	27 (93,1)	3 (13,0)*	5 (20,8)*	15 (75,0)	18 (90,0)
	$< 10^6$ ГЕ/мл абс. (%)	4 (12,9)	2 (6,9)	20 (87,0)*	19 (79,2)*	5 (25,0)	2 (10,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^6$)	7,2 $\pm 0,7$	7,1 $\pm 0,8$	7,0 $\pm 0,6$	7,1 $\pm 0,9$	6,9 $\pm 1,1$	7,1 $\pm 1,0$
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^6$)	5,9 $\pm 0,7$	5,8 $\pm 0,9$	4,7 $\pm 1,1^*$	4,5 $\pm 1,2^*$	4,7 $\pm 0,6$	6,1 $\pm 0,8$
Enterobacteriaceae spp.	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	3 (9,7)	2 (6,9)	9 (39,1)	15 (62,5)	3 (15,0)	2 (10,0)
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	28 (90,3)	27 (93,1)	14 (60,9)	9 (37,5)	17 (85,0)	18 (90,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	5,2 $\pm 0,3$	4,9 $\pm 0,4$	4,5 $\pm 2,1$	5,1 $\pm 1,5$	4,8 $\pm 0,9$	4,2 $\pm 0,2$

	M±σ (при <10 ⁴)	0,9 ±0,7	1,3 ±1,1	3,2 ±1,4	2,6 ±1,2	1,3 ±0,9	1,3 ±0,8
Strepto coccus spp.	≥10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	6 (26,1)*	5 (20,8)*	4 (20,0)	1 (5,0)
	<10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	17 (73,9)*	19 (79,2)*	16 (80,0)	19 (95,0)
	M±σ (при ≥10 ⁴)	-	-	5,6±0, 5	5,2 ±0,1	6,2 ±0,5	4,1 ±0,0
	M±σ (при <10 ⁴)	1,8 ±0,6	0, 8±0,6	1,7 ±0,9	2,3 ±0,9	2,1±1, 2	1,6±0, 9
Staphy lococ cus spp.	≥10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	2 (6,4)	1 (3,5)	7 (30,4)*	6 (25,0)*	2 (10,0)	1 (5,0)
	<10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	29 (93,6)	28 (96,5)	16 (69,6)	18 (75,0)	18 (90,0)	19 (95,0)
	M±σ (при ≥10 ⁴)	4,6 ±0,1	4.4	6,2 ±0,7	5,1 ±1,3	5,8 ±0,9	4,2 ±0,0
	M±σ (при <10 ⁴)	0,9 ±0,7	1,7 ±0,7	3,1 ±0,4	2,9 ±1,1	1,7 ±1,8	0,8 ±0,5

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

Існує декілька механізмів, за якими патогенні мікроорганізми можуть викликати передчасні пологи. Головна роль у цьому належить ліпополісахаридам клітинної стінки бактерій, що є вагомими факторами патогенності, які запускають каскад запалення в організмі. Внаслідок активації запалення, організм спрямовує свої сили на, по-перше, знищення збудника, і, по-друге, на обмеження патологічного процесу. Для першої мети внаслідок активації різних систем організму вивільняються певні клітини та молекули, що мають антимікробні властивості, але разом із дією на інфекційний чинник ефektorні фактори можуть атакувати не лише сам збудник,

але й пошкоджувати і навколишні клітини хазяїна, викликаючи ускладнення, в нашому випадку – передчасні пологи та плацентарну недостатність. Другою основною метою запалення є запобігання поширенню мікроорганізмів, і це часто досягається шляхом активації системи згортання крові та утворення тромбів у кровоносних судинах, які дрениують інфіковані/запалені місця, що в свою чергу може викликати порушення кровопостачання плацентарної ділянки та обміну між матір'ю і плодом, викликаючи вищезгадані патологічні стани при вагітності. Досліджуючи кількісний вміст

Таблиця 4.2

**Результати кількісного та якісного складу вагінальної
облігатно-анаеробної грам-негативної мікробіоти в
досліджуваних групах (абс., %; $M \pm \sigma$)**

Мікроорганізми піхвового середовища (в Lg ГЕ/мл)	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Груп а II-A (n= 23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	10 (43,5) *	4 (16,7) *	2 (10,0)	-
$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	13 (56,5)	20 (83,3)	18 (90,0)	20 (100,0)
$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	-	-	7,2 $\pm 0,7$	4,3 $\pm 1,5$	5,4 $\pm 1,1$	-
$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	1,8 $\pm 0,9$	1,1 $\pm 0,6$	2,1 $\pm 0,3$	1,9 $\pm 0,$ 7	2,1 $\pm 0,8$	0,5 $\pm 0,2$

Sneathia spp., Leptotrichia spp., Fusobacterium spp.	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	5 (21,7)	10 (41,6)	1 (5,0)	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	18 (78,2)	14 (58,4)	19 (95,0)	20 (100,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	-	-	4,1 \pm 1,1	7,1 \pm 1,2	5,1 \pm 0,0	-
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	0,9 \pm 0,1	1,2 \pm 0,4	2,2 \pm 1,4	1,9 \pm 1,4	2,3 \pm 1,1	1,0 \pm 0,5
Megaspheera spp., Veillonella spp., Dialister spp.	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	1 (4,3)	1 (4,2)	-	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	22 (95,7)	23 (95,8)	20 (100,0)	20 (100,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	-	-	4,2 \pm 0,0	4,3 \pm 0,0	-	-
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	1,1 \pm 0,7	1,4 \pm 1,0	1,1 \pm 0,5	1,4 \pm 0,7	1,4 \pm 0,4	1,1 \pm 0,6

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

бактерій роду *Staphylococcus* у піхвовому вмісті, було знайдено достовірну різницю ($p < 0,01$): у групі II-A 30,4% жінок мали цю інфекцію, у групі II-B – 25% жінок. Схожу тенденцію можна спостерігати з *Streptococcus* spp., інфікованими цим патогеном були 26,1% жінок групи II-A та 20,8% жінок групи II-B ($p < 0,01$). Ці два грам-позитивні мікроорганізми, що є факультативними анаеробами, часто зустрічаються у комбінації та є загальновизнаними агентами спричинення передчасних пологів, причому за обома клінічними видами відносно ПРПО. Що стосується жінок, у яких було знайдено інфекцію *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. – для всіх них

також була спільна риса: достовірне переважання ($p < 0,01$) клінічного типу розвитку передчасних пологів без ПРПО. Таким чином, інфекція *Atorobium vaginae* була знайдена у 37,5% жінок групи II-Б у високих кількостях - $7,2 \pm 0,7$ ГЕ/мл, і лише у 13% жінок групи II-А в порогових кількостях $4,5 \pm 1,1$ ГЕ/мл. Інфікування асоціацією бактерій *Mobiluncus spp.* + *Corynebacterium spp.* було виявлено у 33,3% жінок групи II-Б і лише у 8,7% жінок групи II-А. досліджуваних когорти II-Б, а *Sneathia spp.* + *Leptotrichia spp.* + *Fusobacterium spp.* – у 41,6% жінок з передчасними пологами без ПРПО.

Таблиця 4.3

Результати кількісного та якісного складу вагінальної мікробіоти родини *Mycoplasmataceae* в досліджуваних групах (абс., %; $M \pm \sigma$)

Мікроорганізми піхвового середовища (в Lg ГЕ/мл)		Група I-А (n=31)	Група I-Б (n=29)	Група II-А (n=23)	Група II-Б (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Mycoplas. hominis	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	1 (3,2)	-	2 (8,7)	-	-	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	30 (96,8)	29 (100,0)	21 (91,3)	24 (100,0)	20 (100,0)	20 (100,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	$4,1 \pm 0,0$	-	$5,1 \pm 0,7$	-	-	-
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	$0,9 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,2$	$1,2 \pm 0,6$	$1,3 \pm 0,8$	$1,7 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,8$

Ureaplasma (urealyt. + parv.)	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	5 (21,7) *	2 (8,3)	-	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	18 (78,3)	22 (91,7)	20 (100,0)	20 (100,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	-	-	6,2 $\pm 0,7$	4,2 $\pm 1,5$	-	-
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	1,9 $\pm 0,8$	1,1 $\pm 0,5$	2,1 $\pm 0,3$	1,9 $\pm 0,8$	1,9 $\pm 0,3$	1,5 $\pm 0,2$
Mycoplasma genit.	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	6 (25,0) *	3 (12,5)	-	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	18 (75,0)	21 (87,5)	20 (100,0)	20 (100,0)
	$M \pm \sigma$ (при $\geq 10^4$)	-	-	7,1 $\pm 0,4$	4,7 $\pm 1,6$	-	-
	$M \pm \sigma$ (при $< 10^4$)	1,1 $\pm 0,9$	1,6 $\pm 0,4$	1,1 $\pm 0,9$	2,2 $\pm 0,4$	1,3 $\pm 0,6$	1,1 $\pm 0,4$

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

При дослідженні асоціації бактерій *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. було знайдено достовірну відмінність ($p < 0,01$) у групі II-A - 43,5% жінок мали цю інфекцію у досить високому бактеріальному навантаженні: $7,2 \pm 0,7$ ГЕ/мл. При цьому для групи II-B ця інфекція виявилась менш характерною і була виявлена лише у 16,7% жінок. Схожу тенденцію мали мікроорганізми групи *Mycoplasma genitalium*: у 30,4% жінок групи II-A було знайдено діагностично значимі титри з бактеріальним навантаженням $7,1 \pm 0,4$ ГЕ/мл, і лише у 12,5% групи II-B з середньою кількістю $4,7 \pm 1,6$ ГЕ/мл. Також, подібні зміни було відмічено у групі *Ureaplasma*

(urealyticum + parvum), інфікування якою зазнало 34,8% жінок із ПРПО (група II-A), і лише 8,3% вагітних когорти II-B. Загалом, етіологія ПРПО є багатофакторною, а механізми - досі не з'ясовані остаточно. Однак найбільш поширеною думкою щодо розвитку передчасного розриву плодових оболонок є ослаблення позаклітинного матриксу всередині амніо-хоріональної мембрани внаслідок деградації колагену, оскільки на це вказують такі зміни, як зменшення колагенової тканини, порушення структури колагену при мікроскопії плодових оболонок після спонтанного передчасного розриву, а також підвищення колагенолітичної активності в них. Розпад колагену викликається матриксними металопротеїназами, які найчастіше активуються внаслідок підвищеної апоптозної активності в організмі, що теж може бути наслідком інфекції та особливостей впливу її факторів патогенності на молекулярні механізми відповіді на збудник.

Таблиця 4.4

**Результати кількісного та якісного складу вагінальної
облігатно-анаеробної грам-позитивної мікробіоти в досліджуваних
групах (абс., %; $M \pm \sigma$)**

Мікроорганізм и піхвового середовища (в Lg ГЕ/мл)		Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Eubac terium spp.	$\geq 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	2 (8,7)	3 (12,5)	2 (10,0)	-
	$< 10^4$ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	21 (91,3)	21 (87,5)	18 (90,0)	20 (100,0)

	M±σ (при ≥10 ⁴)	-	-	4,4 ±0,6	4,0 ±0,1	5,1 ±0,7	-
	M±σ (при <10 ⁴)	1,0 ±0,8	1,3 ±1,1	1,2 ±0,1	1,5 ±0,8	2,3 ±1,2	1,1 ±0,7
Mobil uncus spp., Coryn ebacte rium spp.	≥10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	2 (8,7)	8 (33,3)	3 (15,0)	-
	<10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	21 (91,3)	16 (66,7)	17 (85,0)	20 (100,0)
	M±σ (при ≥10 ⁴)	-	-	4,2 ±0,1	6,9 ±2,1	4,6 ±1,5	-
	M±σ (при <10 ⁴)	1,0 ±0,9	1,7 ±1,1	1,9 ±0,1	2,2 ±1,1	3,1 ±0,5	1,5 ±0,5
Atopo bium vagina e	≥10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	-	-	3 (13,0)	9 (37,5) *	3 (15,0)	-
	<10 ⁴ ГЕ/мл абс. (%)	31 (100,0)	29 (100,0)	20 (87,0)	15 (62,5)	17 (85,0)	20 (100,0)
	M±σ (при ≥10 ⁴)	-	-	4,5 ±1,1	7,2 ±0,7	6,1 ±0,8	-
	M±σ (при <10 ⁴)	1,3 ±0,3	1,1 ±0,6	1,9 ±0,8	2,5 ±0,9	1,9 ±1,1	1,5 ±0,6

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

Внаслідок потрапляння певних видів мікроорганізмів активуються інші, відмінні від класичного запалення, сигнальні шляхи, що призводить до надмірної активації процесів програмованої клітинної загибелі.

При проведенні молекулярно-генетичного методу визначення інфекції вагінального тракту не було знайдено достовірної різниці між вмістом бактерій родів *Mycoplasma hominis*, *Peptostreptococcus* spp., *Eubacterium* spp., *Lachnobacterium* spp. + *Clostridium* spp.,

Megasphaera spp. + *Veillonella* spp. + *Dialister* spp. при порівнянні жінок групи II як з контрольною групою, так і з групою I ($p < 0,01$). Також, не було достовірної різниці між кількісним вмістом грибів роду *Candida* spp.: залишкові кількості були знайдені у всіх групах жінок, оскільки грибка інфекція є найпоширенішим типом дизбіозу у гінекологічній практиці.

Таким чином, в результаті молекулярно-генетичного дослідження мікробного складу піхвових виділень, було знайдено певні закономірності. Для жінок першої та контрольної групи був характерний нормоценоз вагінального тракту із досить високим середнім вмістом лактобацил. В залежності від переважаючого типу мікроорганізму у піхвових виділеннях, було знайдено певні закономірності клінічного перебігу передчасних пологів при плацентарних порушеннях: при виявлених діагностично значимих титрах і, додатково, досить високому бактеріальному навантаженні (в середньому 6-7 ГЕ/мл) асоціацій *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Mycoplasma genitalium* та *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, пологи перебігали переважно з розвитком ускладнення у вигляді передчасного розриву плодових оболонок. Високі діагностичні кількості асоціацій *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. у вагінальних виділеннях асоціюються з розвитком спонтанних передчасних пологів без передчасного розриву плодових оболонок. Крім того, при виявленні інфікування бактеріями родів *Staphylococcus* spp. та *Streptococcus* spp., також підвищується ризик виникнення передчасних пологів, але такі пологи можуть перебігати як із розвитком ПРПО, так і без нього.

4.2 Дослідження концентрації та активності p-65 субодиниці ядерного фактору κB у пацієнток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.

Ядерний фактор κB (NF-κB) – це комплексний транскрипційний фактор, який бере участь як у фізіологічних, так і в патологічних процесах, контролюючи синтез понад 400 біологічно активних речовин: цитокінів, хемокінів, імунних рецепторів, антигенпрезентуючих білків, гострофазних протеїнів, факторів росту тощо. Класично вважається, що NF-κB складається з п'яти субодиниць: NF-κB1, NF-κB2, p65 (RelA), RelB та c-Rel, у кожній з яких є свої унікальні функції. Особливістю p65-субодиниці є те, що у неактивному (зв'язаному із своїм інгібітором) стані вона знаходиться у цитоплазмі клітин, а будучи активованою – переміщається до ядра та впливає на транскрипцію різних генів, контролюючи в основному процеси запалення та імунної відповіді, баланс яких при вагітності займає провідне місце. Тому дослідження фактору, участь якого є беззаперечною у вищезгаданих процесах, становить інтерес, особливо при виникненні таких ускладнень, як плацентарні порушення та передчасні пологи. Дослідження p65-субодиниці ядерного фактору проводилось шляхом визначення у лізатах клітин плацент, отриманих від жінок досліджуваної та контрольної груп, загальної кількості білку p65 NF-κB ($p65NF-κB_{tot}$), фосфорильованої його фракції ($p65NF-κB_{phos}$), і розрахунку, на основі цих даних, ступеню активності транскрипційного фактору (у відсотках) по співвідношенню загальної та фосфорильованої p65-субодиниці ядерного фактору κB ($p65NF-κB_{phos}/p65NF-κB_{tot}$).

Як видно з таблиці та діаграм (таб. 4.5, рис. 4.1), у жінок із плацентарними порушеннями та передчасними пологами концентрація загальної p65-субодиниці ядерного фактору κB у всіх

групах відрізняється від груп контролю та порівняння на достовірних рівнях значимості ($p < 0,05$), що може свідчити про підвищену експресію цього білку при розвитку плацентарних порушень та асоційованим з ними вищим ризиком розвитку передчасних пологів у цих жінок на відміну від контрольної когорти.

