

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»

На правах рукописи

Петрова Ксения Константиновна

**ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ
ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ
ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ**

3.3.3 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
Ирина Анатольевна Андриевская

Благовещенск – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. РОЛЬ ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	
1.1. Роль ЦМВ инфекции в развитии нарушений беременности ранних сроков	14
1.2. Особенности цитокинового ответа при физиологической и осложненной вирусными инфекциями беременности	19
1.3. Синтез гормонов в плаценте при физиологической и осложненной вирусными инфекциями беременности	23
1.4. Ультразвуковые и морфологические маркеры ранних потерь беременности, ассоциированных с вирусной инфекцией	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Характеристика базы и объект исследования	38
2.2. Методы исследования	44
2.2.1. Стандартные общеклинические методы обследования	44
2.2.2. Лабораторные методы исследования	45
2.2.3. Функциональные методы исследования	50
2.3. Статистическая обработка полученных результатов	50
ГЛАВА 3. ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	
3.1. Показатели специфического к ЦМВ иммунного ответа и основных медиаторов воспалительного ответа (NF- κ B, TNF α , sTNF-R1) в периферической крови и в плаценте при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности	53
3.2. Содержание прогестерона, эстрадиола и их рецепторов в	

периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона при различном течении ЦМВ инфекции	58
3.3. Показатели активности основных гистохимических маркеров, отражающих состояние процессов образования прогестерона и эстрогенов в плаценте при различном течении ЦМВ инфекции	67
3.4. Клинико-морфологические и ультразвуковые особенности строения плаценты у беременных женщин при различном течении ЦМВ инфекции	77
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ОТНОСИТЕЛЬНЫХ РИСКОВ УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ	
4.1. Прогностически значимые иммуно-гормональные показатели в оценке угрожающего течения первого триместра беременности при ЦМВ инфекции	95
4.2. Анализ и оценка относительных рисков угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции на основе клинических, ультразвуковых и гормональных параметров	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
ВЫВОДЫ	127
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	128
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	131

ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирусная (ЦМВ) инфекция в последние десятилетия приобретает все большую актуальность во всем мире. Европейским бюро ВОЗ она отнесена к группе болезней, определяющих будущее инфекционной патологии [37, 46].

Высокий риск врожденной ЦМВ инфекции и развития патологий у плода вследствие повреждения плаценты связан с высокой частотой (до 100%) выявления типоспецифических антител у женщин репродуктивного возраста [9, 35, 42, 88], а также способностью вируса реактивироваться на любом сроке беременности [35, 101, 195]. Последнее становится возможным из-за физиологической иммуносупрессии беременных женщин, поддерживаемой прогестероном и специфической рецепцией в эндометрии и плаценте [60, 168]. В последнее время высказывается мнение об участии ЦМВ инфекции в создании иммуносупрессивного барьера в период беременности, что еще в большей степени осложняет ее течение и развитие тяжелых патологий у плода [34].

По данным отечественных авторов реактивация ЦМВ в первом триместре беременности ассоциирована с высоким риском самопроизвольного выкидыша (до 20%) [7, 9, 12, 64], а при ее сохранении, частым осложнением являются развитие плацентарной недостаточности, задержки роста плода и преждевременные роды [35, 50, 90].

Высокий уровень репликативной активности ЦМВ в клетках трофобласта многие исследователи связывают с тропностью вируса к тканям, обладающих выраженной пролиферативной активностью, что приводит к развитию воспалительных реакций в плаценте [123, 183], обусловленных увеличением макрофагальной активности, поддерживаемой ядерным транскрипционным фактором (NF)- κ B [89, 118] и длительной экспрессией провоспалительных цитокинов, индуцирующих апоптоз [30, 131]. Имеются мировые данные, доказывающие связь апоптоза с ограничением инвазии и

миграции трофобласта [129], что является одной из причин патологии хориона и нарушения формирования маточно-хориальных сосудов, пролонгирующих неблагоприятные исходы беременности на ранних сроках.

Согласно другим данным, модуляция провоспалительных эффектов NF- κ B и транскрипция генов-мишеней может находиться под контролем одного из наиболее активных в первом триместре беременности эстрогенов – эстрадиола (E2) и его рецептора (ER α), реализующих свое действие через фосфатидилинозитол-3-киназный (PI3K)/АКТ сигнальный путь [145, 176], митоген-активированную протеинкиназу и G-белок-связанную сигнальную систему [117, 122, 161].

Патологические изменения, наблюдаемые в инфицированной ЦМВ плаценте, включают аваскуляризацию и незрелость ворсин, тромбоз ворсинчатых капилляров, виллузит и некроз ворсинчатой ткани и трофобласта [137, 195]. Ультразвуковыми маркерами внутриутробного инфицирования ЦМВ являются много- или маловодие, утолщение плаценты, наличие включений и ретрохориальная гематома [50].

Несмотря на то, что в литературе широко освещены многие вопросы, связанные с прямым влиянием ЦМВ на плаценту и развитие воспалительной реакции, участие E2 и прогестерона (P) в осуществлении провоспалительных транскрипционных эффектов NF- κ B, реализуемых через сигнальный путь фактор некроза опухолей альфа (TNF α) / растворимый рецептор TNF α (sTNF-R1) при различных патологических состояниях [107, 145], патофизиологические механизмы влияния снижения продукции гормонов на формирование плаценты и вклад в развитие неблагоприятных исходов беременности при различном течении ЦМВ инфекции остаются неизученными. Также продолжают исследования в области гистологической оценки особенностей эстрогено-прогестероногенеза в плаценте, недостаточность которого может иметь решающее значение в понимании механизмов угрожающего течения первого триместра беременности, ассоциированного с ЦМВ инфекцией.

В связи с этим, решение вопросов, связанных с поиском закономерностей изменения иммуно-гормональной регуляции формирования плаценты и вклад плацентарных нарушений в развитие угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции имеет важное патофизиологическое значение.

Степень разработанности темы диссертации

Был проведен углубленный анализ отечественной и зарубежной литературы по вопросу влияния ЦМВ инфекции на иммунные и гормональные закономерности нарушения формирования плаценты.

Показано, что ЦМВ остается одной из основных причин не только внутриутробной инфекции, но и вызванных плацентарной недостаточностью патологических состояний у плода и новорожденных [53, 55, 86]. Понимание патогенеза ЦМВ в период беременности продолжает улучшаться благодаря применению новых технологий и интервенционных исследований. Тем не менее, остается ряд нерешенных вопросов, касающихся ЦМВ инфекции в период беременности, особенно у серопозитивных женщин.

Доказано, что ЦМВ ограничивает ангиогенез и сосудистое ремоделирование хориона, задерживает правильное развитие клеток-предшественников трофобласта, препятствуя ранним стадиям роста ворсинок. Данные изменения приводят к усилению гипоксии и задержке развития эмбриона [97, 125]. Иммуно-вирусологические исследования показывают, что тяжелая инфекция плаценты ассоциирована с диффузным виллузитом и некрозом, что сопоставимо с функциональными нарушениями и возможным последующим гипоксическим поражением головного мозга плода. Кроме того, показано, что ЦМВ инфекция ассоциируется с повышенной экспрессией антиапоптотических белков, а также ингибирует миграцию трофобласта [109]. Также выявлено, что ЦМВ индуцирует иммунный ответ в плаценте, значительно изменяя децидуальную цитокиновую и хемокиновую среду. Предполагается, что ЦМВ индуцирует

повышенную экспрессию моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 и TNF α [107].

На сегодняшний день не выявлена причинно-следственная взаимосвязь иммуно-гормональных, ультразвуковых и морфологических изменений при различном течении ЦМВ инфекции в ранние сроки беременности. Также отсутствуют исследования сигнальных провоспалительных каскадов в ворсинчатом хорионе при ЦМВ инфекции, регулируемых NF-kB. Не определены взаимные эффекты TNF α и sTNF-R1 при ЦМВ инфекции и их влияние на морфогенез плаценты и процессы прогестероно-эстрогенообразования.

Таким образом, актуальность настоящего диссертационного исследования определяется важностью оценки патогенетически значимых иммуно-гормональных показателей, определяющих морфогенез плаценты и развитие осложнений первого триместра беременности при различном течении ЦМВ инфекции, что и определило выбор темы и цель исследования.

Цель исследования

Установить иммуно-гормональные и морфологические закономерности нарушения формирования плаценты в патогенезе угрозы прерывания беременности при ЦМВ инфекции.

Задачи исследования

1. Дать оценку содержания в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона транскрипционного фактора NF-kB и растворимого рецептора sTNF-R1 и определить их вклад в модуляцию показателей TNF α при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

2. Определить особенности нарушения гормональной регуляции на системном (периферическая кровь) и локальном (ворсинчатый хорион) уровнях по показателям эстрадиола и прогестерона и их рецепции при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

3. Провести анализ изменчивости показателей 3β -гидроксистероиддегидрогеназы I типа и 17β -гидроксистероиддегидрогеназы I типа в ворсинчатом хорионе при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

4. Выявить ультразвуковые и морфологические особенности плаценты при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

5. Провести поиск причинно-следственных взаимосвязей иммуно-гормональных, ультразвуковых и морфологических параметров для выявления прогностически значимых показателей нарушения формирования плаценты и дать оценку факторам риска угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции.