Таблиця 4.5

Визначення концентрації та активності p65-субодиниці NF- κ B у жінок основної та контрольної груп ($M \pm m$)

Показник	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
p65NF- κ B _{tot} , пг/мл	60,1 $\pm 6,5^*$	64,3 $\pm 5,7^*$	71,1 $\pm 13,1^*$	75,6 $\pm 11,8^*$	56,9 $\pm 5,1$	53,1 $\pm 6,3$
p65NF- κ B _{phos} , пг/мл	23,6 $\pm 7,3^*$	25,9 $\pm 2,9^*$	58,7 $\pm 1,4^*$	52,7 $\pm 2,3^*$	17,4 $\pm 3,9$	15,5 $\pm 4,7$
Активність p65NF- κ B, %	39,3 $\pm 5,1^*$	40,2 $\pm 6,8^*$	65,4 $\pm 7,6^*$	72,8 $\pm 7,4^*$	30,5 $\pm 5,6$	29,2 $\pm 7,6$

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

При міжгруповому аналізі концентрацій загальної фракції p65 NF- κ B встановлено, що достовірно вищі значення даного показника спостерігаються у групі II із наявним запаленням та дисбіозом статевого тракту II-A ($71,1 \pm 13,11$ пг/мл) та II-B ($75,6 \pm 11,8$ пг/мл), до того ж, у цих групах виявлено найвищі показники активованої фракції p65 ($58,7 \pm 1,4$ пг/мл для групи II-A; $52,7 \pm 2,3$ пг/мл для групи II-B) і, відповідно, найвищі активності цього транскрипційного фактору ($65,4 \pm 7,6\%$ для групи II-A; $72,8 \pm 7,4\%$ для групи II-B, $p < 0,01$). У групі I без запальних змін та дисбіозу піхви також

виявлено достовірну різницю з групами порівняння та контролю, але ступінь різниці є дещо меншим, на рівні достовірності $p < 0,05$. Це свідчить про те, що у жінок із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів р65- субодиниця NF-κB, імовірно, має більший певний вплив на ініціацію спонтанної передчасної пологової діяльності.

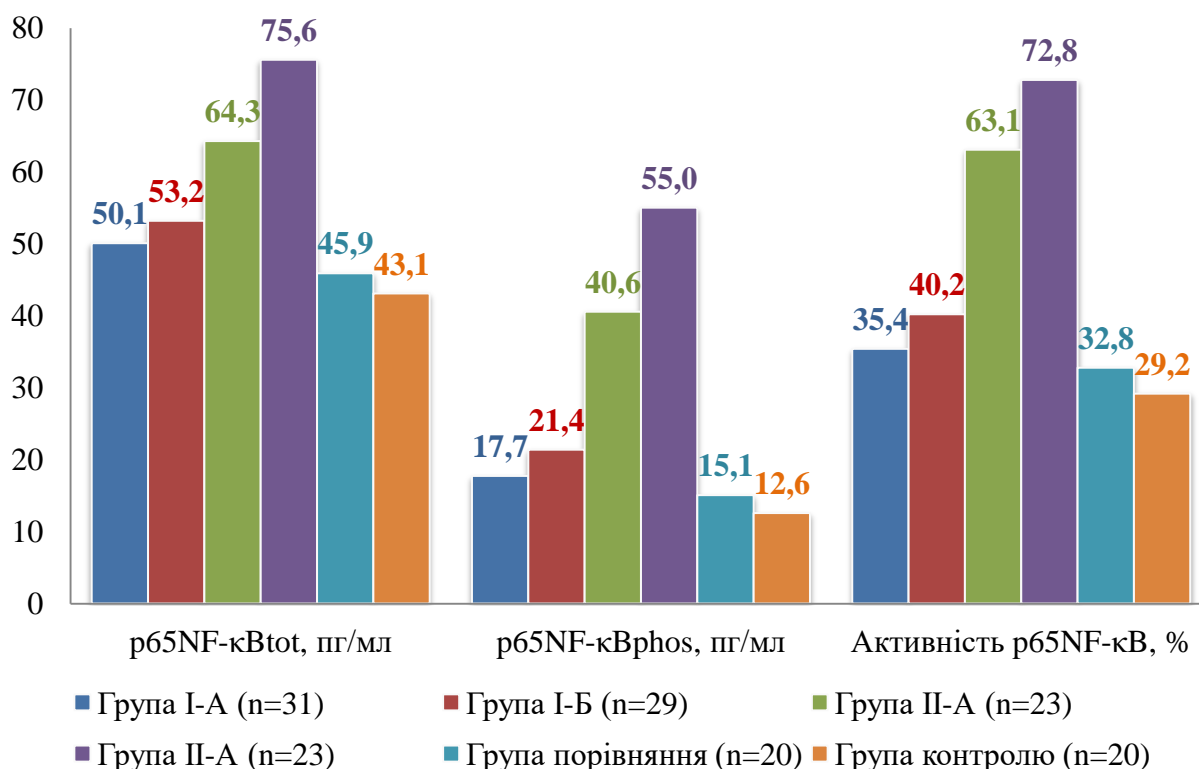


Рис. 4.1 Концентрація загальної, активної р65-субодиниці NF-κB та її активність у плаценті жінок досліджуваних груп (%)

При порівнянні активностей р65-субодиниці NF-κB у групах I-Б та II-Б можна побачити, що показник є достовірно вищим у групі II-Б ($p=0,04$), що вказує на можливу додаткову активацію досліджуваного транскрипційного фактору запаленням, викликану інфекційним чинником. Підтвердженням факту ролі інфекції в розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях слугує

також достовірно вища активність p65-субодиниці NF-кВ у групі з інфекцією та передчасним розривом плодових оболонок II-A, на відміну від групи I-A з ПРПО ($p < 0,01$), де мікробного обсіменіння статевих шляхів виявлено не було. Що стосується власне жінок групи I-A, кількості загальної, активованої фракції та активності p-65 NF-кВ у порівнянні із іншими підгрупами основної когорти була достовірно нижчою ($p < 0,01$), але вищою за аналогічні показники у контрольній групі ($p < 0,05$), що може свідчити про потенційну наявність у них іншого механізму розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях і ПРПО, а також про його пригнічувальний вплив на активність p65-субодиниці NF-кВ.

Таким чином, нами було встановлено, що при передчасних пологах із існуючими плацентарними порушеннями рівень активності p65-субодиниці NF-кВ підвищується у порівнянні із ГП та ГК, що дає змогу говорити про підвищену активність p65NF-кВ як чинника виникнення передчасної пологової діяльності при існуванні відхилень у функціонуванні плаценти. Враховуючи результати дослідження, постає питання про метод опосередкованої оцінки активності цього чинника, доступний для визначення при вагітності рутинними методами без використання плацентарної тканини. Такими орієнтирами можуть слугувати Th1/Th2 співвідношення та IL-1 β , мова про які піде нижче.

4.3 Дослідження концентрації та співвідношення Т-хелперів I і II типів у пацієнток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.

Для нормального перебігу вагітності важливо, щоб в організмі жінки імунна система працювала відповідно до нагальних потреб материнського організму, що забезпечувало б гарну переносимість

напів чужорідного плода матір'ю. Це забезпечується багатьма механізмами імунної системи, одним із яких є підтримка на достатньому рівні кількості циркулюючих Т-хелперів II типу, які продукують переважно протизапальні цитокіни, а другим - одночасне забезпечення збалансованої кількості Т-хелперів I типу, що виробляють запальні лімфокіни. При існуванні стимулів, які б ставали на заваді підтримці цієї рівноваги, одним із яких є активація р65-субодиниці NF-κB, відбуваються зміни у співвідношенні Th1/Th2, що може бути причиною виникнення передчасних пологів за рахунок активації імунних механізмів.

Таблиця 4.6

Концентрація та співвідношення Т-хелперів I і II типів у крові жінок досліджуваних груп (M±σ)

Показник	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Т-хелпери 1 типу, %	30,8 ±1,7*	32,1 ±3,1*	34,8 ±5,1*	37,6 ±3,3*	20,9 ±2,7	21,9 ±4,1
Т-хелпери 2 типу, %	21,7 ±2,1*	20,6 ±1,2*	15,6 ±4,3	15,7 ±2,1	16,1 ±9,3	17,6 ±9,3
Співвідношення Th1/Th2	1,41 ±0,5*	1,56 ±0,2*	2,23 ±0,2*	2,39 ±0,7*	1,29 ±0,8	1,24 ±0,8

*Примітка: * – p<0,05 при співставленні з контрольною та порівняльною групами*

Тому ми ставили за мету не лише ізольовано вивчити кількість та співвідношення Т-хелперів I і II типів, але і відстежити зв'язок із активністю р65-субодиниці ядерного фактору κB. Для дослідження типів хелперної популяції Т-лімфоцитів ми використовували внутрішньоклітинний вміст IFN-γ (ідентифікували як Т-хелпери I

типу) та IL-4 (визначали як Т-хелпери II типу) у лімфоцитах, які мали мембранний рецептор CD4+. Дослідження співвідношення Т-хелперів I і II типів проводилось шляхом проточної цитофлуориметрії (таб. 4.6, рис. 4.2). Найбільш показові зміни спостерігались кількості Т-хелперів I типу і, відповідно, співвідношення Th1/Th2: в усіх підгрупах основної когорти було знайдено достовірну різницю в порівнянні із контрольною групою ($p < 0,05$).

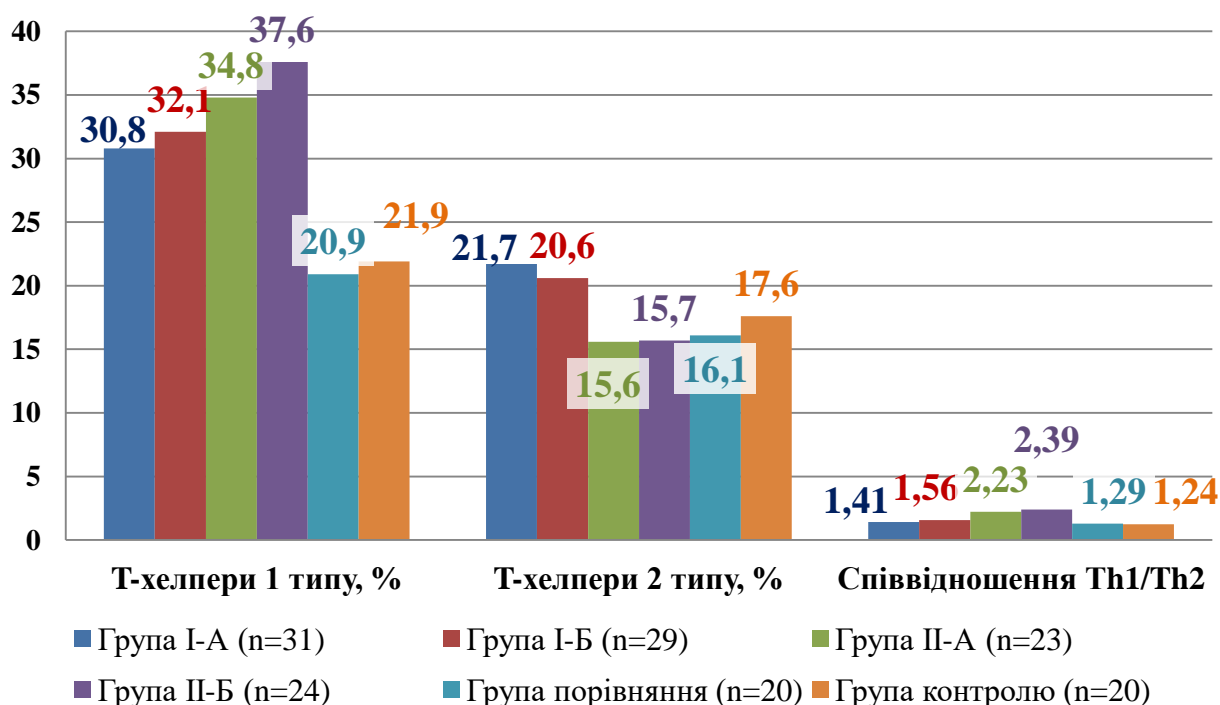


Рис. 4.2 Концентрація та співвідношення Т-хелперів I і II типів у крові жінок досліджуваних груп

Високі показники жінок із інфекцією (II-A та II-B) можна пояснити наявністю у них додаткового стимулювання імунно-запальної відповіді мікробними агентами, на фоні чого привертає до себе увагу досить висока концентрація Т-хелперів I типу у жінок із спонтанними передчасними пологами без інфекції і ПРПО (група I-

Б), і, відповідно, вища активність у них запальної відповіді без наявності очевидного тригера. При визначенні кількості Т-хелперів II типу не було встановлено достовірної різниці між групою порівняння, контролю і жінками групи II, у яких було виявлено запалення та дисбіоз статевих шляхів ($p > 0,05$), основна різниця стосувалась групи вагітних I (I-A та I-Б), де було знайдено достовірну різницю концентрації Th2 у порівнянні з групою контролю та порівняння ($p < 0,05$).

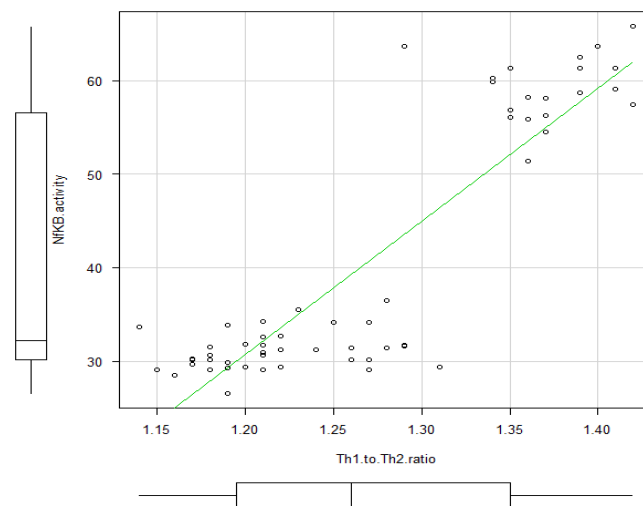


Рис. 4.3 Кореляційний аналіз активності p-65 NF-κB із співвідношенням Th1/Th2 у пацієток досліджуваних груп

Але варто звернути увагу, що досить показові зміни між фракціями Т-хелперів можна побачити досліджуючи саме співвідношення Th1/Th2, а не ізольовані значення концентрацій клітин: у всіх жінок основної групи із плацентарними порушеннями було знайдено достовірні відмінності з групою контролю та порівняння, але величини показників та рівень достовірності дещо різнився залежно від групи: для жінок групи I без запалення та

інфекції статевого тракту були характерні дещо нижчі значення ($1,41 \pm 0,5$ та $1,56 \pm 0,2$ для груп I-A та I-B відповідно, $p < 0,05$) ніж для іншої когорти жінок ($2,23 \pm 0,2$ і $2,39 \pm 0,7$ для груп II-A та II-B, $p < 0,01$).

Зважаючи на деяку схожість аналітичної картини показників Т-хелперної ланки із результатами дослідження р65-субодиниці ядерного фактору «каппа-бі», було проведено кореляційний аналіз між співвідношенням Th1/Th2 та активністю р65 NF-кВ та виявлено сильний позитивний зв'язок ($r=0,8$, $p < 0,01$) між вказаними показниками (рис. 4.3).

Отже, в результаті визначення кількості та співвідношення Т-хелперів I і II типів, нами було визначено підвищену активність імунно-запальної відповіді при плацентарних порушеннях та передчасних пологах як при наявності інфекції, так і без неї, а також прямий сильний зв'язок активності р65-субодиниці NF-кВ на співвідношення Th1/Th2.

4.4. Дослідження концентрації та активності каспази-3 у пацієнток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів

Роль апоптозу, запрограмованої смерті клітин, у розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів є неоднозначною. Тим не менш, існують дані, що на ранніх стадіях вагітності помірна активність апоптозу є важливою передумовою успішної імплантації та розвитку плаценти. Продемонстровано, що при розвитку ускладнень вагітності (наприклад, міхурового занеску, прееклампсії) спостерігається надмірна активація процесів клітинної загибелі, що може бути результатом впливу різноманітних внутрішніх та зовнішніх чинників, основними з яких є наявність гіпоксії та

розвиток окислювального стресу. Прогресування апоптозу характеризується послідовною активацією каскаду специфічних для апоптозу білків – так званих каспаз, серед яких є регуляторні та ефекторні підвиди. Каспаза-3 належить до ефекторних білків, відповідно підвищення її концентрації, особливо активованої - розчепленої по аспартату у позиції 173 - фракції, свідчить про безпосередню наявність та активність процесів апоптозу.

Таблиця 4.7

Визначення концентрації та активності каспази-3 у жінок досліджуваних груп (M±σ)

Показник	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
каспаза-3 _{tot} , пг/мл	69,5 ±2,1*	60,9 ±4,3*	55,1 ±1,5*	58,8 ±3,2*	52,7 ±1,4	51,4 ±1,8
каспаза-3 _{asp} , пг/мл	47,5 ±1,3*	37,6 ±3,3*	20,6 ±1,4	16,9 ±2,3	12,9 ±5,1	12,3 ±4,1
каспаза-3 _{asp/tot} , %	68,3 ±1,7* [□]	59,7 ±7,3*	37,4 ±5,1* [□]	28,4 ±3,3*	24,6 ±2,2	23,9 ±2,8

Примітки: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

[□] – $p < 0,05$ при внутрішньогруповому співставленні з підгрупою Б

У нашому дослідженні кількість загальної каспази-3 була достовірно вищою (таб. 4.7, рис. 4.4) у обох групах жінок із плацентарними порушеннями (69,5±2,1 пг/мл у групі I-A, 60,9±4,3 пг/мл у групі I-B, $p < 0,05$ у порівнянні з групою порівняння і контролю; а також 55,1±1,5 пг/мл та 58,8±3,2 пг/мл у підгрупах II-A та II-B відповідно, $p < 0,01$ у порівнянні з групою порівняння і контролю). Що стосується рівнів активної фракції каспази-3,

спостерігались подібні до попередніх зміни: найвищі значення у першій групі роділь (у групі I-A - $47,5 \pm 1,3$ пг/мл, у групі I-B - $37,6 \pm 3,3$ пг/мл; $p < 0,01$ з ГП та ГК), дещо нижчі, але достовірно відмінні від груп співставлення – у другій групі жінок ($20,6 \pm 1,4$ пг/мл та $16,9 \pm 2,3$ пг/мл для підгруп II-A та II-B відповідно, $p < 0,05$ з ГП та ГК). Схожу тенденцію виявили і у змінах показника активності каспази-3: у всіх жінок основної групи активність даної цистеїнової протеази була вищою при співставленні з групами порівняння і конт-

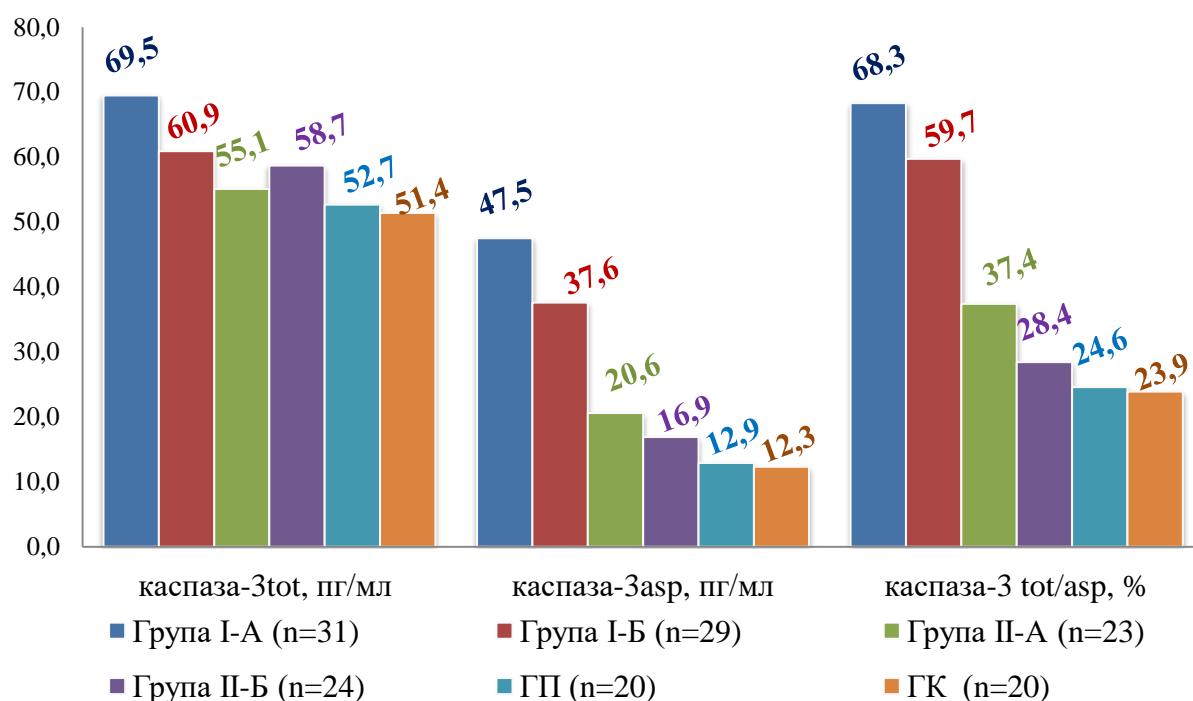


Рис. 4.4 Дослідження кількості та активності каспази-3 у плаценті жінок досліджуваних груп

ролю, з найвищими показниками у жінок групи I ($68,3 \pm 1,7\%$ та $59,7 \pm 7,3\%$ у підгрупах I-A та I-B відповідно, $p < 0,01$) та більш низькими – у групі II ($37,4 \pm 5,1\%$ та $28,4 \pm 3,3\%$ для груп II-A та II-B відповідно, $p < 0,05$). Також, при проведенні внутрішньогрупових статистичної обробки було встановлено, що у жінок з підгруп I-A і

II-A з передчасним розривом статевих оболонок спостерігаються достовірно вищі показники активності каспази-3, ніж у підгрупах I-B та II-B без ПРПО ($p < 0,05$).

Встановлення підвищеної активності процесів клітинної загибелі у плаценті є патогенетично важливим кроком, але постає питання можливості практичного використання цього показника для прогнозування та, потенційно, попередження розвитку передчасної пологової діяльності у жінок із плацентарними порушеннями під час вагітності. З цією метою нами було проведено визначення загальної каспази-3 без встановлення активної фракції у сироватці крові жінок, оскільки основну активність згадана протеаза проявляє у локально у тканинах плаценти, а системно доцільніше виявляти загальну кількість ферменту, що може супутньо підвищуватись за рахунок підвищення експресії про-апоптозних генів (таб. 4.8).

Таблиця 4.8

Визначення концентрації каспази-3 у сироватці крові ($M \pm \sigma$)

Показник	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
каспаза-3, пг/мл	31,8 $\pm 3,5^{*\square}$	26,8 $\pm 4,3^*$	21,9 $\pm 1,2^{*\square}$	17,1 $\pm 3,2^*$	11,5 $\pm 1,7$	9,4 $\pm 2,0$

Примітки: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

\square – $p < 0,05$ при внутрішньогруповому співставленні з підгрупою B

В результаті проведення визначення концентрації каспази-3 у сироватці жінок з передчасними пологами на фоні плацентарних порушень було встановлено, що кількість цієї цистеїнової протеази достовірно ($p < 0,01$ для групи I та $p < 0,05$ для групи II при порівнянні з ГП та ГК) вища у жінок з плацентарними порушеннями, найвищі

концентрації – у групах без дисбіозу і запалення статевих шляхів I-A й I-B ($31,8 \pm 3,5$ пг/мл та $26,8 \pm 4,3$ пг/мл відповідно), дещо нижчі у роділь із групи II (II-A - $21,9 \pm 1,2$ пг/мл та II-B - $17,1 \pm 3,2$ пг/мл). Також, при внутрішньогруповому порівнянні було встановлено, що рівні каспази-3 є більше підвищеними у пацієток груп I-A та II-A з передчасним розривом плодових оболонок ($p < 0,05$).

Враховуючи вказані знахідки та їх подібність до показника плацентарної активності каспази-3, було проведено кореляційний аналіз та встановлено сильний прямий зв'язок ($r=0,7$, $p < 0,05$) показника активності каспази-3 у плаценті та концентрації каспази у сироватці крові.

Знайдені відмінності свідчать про те, що у жінок із плацентарними порушеннями, у яких розвивається передчасна пологова діяльність, існує базова вища активність каспази-3 у порівнянні із вагітними із спонтанною передчасною пологовою діяльністю без плацентарних порушень, а також із жінками з терміновими пологами. Також варто відмітити, що активність процесів клітинної загибелі у плаценті є достовірно вищим саме у підгрупах з ПРПО, тому можна припустити наявність певних асоціацій із розвитком передчасних пологів по типу передчасного розриву плодових оболонок при зростанні активності каспази-3. Поясненням цьому може слугувати факт, що для ПРПО характерні процеси деградації колагену, що контролюються матриксними протеїназами, які в свою чергу вивільняються більш активно при утворенні апоптичних тілець.

4.5. Дослідження концентрації ІЛ-1 β та ІЛ-6 у сироватці крові пацієнток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів.

Як відомо, інтерлейкіни мають досить багато важливих функцій в організмі людини: беруть участь у процесах диференціації клітин імунітету, їх координації, можуть слугувати безпосередньо ефекторами або атрактантами для інших клітин – їх роль у процесах імунної відповіді і запалення важко переоцінити. Під час вагітності система цитокінів має особливе значення, так як за їх участю відбуваються тонкі процеси взаємодії між плодом та організмом вагітної, а також підтримується толерантність останнього до живої істоти всередині себе, яка має наполовину чужорідний генетичний матеріал.

Таблиця 4.9

Визначення концентрацій інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 у сироватці крові жінок досліджуваних груп ($M \pm \sigma$)

Показник	Група І-А (n=31)	Група І-Б (n=29)	Група ІІ-А (n=23)	Група ІІ-Б (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
ІЛ-1 β , пг/мл	89,7 $\pm 2,9^*$	95,1 $\pm 3,1^*$	128,5 $\pm 3,1^*$	139,5 $\pm 1,3^*$	73,6 $\pm 3,5$	77,3 $\pm 2,3$
ІЛ-6, пг/мл	119,7 $\pm 1,7^*$	108,1 $\pm 2,9^*$	94,3 $\pm 7,4$	89,6 $\pm 2,3$	80,5 $\pm 3,1$	81,6 $\pm 3,1$

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

Класично інтерлейкіни поділяють на прозапальні та протизапальні. До чисто прозапальних цитокінів прийнято відносити інтерлейкін-1-бета (ІЛ-1 β), який продукується переважно макрофагами та моноцитами і класично являється ключовим медіатором запалення.

При вагітності на ранніх термінах підвищена концентрація ІЛ-1 β є важливою, оскільки вона забезпечує нормальний перебіг процесів генів-продукторів попередників ІЛ-1 β , що веде до подальшого наростання концентрацій лімфокіну. Відображення цього можна побачити у нашому дослідженні (таблиця 4.9): у ІІ групі вагітних із інфекцією сироваткові рівні ІЛ-1 β є достовірно більше підвищеними, ніж у І групі жінок без виявленого запального та мікробного фактору ($p < 0,01$). У підгрупах вагітних І-А та І-Б концентрація ІЛ-1 β є статистично вищою за контрольну та порівняльну групи ($p < 0,05$), але рівень достовірності є меншим за вміст цього лімфокіну у першій групі пацієток.

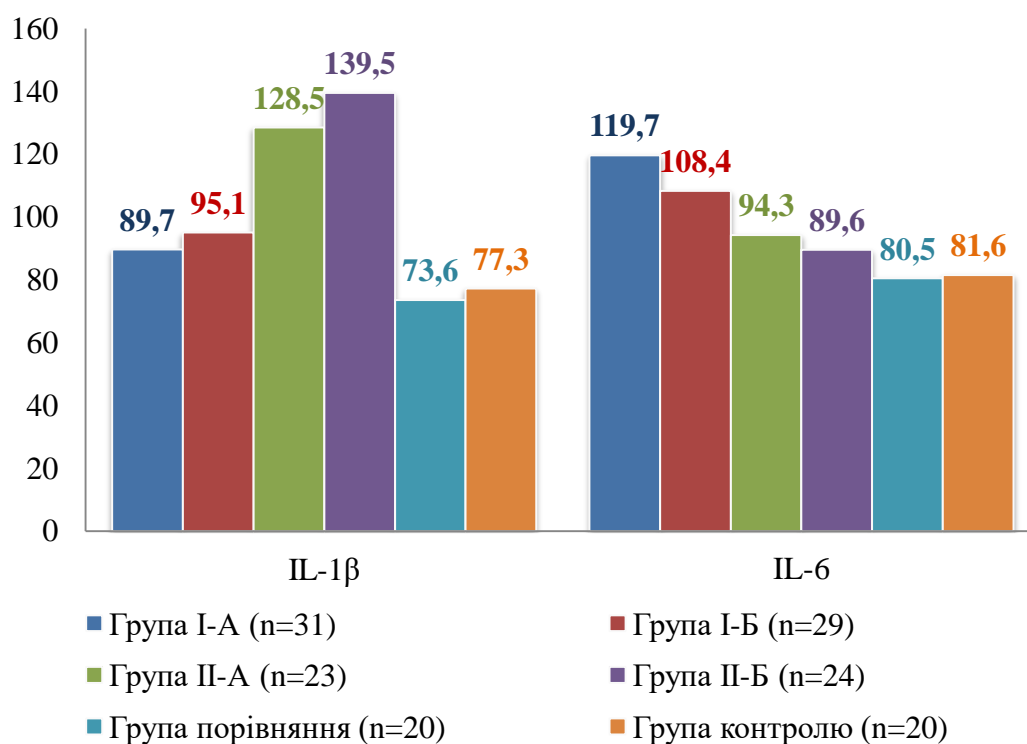


Рис. 4.5 Дослідження концентрацій інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 у сироватці крові жінок досліджуваних груп (пг/мл)

Останнім часом часом роль деяких лімфокінів переглядається, оскільки внаслідок наукових досліджень відкриваються нові, іноді навіть протилежні ефекти цих біоактивних речовин. Прикладом саме такого мультифункціонального цитокіну, додаткові функції яких були встановлені нещодавно, є інтерлейкін-6 (IL-6). Спочатку його вважали чисто прозапальним цитокіном, що бере участь у гострофазній запальній відповіді, але згодом було встановлено, що для нього характерні і інші, «протективні» ефекти, такі як спрямування диференціації Т-хелперів у напрямок розвитку за 2 типом (за рахунок активації продукції IL-4), попередження аутоімунних реакцій через пригнічення сигнального шляху фактора росту пухлин, а також участь у процесах регенерації тканин.

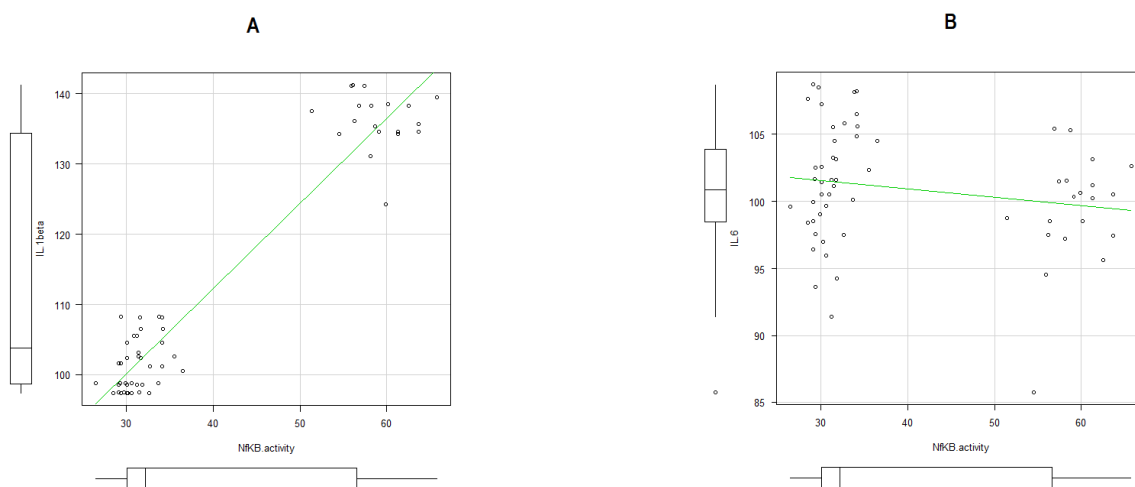


Рис. 4.6 Кореляційний аналіз активності p-65 NF-κB із концентрацією IL-1 β (A) та IL-6 (B) у пацієток досліджуваних груп

У нашому дослідженні у групах вагітних без запалення та дисбіозу статевого тракту I-A та I-B концентрація IL-6 виявилася найвищою ($119,7 \pm 1,7$ пг/мл та $108,1 \pm 2,9$ пг/мл відповідно), що, поперше, є співставним із результатами дослідження співвідношення Т-

хелперів I і II типу, оскільки саме в цих групах спостерігались дещо підвищені у порівнянні із групою II значення T-хелперів II типу.