Научная новизна

Получены новые теоретические данные, расширяющие представление о роли ЦМВ инфекции в нарушении иммуно-гормональной регуляции формирования плаценты.

Доказано влияние уровня серопозитивности к ЦМВ у беременных женщин первого триместра на инфицирование хориона и развитие воспалительных реакций, реализуемых через сигнальный каскад транскрипционного фактора NF- κ B и синергичного действия TNF α и его растворимого рецептора sTNF-R1.

Показано, что выраженность гормонального дисбаланса у беременных женщин с ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности зависит от активности инфекционного процесса и выраженности локальных TNF-зависимых воспалительных реакций, определяющих эффективность преобразований 3β -гидроксистероиддегидрогеназой прегненолона в P и 17β -гидроксистероиддегидрогеназой эстрона в E2, и уровень экспрессии сигнальных рецепторов P (PR) и ER α в ворсинчатом хорионе.

Определен характер воспалительных изменений, морфологические признаки нарушения формирования и васкуляризации ворсин хориона у женщин с активной и латентной ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности.

Проведен анализ и дана оценка факторам риска угрозы прерывания беременности у женщин с различным течением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности, основанных на клинических (частота выявления болей и мажущих кровянистых выделений из половых путей) и ультразвуковых исследованиях (гипертонус миометрия, ретрохориальная гематома, предлежание хориона).

На основе многофакторного пошагового анализа разработаны дискриминантные уравнения иммуно-гормональных показателей в периферической крови у беременных женщин, которые с высоким уровнем предсказательной значимости позволяют прогнозировать угрозу прерывания беременности в зависимости от активности ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. Предикторами угрозы прерывания беременности при активной ЦМВ инфекции являются увеличение показателей $\text{TNF}\alpha$ и его рецептора sTNF-R1 в периферической крови, при латентном течении инфекции – уменьшение показателей P и увеличение показателей $\text{TNF}\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона.

Предложены математические модели, разработанные на основе дискриминантного анализа, раскрывающие иммуно-гормональные закономерности формирования патологических изменений хориона у женщин с различным течением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. При активной ЦМВ инфекции наиболее значимыми показателями, влияющими на развитие патологии хориона, являются увеличение $\text{TNF}\alpha$ и уменьшение активности 3β -гидроксистероиддегидрогеназы, при латентном течении инфекции – увеличение $\text{TNF}\alpha$ и уменьшение рецепторов PR .

Научная новизна диссертационного исследования подтверждена 2 патентами на изобретение РФ (патент РФ № 2664446, патент РФ № 2724395).

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в полученных в ходе диссертационного исследования новых данных, расширяющих представления о зависимых от формы течения ЦМВ инфекции в ранние сроки беременности иммунных, гормональных, ультразвуковых и морфологических изменениях, происходящих в хорионе и организме беременной женщины, значимости в развитии такого осложнения беременности, как угроза ее прерывания в ранние сроки.

Практическую значимость имеют разработанные способы прогнозирования угрозы прерывания беременности при цитомегаловирусной инфекции (патент РФ № 2664446) и плацентарной недостаточности во второй половине беременности у ЦМВ-серопозитивных женщин с угрозой невынашивания ранних сроков (патент РФ № 2724395).

Материалы диссертации внедрены в структурные научные подразделения и отделения клиники Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (акт внедрения от 25 января 2019 г.), в учебный процесс в отделе образования Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России: в лекционный курс и практические занятия на кафедрах физиологии и патофизиологии (акт внедрения от 04 февраля 2019 г.), акушерства и гинекологии (акт внедрения от 04 февраля 2019 г.).

Методология и методы работы

Проведено проспективное исследование в период с 2016 по 2019 годы 192 беременных женщин в первом триместре беременности (срок 6-12 недель). Исследование проведено в два этапа: первый – распределение

беременных женщин по серопозитивности к ЦМВ; второй – распределение по характеру течения инфекционного процесса (активная или латентная ЦМВ инфекция).

Диссертационное исследование включало составление и оформление тематических разработочных карт, современные клинико-лабораторные, морфологические и функциональные методы исследования показателей, характеризующих иммунные и гормональные изменения в периферической крови и в ворсинчатом хорионе, а также ультразвуковые и морфологические особенности плаценты. В работе применены методы статистического анализа значимости различий исследуемых показателей, их множественных корреляций, а также дискриминантный анализ и оценка относительных рисков.