Що стосується інших підгруп, статистично значиму різницю в концентраціях інтерлейкіну-6 у порівнянні із контрольною та порівняльною групою було встановлено у групах II-A та II-B ($94,3 \pm 7,4$ пг/мл та $89,6 \pm 2,3$ пг/мл відповідно), але ступінь достовірності був дещо нижчим ($p < 0,05$), що, можливо, пов'язане із більш активно перебігаючими процесами запалення у цих пацієнток, у зв'язку з чим інтерлейкін-6 не проявляє антиінфламаторних властивостей, виступаючи прозапальним лімфокіном.

Зважаючи на можливий вплив p65-субодиниці NF-кВ на концентрацію обох інтерлейкінів, було вирішено провести кореляційний аналіз між показником активності вищезгаданого фактору та концентрацією сироваткових ІЛ-1 β та ІЛ-6: було встановлено наявність прямого сильного зв'язку між показниками концентрації ІЛ-1 β та активністю p65-субодиниці NF-кВ ($r = 0,8$; $p < 0,01$), а також відсутність зв'язку ($r = -0,017$; $p > 0,05$) між p65 NF-кВ та ІЛ-6 (рис. 4.6).

Таким чином, нами було встановлено, що концентрація інтерлейкіну-1-бета та інтерлейкіну-6 різниться у навколоплідній рідині жінок із плацентарними порушеннями залежно від клінічної ситуації. Інтерлейкін-1 β виступає потужною прозапальною біологічно активною речовиною, що підвищується при передчасних пологах та існуючих плацентарних порушеннях, але особливо його концентрація зростає при наявності запалення і дисбіозу статевих шляхів та може бути пов'язаною із активністю p65 NF-кВ: чим вища активність субодиниці, тим вищим буде значення ІЛ-1 β сильним прямим зв'язком. Що стосується інтерлейкіну-6, при існуючому запаленні він може виступати як прозапальний цитокін, дещо

підвищуючись на фоні існування запальної відповіді у жінок із інфламаторними змінами та дисбіозом статевих шляхів, але в основному підвищення його концентрації спостерігалось при відсутності інфекційно-запального чинника при плацентарних порушеннях та передчасних пологах, що може бути предиктором передчасної пологової діяльності у жінок без інфекційного ризику.

4.6. Дослідження поліморфізму 936 C/T VEGF у пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів

Одна з головних цілей проведення досліджень з передчасної пологової діяльності, а особливо при плацентарних порушеннях, є пошук факторів їх прогнозування, які були б одночасно досить легкими для визначення та мали високу прогностичну цінність. І хоча відомо, що передчасні пологи є мультифакторні за своєю етіологією, а процеси виникнення та прогресування ПерП неможливо пояснити з точки зору впливу лише одного чинника, дослідження поліморфізму генів, особливо залучених у процеси росту і розвитку фето-плацентарного комплексу, залишається цікавим та маловивченим розділом у етіології плацентарних порушень та пов'язаним із ними невиношуванням вагітності. Зважаючи на особливості досліджуваних патологій у нашому дослідженні, об'єктом вивчення став поліморфізм гену васкулярного ендотеліального фактору росту (gVEGF).

Фактор росту ендотелію судин (VEGF) — це сигнальний білок, який є основним ангіогенним фактором та регулятором проліферації ендотеліальних клітин. Він відіграє вирішальну роль у фізіологічних процесах утворення нових судин та проникності судинної стінки, а також має антиапоптозну дію. Відомо, що gVEGF є схильним до

виникнення поліморфізмів, в результаті яких змінюється кількість фактору росту у тканинах та рідинах організму – саме до таких належить rs3025039 або заміна цитозину на тимін у позиції 936 3'-нетрансляючої ділянки, ефект якого полягає у зменшенні кількості синтезу білку VEGF.

Таблиця 4.10

Визначення наявності однонуклеотидного поліморфізму гену VEGF (936 C/T) у жінок досліджуваних груп (абс., %)

Генотипи rs3025039 +936C=>T гена VEGF		Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Алелі	Рівень експресії гену	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)	Абс. (%)
CC	високий	23 (74,2)	22 (75,9)	18 (78,2)	20 (83,3)	19 (95,0)	20 (100,0)
CT	середній	5 (16,1)	5 (17,2)	3 (13,0)	3 (12,5)	1 (5,0)	-
TT	низький	3 (9,7)	2 (6,9)	2 (8,7)	1 (4,2)	-	-

*Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами*

Під час вагітності адекватні кількості VEGF протягом усієї її тривалості є необхідними для проліферації трофобластів та розвитку плацентарної судинної мережі, що є передумовою нормального росту і розвитку фето-плацентарного комплексу. Саме тому поліморфізм гену 936 C/T VEGF став безпосереднім об'єктом нашого вивчення. Як можна побачити (таб. 4.10), носіями гомозиготного генотипа «CC» локуса rs3025039 гена VEGF є 74,2% жінок групи I-A, 75,9%

жінок групи I-Б, 78,2% вагітних групи II-А, 83,3% вагітних групи II-Б, 95,0% вагітних жінок порівняльної групи та 100% жінок групи контролю. Найчастіше носії гетерозиготного генотипу «СТ» були вагітні першої групи: 16,1% жінок групи I-А, 17,2% жінок групи I-Б; також подібний генотип зустрічався у 13,0% вагітних групи II-А, 12,5% вагітних групи II-Б та 5,0% вагітних жінок порівняльної групи.

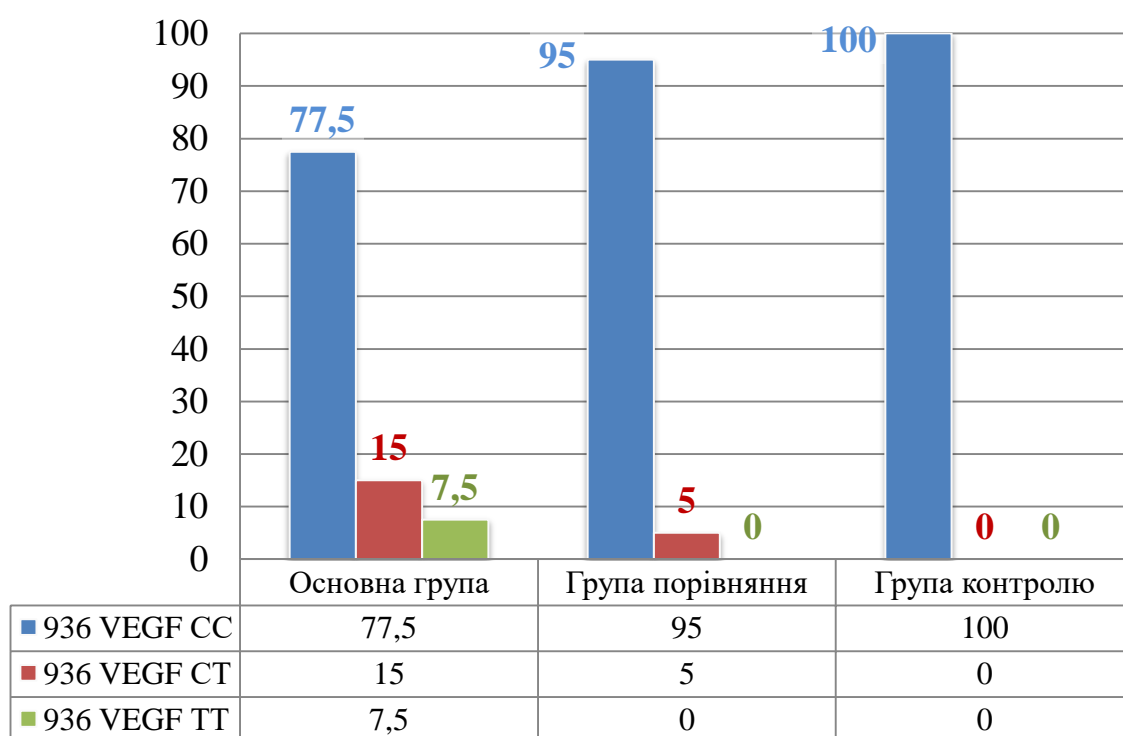


Рис. 4.7 Розподіл алелей гену VEGF (936 С/Т) у жінок досліджуваних груп (%)

У групі контролю жінок із алеллю «Т» у локусі 936 виявлено не було. Носіями гомозиготного генотипа «ТТ» - 9,7% жінок групи I-А, 6,9% жінок групи I-Б, 8,7% вагітних групи II-А, 4,2% вагітних групи II-Б, вагітних жінок порівняльної групи з даним набором алелей виявлено не було. Узагальнюючи дані результатів розподілу алелей гену VEGF у локусі 936 (таблиця 4.11, рисунок 4.7), носіями

гомозиготного генотипу gVEGF за доміантною алеллю «С» у локусі 936 є 77,6% жінок основної групи та 80% вагітних групи контролю; гетерозиготи СТ становлять 15,0% основної та 5,0% контрольної когорти. Цікаво, що у контрольній групі не було виявлено жінок-гомозигот по рецесивній алелі «Т» (у основній групі таку особливість генотипу виявлено у 7,5% досліджуваних), що порушує правило рівноваги успадкування мутацій Харді-Вайнберга і дозволяє припустити наявність протективного впливу відсутності гомозиготного набору алелі «ТТ» на розвиток плацентарних порушень та передчасних пологів.

За даними банку однонуклеотидних поліморфізмів, максимальний шанс наявності алеля «Т» в локусі 936 гену VEGF становить близько 13%, варіюючи в межах кількох відсотків залежно від популяції. У нашому дослідженні рецесивна алель Т зустрічалась у 15,0% алелей жінок основної групи, що перевищує середньопопуляційні значення.

Таблиця 4.11

Розподіл алелей гену VEGF (936 С/Т) у жінок досліджуваних груп (абс., %)

936 VEGF		Основна група (n=107)		ГК (n=20)		ГП (n=20)	
		n	%	n	%	n	%
Генотипи	СС	83	77,5	20	100,0	19	95,0
	СТ	16	15,0	0	-	1	5,0
	ТТ	8	7,5*	0	-	0	-
Алелі	С	182	85,0	40	100	39	97,5
	Т	32	15,0*	0	-	1	2,5

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

Такі результати дозволяють припустити, що носійство рецесивної алелі «Т» у локусі 936 VEGF, а особливо гомозиготного варіанту поліморфізму, є фактором ризику розвитку плацентарних порушень із наступною спонтанною передчасною пологовою діяльністю.

4.7. Особливості стану новонароджених від передчасних пологів із плацентарними порушеннями

Критерієм включення до дослідження були один живий плід та наявна або невідворотна пологова діяльність. Випадків мертвонародження в дослідженні не було, тому для порівняння мали 147 живонароджених з гестаційним терміном від 28 до 40 тижнів.

Загалом народження та перехід плода із внутрішньоутробного середовища до самостійного функціонування без материнської підтримки у зовнішніх умовах є важливим етапом, під час якого усі функціональні системи плода перебудовуються та працюють на своєму максимумі. При розвитку несприятливих умов під час цього переходу можуть виникнути патологічні стани новонародженого. Як вже було сказано, передчасні пологи, а особливо ускладнені існуючими плацентарними порушеннями, входять до числа патологій, що призводять до зростання рівня перинатальної захворюваності, смертності та неонатальних втрат.

Як відомо, існує низка ключових індикаторів ефективності акушерської допомоги, одним із яких є стан новонароджених після народження. Для оцінки стану немовлят на 1-й та 5-й хвилинах життя використовується шкала, запропонована австралійським реаніматологом Вірджинією Апгар та названа за її прізвищем. Застосовується вона для визначення потреби немовлят у проведенні реанімаційних процедур і разом із масою та зростом залишається у числі параметрів, обов'язкових для визначення у новонароджених дітей.

При розладах функціонування плаценти як правило відбувається перш за все ураження порушень трофічної та газообмінної її функцій, а при персистенції цього стану можуть розвиватись синдроми хронічної гіпоксії плода та затримки розвитку плоду різного ступеня тяжкості, що суттєво впливає на здоров'я та розвиток новонародженого. Адекватна киснева перфузія внутрішньоутробного комплексу відіграє важливу роль у складному процесі росту та розвитку плоду, а внутрішньоутробна гіпоксія є універсальним ушкоджувальним фактором фетоплацентарного комплексу.

У жінок досліджуваних груп загалом народилось 147 новонароджених, із них – 89 хлопчиків та 58 дівчат. У жінок контрольної (n=20) групи пологи та післяпологовий період перебігав без ускладнень, стан усіх новонароджених був задовільним, без виникнення ускладнень у неонатальному періоді. Оцінка за Апгар на 1-й хвилині склала 8 балів (ДІ 7,5-9), на 2-й хвилині – 9 балів (ДІ 8-9). Що стосується жінок основної та порівняльної групи, усі вони відносились за класифікацією до групи ранніх передчасних пологів, оскільки відбулись у терміні гестації 28-33⁺⁶ тижні гестації. Дані по оцінці Апгар представлені у таблиці 4.12.

В дослідженні не було випадків неонатальної смертності, але відмічались поодинокі діти із оцінкою 1-2 бали за шкалою Апгар у основній групі, особливо багато їх було у підгрупі з ПРПО, дисбіозом і запаленням статевих шляхів, що пояснюється більш важким станом дітей внаслідок висхідного мікробного інфікування при існуванні пошкодженого бар'єру у вигляді плодових оболонок (21,7% групи II-A). Загалом, при існуванні інфекційного запалення стан новонароджених оцінювався більш низькими балами за Апгар навіть у порівнянні із групою без піхвового дисбіозу та запалення ($p < 0,05$). Оцінку 3-4 бали за Апгар отримали в середньому 29,8% новонароджених у групі I та 49,2% дітей з

	<i>На 5-й хвилині</i>					
0—0	—	—	—	—	—	—
1—2	1 (3,2) *	—	2 (8,7) *	1 (4,2) *	—	—
3—4	7 (22,6) *	6 (20,7) *	9 (39,1) * ^Δ	7 (29,2) * ^Δ	—	—
5—6	18 (58,1)	15 (51,7)	10 (43,5) ^Δ	12 (50,0)	11 (55,0)	—
7—8	5 (16,1) *	8 (27,6) *	2 (8,7) ^{Δ*}	4 (16,6) *	9 (45,0)	6 (30,0)
9—10	—	—	—	—	—	14 (70,0)

П р и м і т к и:

* $p \leq 0,05$ із групою порівняння.

^Δ $p \leq 0,05$ із групою I.

Що стосується антропометричних даних новонароджених (табл. 4.13), слід зазначити, що усі середні значення масо-зростових показників, а також вимірювані у щойно народжених окружності голівки та тулуба були меншими за групу порівняння, але достовірну різницю було знайдено лише у показнику маси: в середньому маса новонароджених основної групи склала 1383 ± 294 г проти групи порівняння 1771 ± 362 г. Такі результати можуть бути пов'язаними із виключенням з дослідження жінок із розвитком декомпенсації при існуванні плацентарних порушень.

Плацентарні порушення проявляються перш за все у розладах трофічної функції, що призводить до розвитку у плода синдрому затримки внутрішньоутробного розвитку (ЗВУР), який характеризується за ступенем сповільнення дозрівання дитини залежно від кількості тижнів, на які «запізнюється» такий плід, а також за симетричністю відставання у дозріванні систем організму. Так як дослідження стану плодів та новонароджених не було задачею нашого дослідження, ми не проводили детальну характеристику та уточнення форми та ступеню ЗВУР, зупиняючись лише на факті наявності даного синдрому.

У дослідної групи із ПлаП затримку внутрішньоутробного розвитку було виявлено у більшості дітей (у середньому у 83,2% вагітностей), без переважання у конкретній підгрупі, але з достовірною різницею із групою порівняння, де взагалі не було виявлено випадків відставання параметрів дитини від гестаційного терміну.

Тяжкість стану недоношених новонароджених можна оцінювати не лише за шкалою Апгар та антропометричними даними, але й за деякими госпітальними показниками – тривалістю перебування у відділенні інтенсивної терапії та реанімації новонароджених (ВРІТН), тривалістю респіраторної підтримки у них (що характеризує тяжкість респіраторного дистрес-синдрому), а також за розвитком характерних для недоношеності ускладнень: внутрішньошлункових крововиливів (ВШК) та некротичного ентероколіту (НЕК).

Таблиця 4.13

Параметри антропометрії новонароджених від вагітностей із плацентарними порушеннями у терміні 28-33⁺⁶ тижні (M±σ)

Показник	Група І-А (n=31)	Група І-Б (n=29)	Група ІІ-А (n=23)	Група ІІ-Б (n=24)	ГП (n=20)	ГК (n=20)
Маса тіла, г	1356 ± 304*	1498 ± 217*	1271 ± 361*	1406 ± 292*	1771 ± 362	3561 ± 349
Довжина тіла, см	39,2 ± 2,1	41,9 ± 3,0	38,3 ± 4,9	40,7 ± 3,2	42,7 ± 5,2	50,8 ± 3,2
Окружність головки, см	27,4 ± 1,7	28,3 ± 1,3	26,4 ± 1,3	28,9 ± 1,1	29,6 ± 1,2	34,4 ± 1,9
Окружність грудей, см	24,1 ± 1,9	25,3 ± 1,1	23,9 ± 1,5	25,1 ± 1,8	26,4 ± 1,6	32,1 ± 1,1

Примітка: * – $p < 0,05$ при співставленні з контрольною та порівняльною групами

Тривалість перебування у ВРІТН та респіраторної підтримки були достовірно вищими у дітей основної групи по відношенню до групи порівняння, що пояснюється тяжкістю їх стану внаслідок вагітності із існуванням плацентарних порушень (таб. 4.14): для пацієнтів дослідної групи в середньому вона склала $5,8 \pm 2,1$ днів, для групи порівняння - $3,2 \pm 1,7$ днів ($p < 0,05$). Показник тривалості респіраторної підтримки проявив схожу тенденцію: для основної групи він склав $3,9 \pm 1,7$ днів, для порівняльної групи – $1,9 \pm 1,3$ ($p < 0,05$).

Таблиця 4.14

Захворюваність новонароджених від вагітностей із плацентарними порушеннями у терміні 28-33⁺⁶ тижні, (абс., %; $M \pm \sigma$)

Показник	Група I (без запалення і дисбіозу піхви)		Група II (запалення і дисбіоз піхви)		ГП (n=20)	ГК (n=20)
	Група I-A (n=31)	Група I-B (n=29)	Група II-A (n=23)	Група II-B (n=24)		
ЗВУР I, II, III ступенів, абс., %	26 (83,9)*	24 (82,8)*	19 (82,6)*	20 (83,3)*	—	—
Тривалість перебування у відділенні дитячої реанімації (днів), $M \pm \sigma$	5,7 $\pm 2,1$ *	5,1 $\pm 1,9$ *	6,4 $\pm 1,1$ *	5,9 $\pm 1,3$ *	3,2 $\pm 1,7$	—
Тривалість респіраторної підтримки, абс., %	4,1 $\pm 1,7$ *	3,7 $\pm 1,9$ *	4,8 $\pm 1,6$ *	3,1 $\pm 2,1$ *	1,9 $\pm 1,3$	—
ВШК I, II, III ступенів, абс., %	6 (19,4)*	4 (13,8)*	8 (34,8)*	6 (25,0)*	2 (10,0)	—
Некротичний ентероколіт абс., %	7 (22,6)*	4 (13,8)*	11 (47,8)*	7 (29,2)*	1 (5,0)	—

П р и м і т к и:

* $p \leq 0,05$ при співставленні з групами контролю та порівняння

Внутрішньошлуночковий крововилив - це неврологічне ускладнення, яке найчастіше виникає у передчасно народжених дітей з вагою менше 1500 грамів. Недоношеність є найбільш відомим фактором ризику ВШК у всьому світі. І хоча шанси на виживання дітей з ВШК покращуються через удосконалення методик ведення таких новонароджених, смертність залишається досить високою, до того ж, є ризик розвитку у дорослому житті таких захворювань як церебральний параліч, гідроцефалія, судоми та затримка інтелектуального розвитку. У нашому дослідженні новонароджені від вагітностей, ускладнених плацентарними порушеннями та передчасними пологами, достовірно частіше мали внутрішньошлуночкові крововиливи (від 13,8% до 34,8% проти групи порівняння – 10%, $p \leq 0,05$).

Що стосується некротичного ентероколіту (НЕК) - він є одним з найважчих захворювань у новонароджених, при якому органом-мішенню стає кишечник. Головними факторами ризику розвитку цієї хвороби є незрілість імунної відповіді, гастроінтестинальних функцій, перинатальні інфекції та недоношеність. До недавнього часу НЕК вважався захворюванням, що виникає лише у недоношених дітей, але останнім часом його все частіше виявляють і у народжених від доношеної вагітності. Поширеність цієї патології не перевищує 7%, але близько третини хворих потребують хірургічного втручання, а рівень смертності за різними даними становить від 12 до 30%. [95] У нашому дослідженні була знайдена достовірна різниця між частотою виникнення НЕК у новонароджених від передчасних пологів без плацентарних порушень (розвинувся лише у 1 дитини – 5%) та дослідної групи (в середньому 28,35%; з найвищими значеннями у групі жінок із запаленням та дисбіозом статевих шляхів з ПРПО – 47,8%).

Отримані у даному розділі результати відображено у наступних публікаціях:

1. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023). Активність р65-субодиниці ядерного фактора NF-κB та співвідношення T-хелперів I і II типу у вагітних з плацентарними порушенням та передчасною пологовою діяльністю. *Репродуктивна ендокринологія*, 1(67), 79–83. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2023.67.79-83>

2. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023) Роль активності р65 NF-κB, каспази-3, а також морфізм гена VEGF у розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях. *Репродуктивне здоров'я жінки*, 1(64), 49–55. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276250>

3. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2020) Вплив р65-субодиниці фактора NF-κB і маркера апоптозу каспази-3 на розвиток передчасних пологів у вагітних з плацентарною дисфункцією. *Репродуктивне здоров'я. Східна Європа*, 6(10), 654-660. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.10.6.001>

РОЗДІЛ 5

АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Під час вагітності плацента сприяє транспортуванню поживних речовин і газообміну, а також підтримує ріст і розвиток плода, тому адекватна функціональність плаценти має вирішальне значення для нормального перебігу гестації. Одним із ускладнень плацентарних порушень є розвиток спонтанних передчасних пологів, доказом чого є результати виявлення аномальних рівнів амінокислот, простагландинів, ліпідів та інших метаболітів у плацентах, отриманих від жінок із плацентарними порушеннями, вагітність яких завершилась спонтанними передчасними пологами. (Morgan, T. K., 2014). Самі ж передчасні пологи залишаються однією з провідних причин перинатальної захворюваності та смертності в усьому світі. Дві третини загальної кількості передчасних пологів відводиться спонтанному їх початку, одна третина — передчасному розродженню за медичними показами у терміні гестації 22 – 36 тижнів гестації та 6 днів (Glover, A. V., Manuck, T. A., 2018). Немовлята, народжені передчасно, потребують тривалої госпіталізації, мають високий ризик розвитку ускладнень неонатального періоду, такі як респіраторний дистрес-синдром, затримка розвитку нервової системи, некротичний ентероколіт, труднощі з годуванням, сліпоту, глухоту та внутрішньошлуночкові крововиливи, а також мають вищий ризик смерті у віці до п'яти років порівняно з «терміновими» дітьми. (Khanfer-Larocque, I., Soraisham, A., 2019). Враховуючи, незважаючи на усі використовувані у дослідженнях потужності сучасної науки, відсутність позитивних статистичних зрушень у показниках частоти виникнення спонтанних передчасних пологів та

плацентарних порушень, вивчення механізмів розвитку вказаних ускладнень вагітності, ідентифікація нових маркерів їх раннього виявлення, а також ланок патогенезу, на які можна було б впливати з профілактичною метою для попередження розвитку патології, залишається актуальним напрямком пошуку акушерсько-гінекологічної науки, що й спонукало нас до проведення наукового пошуку у даній сфері акушерсько-гінекологічної галузі.

Поділ вагітних на групи був зумовлений наявністю у жінок із плацентарними порушеннями та передчасними пологами запалення та дисбіозу статевого тракту, тобто наявністю інфекційного чиннику, який вважається найзвичнішим ініціатором передчасної пологової діяльності. Зважаючи на відсутність у літературі даних щодо активності каспази-3, p65-субодиниці NF-κB та інших досліджуваних чинників при плацентарних порушеннях та передчасних пологах як при інфекції, так і без, цікавим було встановити особливості зміни показників, що вивчаються у роботі, залежно від наявності інфекції. При розподілі на підгрупи ми керувались особливостями клінічного перебігу передчасних пологів (наявністю передчасного розриву плодових оболонок) при плацентарних порушеннях. Така схема поділу вагітних мала на меті дослідити не лише ізольовані зміни досліджуваних нами показників та характер клінічного перебігу ПерП при плацентарних порушеннях і передчасних пологах, але й передбачала відстеження їх варіювання залежно від самого факту наявності запалення та інфекції як головного чиннику розвитку спонтанних передчасних пологів, а також від характеру збудника, який превалював у статевих шляхах жінки на момент розвитку передчасних пологів.

Розвиток плацентарних порушень як правило можна виявити за допомогою різноманітних біохімічних маркерів-показників функції

плаценти, а також даних ультразвукової діагностики. Проблема полягає у відсутності значного позитивного ефекту при лікуванні плацентарних порушень, оскільки відомі на даний момент схеми препаратів не призводять до остаточного усунення проблеми із неадекватним функціонуванням цього органу, тому доцільно було б спрямувати увагу на виявлення ранніх чинників ризику розвитку ПлаП, на які можливо було б впливати для запобігання «укорінення» даної патології. На додачу, важливість дослідження анамнестичних особливостей зумовлена тим, що спонтанна передчасна пологова діяльність як правило має невідворотний характер, навіть при застосуванні токолітичних агентів, через що виявлення чинників ризику передчасних пологів для надання рекомендацій вагітним з профілактичною метою є доцільним.

З першого моменту зустрічі жінки із акушером-гінекологом починається процес взаємодії лікаря-пацієнта, у якій за допомогою збору різних видів анамнезу вже можна розпочати прогнозування та пошук потенційних факторів ризику розвитку ускладнень вагітності. Тому у нашому дослідженні першим кроком був збір даних, які допомогли б нам уточнити особливості перебігу періоду до настання вагітності, а також ранніх термінів гестації. У дослідженні професійних особливостей було виявлено, що вагітні, які відмічають часті емоційні переживання пов'язані із робочими моментами на ранніх термінах гестації, мають вищу схильність до розвитку плацентарних порушень та послідуєчих передчасних пологів, відповідно певний внесок у розвиток плацентарних порушень може належати хронічному стресу. Особливо це стосувалось вагітних без наявної інфекції статевих шляхів (45,2% жінок групи I-A та 41,4% жінок групи I-B, достовірна різниця з групою контролю та основною групою II $p < 0,05$). У деяких роботах доведено, що хронічний стрес

може впливати на розвиток плацентарних порушень внаслідок змін у експресії генів плаценти (Martinez, C. A., Marteinsdottir, I., 2022). До групи вагітних, які відмічали наявність стресових чинників у повсякденній діяльності (у зв'язку з навчанням), належали також студентки: відповідно, для них був характерний більш юний вік. Але у їх числі близько половини жінок мали інфекцію статевого тракту (52,2% групи II-A та 45,8% жінок групи II-B, $p < 0,01$ при порівнянні з контрольною групою), тому у них неможливо оцінити вплив стресового чиннику на розвиток плацентарних порушень та пов'язаних із ними передчасних пологів. Приєднання інфекції у цьому випадку може бути зумовлено темпом, образом життя та особливостями статевої поведінки сучасної молоді. Також, для пацієнток групи II була характерна наявність хронічних лікованих запальних захворювань органів малого тазу (26,1% групи II-A та 29,2% групи II-B), що створює несприятливі передумови для імплантації і плацентації, слугуючи основою для виникнення плацентарних порушень.

Слід відмітити, що як правило плацентарні порушення достовірно частіше виникали у жінок, вагітність яких наступала після попередньої неуспішної вагітності внаслідок мимовільного викидня (24,2% жінок основної групи) або завмерлого плода (21,2% вагітних досліджуваної когорти), оскільки для цих ускладнень вагітності, як і для плацентарних порушень, характерний спільний патогенез у вигляді дисбалансу ангіогенної активності, порушеннями кровопостачання матки, плацентарного окисного стресу (Linehan LA, San Lazaro Campillo I, 2022). Також, у 20,9% жінок спостерігався розвиток вагінальних кровотеч у терміні до 12 тижнів вагітності, що є ознакою загрозливого абортів і наслідком нестабільності фетоплацентарного комплексу внаслідок вищезгаданих процесів.

Спільними механізмами патогенезу можна пояснити і достовірно частішу наявність у соматичному та репродуктивному анамнезі жінок таких патологій, як преєклампсія (15% жінок основної групи), ранні гестози (в середньому 44,8% жінок основної групи), виникнення яких пояснюють порушеннями адекватного ангиогенезу, ремодулювання спіральних артерій, що також може слугувати передумовою виникнення плацентарних порушень. (Mohamedain A, Rayis DA, 2021) Не дивною була наявність у анамнезі жінок із плацентарними порушеннями цукрового діабету (від 12,5% до 17,4% у кожній підгрупі основної когорти з достовірною відмінністю від контрольної групи), оскільки при цьому захворюванні спостерігається в тому числі генетично зумовлена схильність плаценти до неповноцінності хвиль інвазії плаценти, що призводить до порушеної її васкуляризації, зниженої реактивності та метаболічної здатності (Jackson Nteeba, Kaela M Varberg, 2020), що є передумовою розвитку плацентарних порушень. Також, у жінок основної групи спостерігали вищу частоту лікування з приводу ендометріозу (в т.ч. аденоміозу), що є досить логічним, зважаючи на характерні для них резистентність до селективної дії прогестерону, в'ялоперебігаючі процеси запалення та надмірна активність метаболізму вільних радикалів в ендометрії, що також може провокувати виникнення плацентарних порушень (C. Scala, U. Leone Roberti Maggiore, 2018).

Перенесення поживних речовин до плоду регулюється складними механізмами взаємодії між різними адипокінами: інсуліном, цитокіновим профілем, адипонектином, лептином та іншими молекулами. Материнські адипокіни мають прямий вплив на функцію та розвиток плаценти, а при відхиленнях у масі тіла жінки до вагітності як у сторону її збільшення, так і зменшення,

спостерігається порушення концентрацій та функцій згаданих речовин, що може призвести до розвитку плацентарних порушень (K Howell, T Powell, 2018). У нашому дослідженні у 20,4% жінок були виявлені відхилення маси тіла у сторону ожиріння, а у 16,4% жінок – у сторону недостатньої маси тіла до вагітності, що могло призвести до порушення балансу похідних з жирової тканини біоактивних речовин і призвести до розвитку плацентарних порушень у вагітних.

Встановлено, що при інфікуванні ГРВІ, а особливо SARS-CoV-2, з розвитком розгорнутої клінічної картини спостерігається виникнення хронічного гістоцитарного інтервіллозиту у плаценті з її інфільтрацією плаценти гістіоцитами і макрофагами, що є передумовою розвитку плацентарних порушень. (Abhay P. S. Rathore, Vivian Vasconcelos Costa, 2022). У нашому дослідженні ГРВІ з підвищенням температури до 38°C та катаральними вираженими катаральними явищами спостерігалось у 31,3% жінок, а SARS-CoV-2 було підтверджено методом ПЛР у 20,6% вагітних основної групи.

Що стосується шкідливих звичок при вагітності, на ранніх термінах гестації продовжували палити 25,8% жінок I-A групи, 24,1% жінок I-B групи, 26,1% II-A групи, 29,2% групи II-B, що мало достовірну різницю із групою контролю ($p < 0,01$). Сигаретний дим містить близько 4000 токсичних хімічних сполук, які безпосередньо впливають на проліферацію та диференціацію клітин у плаценті, і нікотин є найважливішою фармакологічно активною сполукою в сигаретному димі. Дослідження *in vivo* та *in vitro* показали, що нікотин діє безпосередньо на плаценту, беручи участь у зміні материнсько-фетального кровообігу шляхом впливу на механізми трофобластичної інвазії, пригнічуючи їх (Daniela Pinticana, Alexandra Andreea Poienar, 2019). Продовжували вживати алкоголь на ранніх термінах гестації загалом 29,2% жінок основної групи ($p < 0,05$ з

групою контролю), що може призводити у них до дозо-залежної вазоконстрикції судин плаценти, підвищення опору судин, що призводить до порушення транспорту кисню і розвитку плацентарних порушень.