Положения, выносимые на защиту

1. Развитие воспалительных реакций в маточно-хориальной области у женщин с ЦМВ инфекцией в первом триместре, связано с характером течения инфекционного процесса, изменяющим провоспалительную активность транскрипционного фактора NF- κ B, продукцию TNF α и его рецептора sTNF-R1.

2. При ЦМВ инфекции в первом триместре беременности выявляется зависимое от характера течения инфекционного и TNF α -зависимого воспалительного процесса нарушение плацентарного эстрогено-прогестероногенеза, определяющего уровень эстрадиола и прогестерона, рецепторов к ним и влияние гормональной недостаточности на задержку дифференцировки и васкулогенеза ворсин хориона.

3. Разработаны дискриминантные уравнения, позволяющие установить наиболее значимые иммуно-гормональные показатели, определяющие патологию развития хориона, и предикторы угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции.

Апробация работы

Основные положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на научных конференциях «Молодые ученые – науке» (Благовещенск, 2017-2019 г.г.); научной конференции «Фундаментально-прикладные аспекты профилактической и восстановительной медицины» (Владивосток, 26-28 сентября 2017 г.); International Conference of the American-Thoracic-Society (Даллас, Техас, 17-22 мая, 2019 г.); VIII съезде врачей пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 29-30 мая 2019 г.); региональной научной конференции «Дискуссионные вопросы акушерства и гинекологии» (Благовещенск, 27 мая 2021 г.).

Внедрение

Полученные в ходе проведенных исследований результаты внедрены в научно-практическую деятельность профильных структурных отделений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (г. Благовещенск), в учебный процесс Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Благовещенск): лекционный курс и практические занятия на кафедрах физиологии, патофизиологии, а также акушерства и гинекологии.

По материалам диссертационной работы разработаны и внедрены в клиническую практику способы прогнозирования угрозы прерывания беременности при ЦМВ инфекции (патент РФ № 2664446) и плацентарной недостаточности во второй половине беременности у ЦМВ-серопозитивных женщин с угрозой невынашивания ранних сроков (патент РФ № 2724395).

Личное участие автора

Автор принимал непосредственное участие в получении исходных данных, их обработке и интерпретации, а также подготовке публикаций по проведенным исследованиям и оформлении текста диссертационной работы.

Автор выражает глубокую признательность Жуковец Ирине Валентиновне, д.м.н., доценту, декану лечебного факультета Федерального государственного учреждения образования высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации за помощь в организации сбора материала для исследования, Довжиковой Инне Викторовне, д.б.н., ведущему научному сотруднику лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» за помощь на этапе проведения гистологических исследований.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 18 научных работ, из них 13 статей в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки РФ, из которых 4 в системе «Web of Science» и «Scopus», 13 – в РИНЦ, получено 2 патента РФ на изобретение, составлено методических пособий – 3.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 157 страницах компьютерного текста, состоит из введения, литературного обзора, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов и указателя списка литературы, содержащего 66 источников на русском языке и 136 на иностранном языке. Текст диссертации иллюстрирован 16 таблицами и 34 рисунками

ГЛАВА 1. РОЛЬ ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Роль ЦМВ инфекции в развитии нарушений беременности ранних сроков

ЦМВ широко распространен среди беременных и женщин репродуктивного возраста. По неполным данным сероэпидемиологических исследований, антитела к ЦМВ присутствуют у 40-100% женщин детородного возраста. Показатели варьируются в зависимости от страны проживания – в экономически развитых странах, таких как Великобритания, Австралия, США, серопозитивность среди беременных женщин и женщин детородного возраста составляет 40-70%, в то время, как в развивающихся странах и странах с более низким социально-экономическим статусом достигает 100% [40, 42, 88].

В России широко масштабных популяционных исследований по изучению распространенности ЦМВ инфекции на сегодняшний день не проводилось [46]. В Москве и Санкт-Петербурге ЦМВ инфицировано около 90% женщин репродуктивного возраста [35], в Алтайском крае, по данным Дьячук Е.В. с соавторами, в 2011 году уровень инфицированности ЦМВ беременных женщин составил 89,3% [31].

ЦМВ, попав в организм, способен сохраняться в течение всей жизни, находясь в латентном состоянии. Однако, физиологическая иммуносупрессия, характерная беременности, может стать причиной снижения естественной противовирусной резистентности и способствовать активации латентной или более сильному развитию первичной вирусной инфекции [8, 46, 58, 72].