Роль інфекції, вагінального запалення та дисбіозу у розвитку передчасних пологів є беззаперечною, але у нашому дослідженні було встановлено, що при плацентарних порушень передчасні пологи розвиваються незалежно від її наявності. Що стосується аналізу виду інфекції та зв'язку із клінічним типом перебігу передчасних пологів (зокрема, наявності передчасного розриву плодових оболонок), було встановлено, що при високих бактеріальних навантаженнях ізольованих асоціацій збудників *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp., *Mycoplasma genitalium* та *Ureaplasma* (*urealyticum* + *parvum*), пологи перебігали переважно з розвитком передчасного розриву плодових оболонок, а значні показники логарифмів асоціацій *Atopobium vaginae*, *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp., *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. у вагінальних виділеннях пов'язані із розвитком спонтанних передчасних пологів без ПРПО.

Загальновідомо, що патогенетичним механізмом, який робить вагомий внесок у початок як термінових, так і передчасних пологів, є процес запалення: доказом цього є підвищення запальних цитокінів і хемокінів у шийці матки, міометрії, хоріоамніотичних оболонках і амніотичній порожнині перед початком пологів. (Shan Y, Shen S, 2022) Доведено також помірну активність процесів апоптозу в тканинах плацент у жінок із нормальними терміновими пологами. (Saglam, A., Ozgur, C., 2013) Логічним висновком буде припущення про передчасну активацію процесів запалення та клітинної загибелі при передчасних пологах, які можуть бути пов'язані із

плацентарними порушеннями – ця гіпотеза виступала основою для проведення нашого дослідження.

Одним із ключових регуляторів процесів запалення та імунної відповіді у організмі людини є ядерний фактор κВ. Він складається з декількох субодиниць, серед яких саме р65-субодиниця бере найактивнішу роль у регуляції вищезгаданих процесів, що досліджувались у нашій роботі. Дослідження цього транскрипційного фактору є перспективним моментом сучасної акушерсько-гінекологічної науки, оскільки на даний час існують (на жаль, поки що лише експериментальні, зважаючи на потенційний ризик не лише для жінки, але й одночасно для плода) дослідження, що мають на меті блокування продукції або зниження активності NF-κВ (Pavlidis, I., 2022; Pekis, J. V., 2016). Це потенційно може стати новим кроком у потужностях попередження та зупинки передчасної пологової діяльності. Але крім цієї існує ще одна перешкода у дослідженні плацентарних порушень, передчасних пологів та згаданого ядерного фактору: дослідження активності процесу можливе лише локально у тканині, де відбувається патологічний процес – плаценти у нашому випадку. При дослідженні цього ж фактору доступними при вагітності методами (у крові, сечі, вагінальних виділеннях тощо), результат буде спотворений, оскільки немає субстрату (тканини), де відбувався б даний процес. Тому доводиться шукати методи опосередкованої оцінки активності NF-κВ, якими у нашому дослідженні стали Th1/Th2 та інтерлейкін-1β. Діючи через різні рецепторні системи, NF-κВ може активувати імунну відповідь, в основному шляхом переключення більш сприятливого для вагітності середовища з переважанням Т-хелперів II типу, які виробляють в основному протизапальні цитокіни та сприяють збереженню вагітності, на Т-хелпери I типу, активність

яких пов'язана із виробленням проінфламаторних біологічно активних речовин. Також, р65 NF-кВ може ізольовано підвищувати рівень цитокінів, сприяючи підвищенню інтенсивності запалення. У нашому дослідженні було продемонстровано, що певна активність р65-субодиниці ядерного фактору NF-кВ у плаценті є характерною для процесу пологів як у жінок із плацентарними порушеннями із розвитком спонтанних передчасних пологів, так і без них, але рівні активності були достовірно вищими для жінок із ПлаП ($p < 0,05$).

Що стосується контрольованих р-65 NF-кВ процесів регуляції балансу між Т-хелперами I і II типів, було знайдено сильний прямий зв'язок між активністю досліджуваної субодиниці транскрипційного фактору і зміщенням співвідношення між Т-хелперами I і II типу у сторону збільшення за рахунок підвищення частки несприятливої для пролонгування вагітності Th1-фракції.

Також, у роботі було досліджено поведінку інтерлейкіну-1 β та інтерлейкіну-6 при плацентарних порушеннях і передчасних пологах, оскільки активність ядерного фактору кВ може спричиняти вплив на рівні їх концентрації. Крім того, для інтерлейкіну-6 притаманним є вплив на диференціацію Т-хелперів, тому дослідження цієї взаємодії становило певний інтерес для нашої роботи. Було встановлено, що рівні IL-1 β є підвищеними у навколоплідних водах при плацентарних порушеннях та передчасних пологах у жінок із запаленням статевих шляхів та дисбіозом піхви, що є закономірно для розвитку запальної відповіді організму на мікробний фактор, але також увагу привернуло виявлення підвищених концентрацій даного цитокіну при плацентарних порушеннях без інфекції, причому в кількостях, що достовірно перевищували показники жінок контрольної групи із нормальними пологами, а також групи порівняння, що може бути пояснено наявністю сильного позитивного кореляційного зв'язку із

показником активності р65-субодиниці ядерного фактору каппа-бі. Що стосується інтерлейкіну-6, достовірність знайденої різниці між основною та контрольною групами була неоднакова: для жінок із запаленням та дисбіозом піхви вона була найнижчою ($p < 0,05$), а для вагітних з нормо ценозом статевих шляхів – найвищою ($p < 0,01$). Це може слугувати доказом певного дуалізму дії цього інтерлейкіну: при наявності інфекції та/або високих активностей р65-субодиниці NF-κB він виступає в якості прозапального цитокіну, підсилюючи інфламаторну відповідь організму, але при відсутності мікробного фактору інтерлейкін-6 грає роль протективного чиннику, спрямовуючи диференціацію Т-хелперів у бік протизапального типу II та може сприяти збереженню вагітності.

Додатково до запальної та імунної відповіді організму, було знайдено достовірну різницю у концентраціях фракцій та показнику активності каспази-3 у жінок із плацентарними порушеннями та спонтанними передчасними пологами в порівнянні з контрольною і порівняльною групами. Слід відмітити, що переважання процесів клітинної загибелі було більш характерним для групи вагітних із нормоценозом та відсутністю запальних змін у статевих шляхах жінки. У когорті жінок з дисбіозом та інфламаторними змінами у вагінальному мазку рівень каспази-3 був також підвищеним у порівнянні з контрольною й порівняльною групами, до того ж слід згадати, що саме у цій групі більш часто у піхвових виділеннях зустрічались виявлені асоціації мікроорганізмів *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas spp.*, *Mycoplasma genitalium* та *Ureaplasma (urealyticum + parvum)*, що може свідчити про притаманну саме цим групам збудників активацію процесів клітинної загибелі додатково до запальної відповіді організму на інфекцію.

Васкулярний ендотеліальний фактор росту є важливим чинником адекватного ангиогенезу, роль якого у процесах плацентації важко переоцінити. При неналежному функціонуванні системи підтримки необхідних концентрацій VEGF у організмі жінки неможлива нормальна васкуляризація фето-плацентарного комплексу, що також може слугувати причиною розвитку плацентарних порушень. У нашому дослідженні ми вирішили дослідити наявність асоційованого із низьким сироватковим вмістом VEGF поліморфізму гену васкулярного ендотеліального фактору росту у 936 локусі 3'-нетранслюючої ділянки. Було встановлено, що для пацієток із плацентарними порушеннями та розвитком спонтанних передчасних пологів наявність Т-алелі у згаданому локусі перевищує популяційні значення майже вдвічі, що може слугувати причиною виникнення у них досліджуваних ускладнень. Патогенез розвитку плацентарних порушень та передчасної пологової діяльності у даному випадку може бути пов'язаним із характерним для цього виду поліморфізму зниженого рівня білку VEGF у сироватці пацієнтів з алеллю «Т», що стає на заваді нормальним ангиогенезу та васкуляризації фето-плацентарного комплексу, провокуючи розвиток ускладнень.

Таким чином, проведене нами дослідження показує, що для плацентарних порушень з розвитком передчасної пологової діяльності є характерними зміни на клініко-статистичному, молекулярному, біохімічному, імунологічному та генетичному рівнях, які можуть виникати незалежно від існування класичного для передчасних пологів інфекційно-запального фактору та мають вплив на клінічний перебіг передчасних пологів. Встановлені відмінності дозволили дослідити більш глибоко процеси апоптозу та запалення як патогенетичних чинників виникнення передчасних пологів при

плацентарних порушеннях, а також встановити роль генетичних факторів, у даному випадку однонуклеотидного поліморфізму гену VEGF(936C/T), на їх розвиток. Результати дослідження вказують на необхідність подальшого пошуку факторів впливу на активність вищезгаданих процесів задля зниження рівня перинатальної захворюваності та смертності при плацентарних порушеннях як причині передчасних пологів.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено нове рішення актуальної проблеми сучасного акушерства – передчасних пологів - шляхом отримання нових даних щодо патогенетичних варіантів передчасної пологової діяльності на тлі плацентарних порушень.

1. Для анамнезу жінок з плацентарними порушеннями та передчасними пологами характерними виявились наявність репродуктивних втрат (мимовільний викидень - 27,6%, завмерлий плід - 20,8%); захворювань із в'ялоперебігаючим запаленням ендометрію (ендометріоз - 16,1%, хронічні запальні захворювання статевого тракту - 23%); прееклампсії в попередній вагітності (16,4%). Факторами ризику розвитку плацентарних порушень та передчасних пологів виявились наявність ранніх гестозів – 46,3%; ознаки загрозливого викидня у вигляді кровотечі із статевих шляхів до 12 тижнів вагітності (22,1%), тютюнопаління (25,2%), вживання алкоголю (19,6%), перенесення ГРВІ (29,7%), перенесення SARS-CoV-2 (22,6%) при поточній вагітності; персистенції стану хронічного стресу на ранніх термінах гестації (33,7%). Соматичному анамнезу властиві наявність відхилень від нормальних значень ІМТ (у сторону збільшення – 19,6%; у сторону зменшення – 16,8%).

2. При плацентарних порушеннях патогенез передчасної пологової діяльності залежить від інфекційно-запальних змін статевого тракту. Так, роділлям з передчасним розривом плодових оболонок більш властивим є виявлення ознак запалення та високих титрів асоціацій *Gardnerella vaginalis* + *Prevotella bivia* + *Porphyromonas* spp. (43,5% проти 16,7% в групах пологової діяльності на тлі цілого плодового міхура), *Mycoplasma genitalium* (25,0% проти 4,2%), уреаплазм (21,7% проти 8,3%). Натомість роділлям з початком передчасних пологів на тлі інтактних мембран

більш притаманним є інфікування *Atorobium vaginae* (37,5% проти 13,0% в групах ПРПО), *Mobiluncus* spp. + *Corynebacterium* spp. (33,3% проти 8,7%), *Sneathia* spp. + *Leptotrichia* spp. + *Fusobacterium* spp. (41,6% проти 21,7%).

3. При плацентарних порушеннях та передчасних пологах спостерігається підвищена активність р65-субодиниці ядерного фактору «каппа-бі» у плаценті. Більш високі значеннями показника спостерігали у групі жінок із запаленням та дисбіозом статевих шляхів II-A та II-B ($65,4 \pm 7,6\%$ та $72,8 \pm 7,4\%$ відповідно проти $30,5 \pm 5,6\%$ порівняльної і $29,2 \pm 7,6\%$ контрольної груп; $p < 0,01$), у першій групі вагітних без запалення та порушеного мікробіоценозу статевого тракту також відмічалось збільшення показника (для підгрупи I-A – $39,3 \pm 5,1\%$, для підгрупи I-B – $40,2 \pm 6,8\%$, $p < 0,05$ із ГП та ГК).

4. Показник співвідношення Т-хелперів I та II типів є найвищим у жінок групи II із запаленням та дисбіозом статевих шляхів ($2,39 \pm 0,7$ для підгрупи II-B; $2,23 \pm 0,2$ для підгрупи II-A, проти ГП $1,29 \pm 0,8$ та ГК $1,24 \pm 0,7$; $p < 0,01$), підвищеним відносно груп контролю і порівняння це співвідношення є також у жінок з нормоценозом піхви ($1,56 \pm 0,2$ та $1,41 \pm 0,5$ для підгруп I-B та I-A відповідно, $p < 0,05$). Між співвідношенням Т-хелперів I та II типів в сироватці та активністю р65 в плацентарній тканині встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок $r = 0,8$.

5. Сироваткова концентрація прозапального інтерлейкіну-1 β корелювала (сильний прямий зв'язок, $r = 0,8$) із показником активності р65NF κ B і була найвищою як у другій групі жінок ($128,5 \pm 3,1$ пг/мл та $139,5 \pm 1,3$ пг/мл у підгрупах II-A та II-B відповідно, проти $73,6 \pm 3,5$ пг/мл у ГК та $77,3 \pm 2,3$ пг/мл у ГП; $p < 0,01$), так і у групі вагітних з нормоценозом статевих шляхів

($89,7 \pm 2,9$ пг/мл та $95,1 \pm 3,1$ пг/мл для підгруп I-A та I-B відповідно, $p < 0,05$), що свідчить про створення прозапального фону для розвитку передчасних пологів, вірогідніше за все на фоні підвищеної активності p65NFκB.

Концентрація інтерлейкіну-6 була підвищеною у жінок дослідної когорти з найвищими значеннями у першій групі жінок без запальних змін та дисбіозу статевого тракту - $119,7 \pm 1,7$ пг/мл та $108,1 \pm 2,9$ пг/мл для груп I-A та I-B відповідно проти $80,5 \pm 3,1$ пг/мл у ГП та $81,6 \pm 3,1$ пг/мл у ГК; $p < 0,01$), та дещо нижчими у другій групі ($94,3 \pm 7,4$ пг/мл та $89,6 \pm 2,3$ пг/мл для груп II-A та II-B відповідно; $p > 0,05$), кореляційного зв'язку із активністю p65NFκB встановлено не було ($r = -0,017$; $p > 0,05$). Зазначені дані свідчать, що при виявленні підвищеної концентрації інтерлейкіну-6 у жінок із плацентарними порушеннями можна очікувати розвиток передчасних пологів навіть при відсутності інфекційно-запального чинника.

6. Виявлено підвищену активність каспази-3 у всіх вагітних з плацентарними порушеннями - у першій групі вона склала $68,3 \pm 1,7\%$ та $59,7 \pm 7,3\%$ для підгруп I-A та I-B відповідно проти $24,6 \pm 2,2\%$ у ГП та $23,9 \pm 2,8\%$ у ГК; $p < 0,01$; а у другій - $30,4 \pm 5,1\%$ та $28,4 \pm 3,3\%$ для підгруп II-A та II-B відповідно, $p < 0,05$; при внутрішньогруповому порівнянні достовірно вищі значення спостерігаються у жінок із ПРПО ($p < 0,05$). Також, було встановлено сильний прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,7$; $p < 0,01$) активності плацентарної та концентрації сироваткової каспази-3. Знайдені дані свідчать, що процеси апоптозу мають вищу активність у жінок із плацентарними порушеннями, і можуть відігравати роль у запуску процесів передчасної пологової діяльності у вагітних без виявленого інфекційно-запального чинника, причому реалізація відбувається переважно шляхом передчасного розриву плодових оболонок.

7. При дослідженні однонуклеотидного поліморфізму гену VEGF (936C/T) виявлено, що наявність алелі «Т» достовірно частіше зустрічається у жінок із плацентарними порушеннями та розвитком передчасних пологів (15,0% проти групи контролю – 2,5%). Це свідчить про генетичну зумовленість виникнення у таких жінок плацентарних порушень та передчасних пологів як їх ускладнення.

8. Підвищене співвідношення Th1/Th2 та інтерлейкіну-1 β у жінок з плацентарними порушеннями є фактором ризику передчасної пологової діяльності на тлі інтактних мембран та інфекційного процесу в піхві, а каспази-3 та інтерлейкіну-6 – передчасного розродження шляхом передчасного розриву плодових оболонок без інфекційно-запального процесу в статевих шляхах.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Для визначення ризику передчасних пологів жінок з плацентарними порушеннями рекомендовано обстежувати на виявлення ДНК патогенних та умовно патогенних збудників
2. Для прогнозування розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях за наявності відхилень у плацентарних та плодових гормонах під час проведення першого та другого пренатального скринінгу, а також запальних змін у мазку вагінальних виділень, рекомендовано визначення співвідношення Т-хелперів I і II типів і коццентрації інтерлейкіну- 1β у крові вагітної.
3. За тих же умов, але при відсутності запальних та дисбіотичних змін при дослідженні вагінальних виділень, рекомендовано визначати концентрацію каспази-3 та інтерлейкіну-6 у крові вагітної.
4. З метою визначення ризику виникнення плацентарних порушень при вагітності, рекомендовано визначення наявності у жінок однонуклеотидного поліморфізму гену васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) у локусі 936 (C/T).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Lemish N. Y. (2019). Modern methods of great obstetrical syndromes prognostication (literature review). *Wiadomosci lekarskie*, 72(4), 702–706.
2. Liu, D., Gao, Q., Wang, Y., & Xiong, T. (2022). Placental dysfunction: The core mechanism for poor neurodevelopmental outcomes in the offspring of preeclampsia pregnancies. *Placenta*, 126, 224–232. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.07.014>
3. Pintican, D., Poienar, A. A., Strilciuc, S., & Mihiu, D. (2019). Effects of maternal smoking on human placental vascularization: A systematic review. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*, 58(4), 454–459. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2019.05.004>
4. Audette, M. C., & Kingdom, J. C. (2018). Screening for fetal growth restriction and placental insufficiency. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 23(2), 119–125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2017.11.004>
5. Ohgiya, Y., Nobusawa, H., Seino, N., Miyagami, O., Yagi, N. (2016). MR Imaging of Fetuses to Evaluate Placental Insufficiency. *Magnetic resonance in medical sciences: an official journal of Japan Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 15(2), 212–219. DOI: <https://doi.org/10.2463/mrms.mp.2015-0051>
6. Ashoor, G., Syngelaki, A., Papastefanou, I., Nicolaides, K. H., & Akolekar, R. (2022). Development and validation of model for prediction of placental dysfunction-related stillbirth from maternal factors, fetal weight and uterine artery Doppler at mid-gestation. *Ultrasound in obstetrics & gynecology*, 59(1), 61–68. DOI: <https://doi.org/10.1002/uog.24795>

7. Hunt, K., Kennedy, S. H., & Vatish, M. (2016). Definitions and reporting of placental insufficiency in biomedical journals: a review of the literature. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, 205, 146–149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2016.08.029>
8. Ayash, T. A., Vancolen, S. Y., Allard, M. J., & Sébire, G. (2021). C-section of Preclinical Animal Model of Chorioamnionitis Triggered by Group B Streptococcus (GBS). *Journal of visualized experiments (178)*. DOI: <https://doi.org/10.3791/63221>
9. Villar, J., Papageorghiou, A. T., Pang, R., Salomon, L. J., Langer, Victora, C., Purwar, M. (2015). Monitoring human growth and development: a continuum from the womb to the classroom. *American journal of obstetrics and gynecology*, 213 (4), 494–499. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.07.002>
10. Heazell, A. E., Whitworth, M., Duley, L., & Thornton, J. G. (2015). Use of biochemical tests of placental function for improving pregnancy outcome. *The Cochrane database of systematic reviews*, 2015(11), CD011202.
11. Spencer, R. N., Carr, D. J., & David, A. L. (2014). Treatment of poor placentation and the prevention of associated adverse outcomes--what does the future hold?. *Prenatal diagnosis*, 34(7), 677–684. DOI: <https://doi.org/10.1002/pd.4401>
12. Souza, R. T., Costa, M. L., Mayrink, J., Feitosa, F. E., Rocha Filho, E. A., Leite, D. F., Vettorazzi, J., Calderon, I. M. (2020). Perinatal outcomes from preterm and early term births in a multicenter cohort of low risk nulliparous women. *Scientific reports*, 10(1), 8508. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65022-z>
13. Vogel, J. P., Ramson, J., Darmstadt, G. L., Qureshi, Z. P., Chou, D., Bahl, R., & Oladapo, O. T. (2022). Updated WHO

recommendations on antenatal corticosteroids and tocolytic therapy for improving preterm birth outcomes. *The Lancet. Global health*, *10*(12), e1707–e1708. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(22\)00434-X](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(22)00434-X)

14. Jin, Y., Mankadi, P. M., Rigotti, J. I., & Cha, S. (2018). Cause-specific child mortality performance and contributions to all-cause child mortality, and number of child lives saved during the Millennium Development Goals era: a country-level analysis. *Global health action*, *11*(1), 1546095. DOI: <https://doi.org/10.1080/16549716.2018.1546095>

15. Raju, T. N. K., Pemberton, V. L., Saigal, S., Blaisdell, C. J., Moxey-Mims, M., Buist, S., & Adults Born Preterm Conference Speakers and Discussants (2017). Long-Term Healthcare Outcomes of Preterm Birth: An Executive Summary of a Conference Sponsored by the National Institutes of Health. *The Journal of pediatrics*, *181*, 309–318.e1. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.10.015>

16. Luu, T. M., Rehman Mian, M. O., & Nuyt, A. M. (2017). Long-Term Impact of Preterm Birth: Neurodevelopmental and Physical Health Outcomes. *Clinics in perinatology*, *44*(2), 305–314. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clp.2017.01.003>

17. Jacob, J., Lehne, M., Mischker, A., Klinger, N., Zickermann, C., & Walker, J. (2017). Cost effects of preterm birth: a comparison of health care costs associated with early preterm, late preterm, and full-term birth in the first 3 years after birth. *The European journal of health economics*, *18*(8), 1041–1046. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10198-016-0850-x>

18. Heinonen, K., Eriksson, J. G., Kajantie, E., Pesonen, A. K., Barker, D. J., Osmond, C., & Raikkonen, K. (2013). Late-preterm birth and lifetime socioeconomic attainments: the Helsinki birth cohort study. *Pediatrics*, *132*(4), 647–655. DOI: <https://doi.org/10.1542/peds.2013-0951>

19. Rubens, C. E., Sadovsky, Y., Muglia, L., Gravett, M. G., Lackritz, E., & Gravett, C. (2014). Prevention of preterm birth: harnessing science to address the global epidemic. *Science translational medicine*, 6(262), 262sr5. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009871>
20. Nijman, T. A., van Vliet, E. O., Benders, M. J., Mol, B. W., Franx, A., Nikkels, P. G., & Oudijk, M. A. (2016). Placental histology in spontaneous and indicated preterm birth: A case control study. *Placenta*, 48, 56–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.10.006>
21. Dunn, A. B., Dunlop, A. L., Hogue, C. J., Miller, A., & Corwin, E. J. (2017). The Microbiome and Complement Activation: A Mechanistic Model for Preterm Birth. *Biological research for nursing*, 19(3), 295–307. DOI: <https://doi.org/10.1177/1099800416687648>
22. Norwitz, E. R., Bonney, E. A., Snegovskikh, V. V., Williams, M. A., Phillippe, M., Park, J. S., & Abrahams, V. M. (2015). Molecular Regulation of Parturition: The Role of the Decidual Clock. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 5(11), a023143. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a023143>
23. Menon, R., Bonney, E. A., Condon, J., Mesiano, S., & Taylor, R. N. (2016). Novel concepts on pregnancy clocks and alarms: redundancy and synergy in human parturition. *Human reproduction update*, 22(5), 535–560. DOI: <https://doi.org/10.1093/humupd/dmw022>
24. Derricott, H., Jones, R. L., Greenwood, S. L., Batra, G., Evans, M. J., & Heazell, A. E. (2016). Characterizing Villitis of Unknown Etiology and Inflammation in Stillbirth. *The American journal of pathology*, 186(4), 952–961. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.12.010>
25. Michalczyk, M., Celewicz, A., Celewicz, M., Woźniakowska-Gondek, P., & Rzepka, R. (2020). The Role of Inflammation in the

Pathogenesis of Preeclampsia. *Mediators of inflammation*, 2020, 3864941. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/3864941>

26. Cotechini, T., Komisarenko, M., Sperou, A., Macdonald-Goodfellow, S., Adams, M. A., & Graham, C. H. (2014). Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodeling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia. *The Journal of experimental medicine*, 211(1), 165–179. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.20130295>

27. Racicot, K., Kwon, J. Y., Aldo, P., Abrahams, V., El-Guindy, A., Romero, R., & Mor, G. (2016). Type I Interferon Regulates the Placental Inflammatory Response to Bacteria and is Targeted by Virus: Mechanism of Polymicrobial Infection-Induced Preterm Birth. *American journal of reproductive immunology*, 75(4), 451–460. DOI: <https://doi.org/10.1111/aji.12501>

28. Bernardini, R., Aufieri, R., Detcheva, A., Recchia, S., Cicconi, R., Amicosante, M., Montesano, C., Rossi, P., Tchidjou, H. K., Petrunov, B., Orefici, G., & Mattei, M. (2017). Neonatal protection and preterm birth reduction following maternal group B streptococcus vaccination in a mouse model. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*, 30(23), 2844–2850. DOI: <https://doi.org/10.1080/14767058.2016.1265932>

29. Vornhagen, J., Adams Waldorf, K. M., & Rajagopal, L. (2017). Perinatal Group B Streptococcal Infections: Virulence Factors, Immunity, and Prevention Strategies. *Trends in microbiology*, 25(11), 919–931. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2017.05.013>

30. Kyathanahalli, C., Snedden, M., & Hirsch, E. (2023). Is human labor at term an inflammatory condition?. *Biology of reproduction*, 108(1), 23–40. DOI: <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac182>

31. Santos-Junior, M. N., Rezende, I. S., Souza, C. L. S., Barbosa, M. S., Campos, G. B., Brito, L. F., Queiroz, É. C., Barbosa, E.

N., Teixeira, M. M., Marques, L. M. (2018). Ureaplasma diversum and Its Membrane-Associated Lipoproteins Activate Inflammatory Genes Through the NF- κ B Pathway via Toll-Like Receptor 4. *Frontiers in microbiology*, 9, 1538. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01538>

32. Sweeney, E. L., Kallapur, S. G., Meawad, S., Gisslen, T., Stephenson, S. A., Jobe, A. H., & Knox, C. L. (2017). Ureaplasma Species Multiple Banded Antigen (MBA) Variation Is Associated with the Severity of Inflammation In vivo and In vitro in Human Placentae. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 123. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00123>

33. Girard, S., Heazell, A. E., Derricott, H., Allan, S. M., Sibley, C. P., Abrahams, V. M., & Jones, R. L. (2014). Circulating cytokines and alarmins associated with placental inflammation in high-risk pregnancies. *American journal of reproductive immunology*, 72(4), 422–434. DOI: <https://doi.org/10.1111/aji.12274>

34. Romero, R., Dey, S. K., & Fisher, S. J. (2014). Preterm labor: one syndrome, many causes. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6198), 760–765. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1251816>

35. Nadeau-Vallée, M., Obari, D., Palacios, J., Brien, M. È., Duval, C., Chemtob, S., & Girard, S. (2016). Sterile inflammation and pregnancy complications: a review. *Reproduction (Cambridge, England)*, 152(6), R277–R292. DOI: <https://doi.org/10.1530/REP-16-0453>

36. Taglauer, E. S., Wilkins-Haug, L., & Bianchi, D. W. (2014). Review: cell-free fetal DNA in the maternal circulation as an indication of placental health and disease. *Placenta*, 35 Suppl(Suppl), S64–S68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.11.014>

37. Erlebacher A. (2013). Immunology of the maternal-fetal interface. *Annual review of immunology*, 31, 387–411. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-100003>

38. Scharfe-Nugent, A., Corr, S. C., Carpenter, S. B., Keogh, L., Doyle, B., Martin, C., Fitzgerald, K. A., Daly, S., O'Neill, L. A. (2012). TLR9 provokes inflammation in response to fetal DNA: mechanism for fetal loss in preterm birth and preeclampsia. *Journal of immunology*, *188*(11), 5706–5712. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103454>

39. Reyes, L., & Golos, T. G. (2018). Hofbauer Cells: Their Role in Healthy and Complicated Pregnancy. *Frontiers in immunology*, *9*, 2628. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02628>

40. Young, O. M., Tang, Z., Niven-Fairchild, T., Tadesse, S., Krikun, G., Norwitz, E. R., Mor, G., Abrahams, V. M., & Guller, S. (2015). Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): a potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*, *73*(1), 22–35. DOI: <https://doi.org/10.1111/aji.12336>

41. Reyes, L., Wolfe, B., & Golos, T. (2017). Hofbauer Cells: Placental Macrophages of Fetal Origin. *Results and problems in cell differentiation*, *62*, 45–60. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-54090-0_3

42. Navathe, R., & Berghella, V. (2016). Tocolysis for Acute Preterm Labor: Where Have We Been, Where Are We Now, and Where are We Going?. *American journal of perinatology*, *33*(3), 229–235. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0035-1571147>

43. Tenório, M. B., Ferreira, R. C., Moura, F. A., Bueno, N. B., de Oliveira, A. C. M., & Goulart. (2019). Cross-Talk between Oxidative Stress and Inflammation in Preeclampsia. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2019*, 8238727. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/8238727>

44. Lim, R., Barker, G., & Lappas, M. (2013). SIRT6 is decreased with preterm labor and regulates key terminal effector

pathways of human labor in fetal membranes. *Biology of reproduction*, 88(1), 17. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.105163>

45. Sharp, G. C., Ma, H., Saunders, P. T. (2013). A computational model of lipopolysaccharide-induced nuclear factor kappa B activation: a key signalling pathway in infection-induced preterm labour. *PloS one*, 8(7), e70180. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070180>

46. Lim, R., Barker, G., Menon, R., & Lappas, M. (2016). A Novel Role for SIRT3 in Regulating Mediators Involved in the Terminal Pathways of Human Labor and Delivery. *Biology of reproduction*, 95(5), 95. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.142372>

47. Lappas M. (2013). NOD1 and NOD2 regulate proinflammatory and prolabor mediators in human fetal membranes and myometrium via nuclear factor-kappa B. *Biology of reproduction*, 89(1), 14. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.113.110056>

48. Yakan, A., Özkan, H., Çamdeviren, B., Kaya, U., Karaaslan, İ., & Dalkiran, S. (2021). Expression patterns of major genes in fatty acid synthesis, inflammation, oxidative stress pathways from colostrum to milk in Damascus goats. *Scientific reports*, 11(1), 9448. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88976-0>

49. Mitchell, S., Vargas, J., & Hoffmann, A. (2016). Signaling via the NFκB system. *Wiley interdisciplinary reviews. Systems biology and medicine*, 8(3), 227–241. DOI: <https://doi.org/10.1002/wsbm.1331>

50. Sun S. C. (2017). The non-canonical NF-κB pathway in immunity and inflammation. *Nature reviews. Immunology*, 17(9), 545–558. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri.2017.52>

51. Mao, G., Smyth, S. S., & Morris, A. J. (2019). Regulation of PLPP3 gene expression by NF-κB family transcription factors. *The*

Journal of biological chemistry, 294(38), 14009–14019.
<https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.009002>

52. Napetschnig, J., & Wu, H. (2013). Molecular basis of NF- κ B signaling. *Annual review of biophysics*, 42, 443–468. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-083012-130338>

53. Zhang, Q., Lenardo, M. J., & Baltimore, D. (2017). 30 Years of NF- κ B: A Blossoming of Relevance to Human Pathobiology. *Cell*, 168(1-2), 37–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.012>

54. Erstad, D. J., & Cusack, J. C., Jr (2013). Targeting the NF- κ B pathway in cancer therapy. *Surgical oncology clinics of North America*, 22(4), 705–746. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soc.2013.06.011>

55. Wu, S. P., & DeMayo, F. J. (2017). Progesterone Receptor Signaling in Uterine Myometrial Physiology and Preterm Birth. *Current topics in developmental biology*, 125, 171–190. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2017.03.001>

56. Defrin, D., Yerizel, E., Suhaimi, D. (2019). The Reactivity Levels of Progesterone, Nitric Oxide and Nuclear Factor Kappa-B on the Serum of Term and Post-Term Pregnancy, Clinical Study in Padang, West Sumatera, Indonesia. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7 (11), 1729–1732. DOI: <https://doi.org/10.3889/oamjms.2019.351>

57. Shukla, V., Kaushal, J. B., Sankhwar, P., Manohar, M., & Dwivedi, A. (2019). Inhibition of TPPP3 attenuates β -catenin/NF- κ B/COX-2 signaling in endometrial stromal cells and impairs decidualization. *The Journal of endocrinology*, 240(3), 417–429. DOI: <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0459>

58. Paolino, M., Kogelgruber, R., Cronin, S. J. F., Uribesalgo, I., Rauscher, E., Harreiter, J., Schuster, M., Bancher-Todesca, D.,

Penninger, J. M. (2021). RANK links thymic regulatory T cells to fetal loss and gestational diabetes in pregnancy. *Nature*, *589* (7842), 442–447. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03071-0>

59. Alotaibi M. F. (2017). The response of rat and human uterus to oxytocin from different gestational stages in vitro. *General physiology and biophysics*, *36*(1), 75–82. DOI: https://doi.org/10.4149/gpb_2016022

60. Xu, S., Qin, B., Shi, A., Zhao, J., Guo, X., & Dong, L. (2018). Oxytocin inhibited stress induced visceral hypersensitivity, enteric glial cells activation, and release of proinflammatory cytokines in maternal separated rats. *European journal of pharmacology*, *818*, 578–584. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.11.018>

61. Kim, S. H., MacIntyre, D. A., Firmino Da Silva, M., Blanks, A. M., Lee, Y. S., Thornton, S., Bennett, P. R., & Terzidou, V. (2015). Oxytocin activates NF- κ B-mediated inflammatory pathways in human gestational tissues. *Molecular and cellular endocrinology*, *403*, 64–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.11.008>

62. Xiong, W., Yao, M., Zhou, R., Qu, Y., Yang, Y., Wang, Z., Song, N., Chen, H., & Qian, J. (2020). Oxytocin ameliorates ischemia/reperfusion-induced injury by inhibiting mast cell degranulation and inflammation in the rat heart. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, *128*, 110358. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110358>

63. Peng, Q., Liu, Y., Dong, M., Xu, F., Huang, J., Chen, J., Li, X., Zhang, J., & Zhang, W. (2018). Interaction between NF- κ B and AP-1 and their intracellular localization at labor in human late pregnant myometrial cells in vivo and in vitro. *Medicine*, *97*(38), e12494. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000012494>

64. Kirici, P., Cagiran, F. T., & Kali, Z. (2022). Impact of spontaneous preterm birth on amniotic fluid NF- κ B, IL-6, TNF- α and IL-

1 β levels in singleton pregnancies conceived after IVF/ICSI treatment or natural conception. *European review for medical and pharmacological sciences*, 26 (22), 8395–8400. DOI: https://doi.org/10.26355/eurrev_202211_30374

65. Gilman-Sachs, A., Dambaeva, S., Salazar Garcia, M. D., Hussein, Y., Kwak-Kim, J., & Beaman, K. (2018). Inflammation induced preterm labor and birth. *Journal of reproductive immunology*, 129, 53–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2018.06.029>

66. Sykes, L., Thomson, K. R., Boyce, E. J., Lee, Y. S., Rasheed, Z. B., MacIntyre, D. A., Teoh, T. G., & Bennett, P. R. (2015). Sulfasalazine augments a pro-inflammatory response in interleukin-1 β -stimulated amniocytes and myocytes. *Immunology*, 146(4), 630–644. DOI: <https://doi.org/10.1111/imm.12534>

67. Munro, S. K., Balakrishnan, B., Lissaman, A. C., Gujral, P., & Ponnampalam, A. P. (2021). Cytokines and pregnancy: Potential regulation by histone deacetylases. *Molecular reproduction and development*, 88(5), 321–337. DOI: <https://doi.org/10.1002/mrd.23430>

68. Gao, Y., Chen, T., Lei, X., Li, Y., Dai, X., Cao, Y., Ding, Q., Lei, X., Li, T., & Lin, X. (2016). Neuroprotective effects of polydatin against mitochondrial-dependent apoptosis in the rat cerebral cortex following ischemia/reperfusion injury. *Molecular medicine reports*, 14(6), 5481–5488. DOI: <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5936>

69. Khatib, N., Ginsberg, Y., Ben David, C., Ross, M. G., Vitner, D., Zipori, Y., Zamora, O., Weiner, Z., & Beloosesky, R. (2022). Magnesium sulphate neuroprotection mechanism is placental mediated by inhibition of inflammation, apoptosis and oxidative stress. *Placenta*, 127, 29–36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2022.07.011>

70. Mlyczyńska, E., Myszka, M., Kurowska, P., Dawid, M., Milewicz, T., Bałajewicz-Nowak, M., Kowalczyk, P., & Rak, A. (2021).

Anti-Apoptotic Effect of Apelin in Human Placenta: Studies on BeWo Cells and Villous Explants from Third-Trimester Human Pregnancy. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2760. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22052760>

71. Yang, Y., Jiang, G., Zhang, P., & Fan, J. (2015). Programmed cell death and its role in inflammation. *Military Medical Research*, 2, 12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40779-015-0039-0>

72. Andrews, J. I., Griffith, T. S., & Meier, J. L. (2007). Cytomegalovirus and the role of interferon in the expression of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in the placenta. *American journal of obstetrics and gynecology*, 197(6), 608.e1–608.e6086. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.04.031>

73. Raguema, N., Moustadraf, S., & Bertagnolli, M. (2020). Immune and Apoptosis Mechanisms Regulating Placental Development and Vascularization in Preeclampsia. *Frontiers in physiology*, 11, 98. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00098>

74. Zheng, L. L., Tan, X. W., Cui, X. Z., Yuan, H. J., Li, H., Jiao, G. Z., Ji, C. L., & Tan, J. H. (2016). Preimplantation maternal stress impairs embryo development by inducing oviductal apoptosis with activation of the Fas system. *Molecular human reproduction*, 22(11), 778–790. DOI: <https://doi.org/10.1093/molehr/gaw052>

75. Tarquini, F., Picchiassi, E., Coata, G., Centra, M., Bini, V., Meniconi, S., Antonelli, C., Giardina, I., & Di Renzo, G. C. (2018). Induction of the apoptotic pathway by oxidative stress in spontaneous preterm birth: Single nucleotide polymorphisms, maternal lifestyle factors and health status. *Biomedical reports*, 9(1), 81–89. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2018.1103>

76. Raguema, N., Moustadraf, S., & Bertagnolli, M. (2020). Immune and Apoptosis Mechanisms Regulating Placental Development

and Vascularization in Preeclampsia. *Frontiers in physiology*, *11*, 98. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00098>

77. Raza, H., John, A., & Shafarin, J. (2016). Potentiation of LPS-Induced Apoptotic Cell Death in Human Hepatoma HepG2 Cells by Aspirin via ROS and Mitochondrial Dysfunction: Protection by N-Acetyl Cysteine. *PloS one*, *11*(7), e0159750. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159750>

78. Xiao, Q., Zeng, F. L., Tang, G. Y., Lei, C. Y., Zou, X. X., Liu, X. L., Peng, B. L., Qin, S., & Li, H. X. (2019). Expression of galectin-3 and apoptosis in placental villi from patients with missed abortion during early pregnancy. *Experimental and therapeutic medicine*, *17*(4), 2623–2631. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7227>

79. Zhu, J., He, M., Ma, C., Peng, F., Su, Y., & Huang, L. (2018). Expression and Clinical Significance of NOD-Like Receptor Protein 3 (NLRP3) and Caspase-1 in Fetal Membrane and Placental Tissues of Patients with Premature Rupture of Membrane. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*, *24*, 1560–1566. DOI: <https://doi.org/10.12659/msm.906157>

80. Saglam, A., Ozgur, C., Derwig, I., Unlu, B. S., Gode, F., & Mungan, T. (2013). The role of apoptosis in preterm premature rupture of the human fetal membranes. *Archives of gynecology and obstetrics*, *288*(3), 501–505. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00404-013-2774-3>

81. Kamada H. (2023). 12-Oxoeicosatetraenoic acid, a candidate signal for placenta separation, activates matrix metalloproteinase and induces apoptosis in bovine trophoblast cells. *Animal bioscience*, *36*(3), 429–440. DOI: <https://doi.org/10.5713/ab.22.0097>

82. Vempati, P., Popel, A. S., & Mac Gabhann, F. (2014). Extracellular regulation of VEGF: isoforms, proteolysis, and vascular

patterning. *Cytokine & growth factor reviews*, 25(1), 1–19. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2013.11.002>

83. Wang, X., Sun, T., Chen, G., & Gao, H. (2020). Association between Vascular Endothelial Growth Factor Gene Polymorphisms and Pre-Eclampsia Susceptibility: An Updated Meta-Analysis. *Immunological investigations*, 49(1-2), 120–133. DOI: <https://doi.org/10.1080/08820139.2019.1659812>

84. Chen, X., Liu, J., He, B., Li, Y., Liu, S., Wu, B., Wang, S., Zhang, S., Xu, X., & Wang, J. (2015). Vascular endothelial growth factor (VEGF) regulation by hypoxia inducible factor-1 alpha (HIF1A) starts and peaks during endometrial breakdown, not repair, in a mouse menstrual-like model. *Human reproduction (Oxford, England)*, 30(9), 2160–2170. DOI: <https://doi.org/10.1093/humrep/dev156>

85. Cöl-Madendag, I., Madendag, Y., Altinkaya, S. Ö., Bayramoglu, H., & Danisman, N. (2014). The role of VEGF and its receptors in the etiology of early pregnancy loss. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 30(2), 153–156. DOI: <https://doi.org/10.3109/09513590.2013.864272>

86. Melincovici, C. S., Boşca, A. B., Şuşman, S., Mărginean, M., Mişu, C., Istrate, M., Moldovan, I. M., Roman, A. L., & Mişu, C. M. (2018). Vascular endothelial growth factor (VEGF) - key factor in normal and pathological angiogenesis. *Romanian journal of morphology and embryology*, 59(2), 455–467.

87. Zeng, Y., Wei, L., Lali, M. S., Chen, Y., Yu, J., & Feng, L. (2020). miR-150-5p mediates extravillous trophoblast cell migration and angiogenesis functions by regulating VEGF and MMP9. *Placenta*, 93, 94–100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2020.02.019>

88. Voller, S. B., Chock, S., Ernst, L. M., Su, E., Liu, X., Farrow, K. N., & Mestan, K. K. (2014). Cord blood biomarkers of vascular endothelial growth (VEGF and sFlt-1) and postnatal growth: a preterm birth cohort study. *Early human development*, *90*(4), 195–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2014.01.003>

89. Langmia, I. M., Apalasy, Y. D., Omar, S. Z., & Mohamed, Z. (2015). Association of VEGFA gene polymorphisms and VEGFA plasma levels with spontaneous preterm birth. *Pharmacogenetics and genomics*, *25*(4), 199–204. DOI: <https://doi.org/10.1097/FPC.0000000000000125>

90. Lee, S. E., Kim, S. C., Kim, K. H., Yoon, M. S., Eo, W. K., Kim, A., & Kim, Y. O. (2016). Detection of angiogenic factors in midtrimester amniotic fluid and the prediction of preterm birth. *Taiwanese journal of obstetrics & gynecology*, *55*(4), 539–544. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tjog.2015.04.007>

91. Park, D. J., Seo, A. N., Yoon, C., Ku, G. Y., Coit, D. G., Strong, V. E., Suh, Y. S., Lee, H. S., Yang, H. K., Kim, H. H., & Yoon, S. S. (2015). Serum VEGF-A and Tumor Vessel VEGFR-2 Levels Predict Survival in Caucasian but Not Asian Patients Undergoing Resection for Gastric Adenocarcinoma. *Annals of surgical oncology*, *22 Suppl 3*(Suppl 3), S1508–S1515. DOI: <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4790-y>

92. Zur, R. L., Kingdom, J. C., Parks, W. T., & Hobson, S. R. (2020). The Placental Basis of Fetal Growth Restriction. *Obstetrics and gynecology clinics of North America*, *47*(1), 81–98. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2019.10.008>

93. Pique-Regi, R., Romero, R., Tarca, A. L., Sandler, E. D., Xu, Y., Garcia-Flores, V., Leng, Y., Luca, F., Hassan, S. S., & Gomez-Lopez, N. (2019). Single cell transcriptional signatures of the human placenta in

term and preterm parturition. *eLife*, 8, e52004. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.52004>

94. Brosens, I., Puttemans, P., & Benagiano, G. (2019). Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. *American journal of obstetrics and gynecology*, 221(5), 437–456. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.05.044>

95. Rose, A. T., & Patel, R. M. (2018). A critical analysis of risk factors for necrotizing enterocolitis. *Seminars in fetal & neonatal medicine*, 23(6), 374–379. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.siny.2018.07.005>

96. Wu, C., & Bayer, C. L. (2018). Imaging placental function: current technology, clinical needs, and emerging modalities. *Physics in medicine and biology*, 63(14), 14TR01. DOI: <https://doi.org/10.1088/1361-6560/aaccd9>

97. Moloney, A., Hladunewich, M., Manly, E., Hui, D., Ronzoni, S., Kingdom, J., Stratulat, V., Zaltz, A., Barrett, J., & Melamed, N. (2020). The predictive value of sonographic placental markers for adverse pregnancy outcome in women with chronic kidney disease. *Pregnancy hypertension*, 20, 27–35. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2020.02.004>

98. Medley, N., Vogel, J. P., Care, A., & Alfirevic, Z. (2018). Interventions during pregnancy to prevent preterm birth: an overview of Cochrane systematic reviews. *The Cochrane database of systematic reviews*, 11(11), CD012505.

99. Care, A., Nevitt, S. J., Medley, N., Donegan, S., Good, L., Hampson, L., Tudur Smith, C., & Alfirevic, Z. (2022). Interventions to prevent spontaneous preterm birth in women with singleton pregnancy who are at high risk: systematic review and network meta-analysis. *BMJ*

(*Clinical research ed.*), 376, e064547. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj-2021-064547>

100. Luo, Z., Xu, X., Sho, T., Zhang, J., Xu, W., Yao, J., & Xu, J. (2019). ROS-induced autophagy regulates porcine trophectoderm cell apoptosis, proliferation, and differentiation. *American journal of physiology. Cell physiology*, 316(2), C198–C209. DOI: <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00256.2018>

101. Tarquini, F., Picchiassi, E., Coata, G., Centra, M., Bini, V., Meniconi, S., Antonelli, C., Giardina, I., & Di Renzo, G. C. (2018). Induction of the apoptotic pathway by oxidative stress in spontaneous preterm birth: Single nucleotide polymorphisms, maternal lifestyle factors and health status. *Biomedical reports*, 9(1), 81–89. DOI: <https://doi.org/10.3892/br.2018.1103>

102. Pavlidis, I., & Stock, S. J. (2022). Preterm Birth Therapies to Target Inflammation. *Journal of clinical pharmacology*, 62 Suppl 1 (Suppl 1), S79–S93. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcph.2107>

103. Ilekis, J. V., Tsilou, E., Fisher, S., Abrahams, V. M., Soares, M. J., Cross, J. C., Zamudio, S., Illsley, N. P., Myatt, L., Colvis, C., Costantine, M. M., Bidwell, G. (2016). Placental origins of adverse pregnancy outcomes: potential molecular targets: an Executive Workshop Summary of the Eunice Kennedy Shriver National Institute of Child Health and Human Development. *American journal of obstetrics and gynecology*, 215(1 Suppl), S1–S46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.03.001>

Додаток 1

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ ТА
ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Ventskovskaya, I., Kupchik, V. (2021). New molecular mechanisms of placental dysfunction. *Reproductive Health Eastern Europe*, 11(6), 730-739. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2021.11.6.006> (Дисертантові належить збір, обробка та аналіз матеріалу, підготовка статті до публікації.)

2. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023). Активність р65-субодиниці ядерного фактора NF-κB та співвідношення Т-хелперів I і II типу у вагітних з плацентарними порушенням та передчасною пологовою діяльністю. *Репродуктивна ендокринологія*, 1(67), 79–83. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2023.67.79-83>

3. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2023) Роль активності р65 NF-κB, каспази-3, а також морфізм гена VEGF у розвитку передчасних пологів при плацентарних порушеннях. *Репродуктивне здоров'я жінки*, 1(64), 49–55. DOI: <https://doi.org/10.30841/2708-8731.1.2023.276250>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Венцківська І.Б., Купчік В.І. (2020) Вплив р65-субодиниці фактора NF-κB і маркера апоптозу каспази-3 на розвиток передчасних пологів у вагітних з плацентарною дисфункцією. *Репродуктивне здоров'я. Східна Європа*, 6(10), 654-660. DOI: <https://doi.org/10.34883/PI.2020.10.6.001>