Чаще всего ЦМВ инфекция во время беременности протекает бессимптомно или с минимальными симптомами, сходными с острой респираторной вирусной инфекцией, но, тем не менее, она может оказать влияние на плодное яйцо, и стать причиной его гибели, либо привести тяжелым осложнениям для плода и новорожденного [40, 81, 167]. Наиболее частыми осложнениями беременности на фоне ЦМВ инфекции являются: невынашивание, плацентарная недостаточность, врожденные пороки развития плода и др. [46, 58, 170]. А также она ассоциируется с мертворождением, преждевременными родами и задержкой внутриутробного роста плода, что является факторами риска перинатальной и последующей заболеваемости, включая заболевания сердечно-сосудистой системы [72, 85, 125, 196]. Реактивации инфекции могут способствовать такие факторы как стресс, длительная гормональная терапия, изменения характера питания, экологические воздействия [35]. Ведущую роль при этом имеет срок беременности, при котором произошло воздействие. Наиболее тяжелые последствия отмечаются при реактивации инфекции в первом триместре беременности – велика вероятность развития осложнений, патологических нарушений у плода и, в 15% случаев, самопроизвольного выкидыша [22, 40, 169, 170].

Первичная ЦМВ инфекция в период беременности регистрируется всего в 1-4% случаев, но при этом риск внутриутробного инфицирования плода достигает 75% [35, 103, 177]. При реактивации латентной ЦМВ инфекции этот показатель составляет 0,2-3% [6, 46, 67, 100], при этом являясь одной из значимых причин задержки нервно-психического развития и иммунных нарушений детей первого года жизни [4, 15, 62, 178]. Тем не менее, в последнее время появляется все больше данных о тяжелых клинических исходах для плода при инфицировании матери задолго до беременности. Предполагается, что это может быть связано с реинфицированием другим штаммом ЦМВ во время беременности [100, 131, 177].

Учитывая важность проблемы, ВОЗ включила ЦМВ инфекцию в синдром внутриутробной инфекционной патологии, так называемый TORCH, включающий наиболее важные инфекции: токсоплазмоз, сифилис, листериоз, краснуху, ЦМВ инфекцию и хламидиоз [58, 105, 165].

Тем не менее, основы специфического молекулярного и клеточного эффектов ЦМВ на плаценту и плод и причины различия клинических исходов для плода, недостаточно понятны. Исследования *in vitro* показали, что ЦМВ инфекция может привести к дисфункции плаценты. Несколькими группами ученых было выявлено репликация ЦМВ в клетках трофобласта, где вирус способен вызывать воспалительный ответ, усиливающий апоптоз [183].

В недавних исследованиях был обнаружен высокий уровень инфицирования плацент при ЦМВ инфекции [123, 126]. Инфицирование плаценты ЦМВ происходит либо гематогенным путем, либо клеточным переносом от децидуальной оболочки к якорным ворсинкам плаценты в ранних сроках беременности [83, 201].

Есть данные о способности ЦМВ инфицировать моноциты, макрофаги и их предшественники, вероятно, таким образом обеспечивая резервуары для латентного течения ЦМВ инфекции [202]. Было показано, что на уровне трансплацентарного барьера ЦМВ индуцирует отчетливый врожденный иммунный ответ децидуальной ткани и нарушает регуляцию толерантности [120, 124].

Высокая вирусная нагрузка в плаценте приводит к развитию выраженного воспаления. Это, в свою очередь, повышает ее проницаемость, что увеличивает риск передачи вируса плоду. Кроме того, воспаление может привести к развитию плацентарной недостаточности с гипоксическим поражением плода и задержкой его внутриутробного роста вследствие нарушения трансплацентарной доставки кислорода и питательных веществ [99, 125, 156].

При внутриутробном инфицировании в плаценте развивается гипоксически-подобное состояние, стимулирующее компенсаторные механизмы, приводящие к увеличению площади поверхности, соприкасающейся с материнской кровью. В первом триместре ворсинчатый цитотрофобласт пролиферирует, происходит его дифференцировка и инвазия в маточную стенку, регулируемые давлением кислорода. Пролонгированная гипоксия вследствие инфекции, воспаления и фиброза в маточно-плацентарном пространстве может продлевать эти процессы. Плаценты с внутриутробным инфицированием ЦМВ увеличиваются в весе и толщине [151].

Такако Tabata с соавторами (2015) отметили, что в случаях врожденной ЦМВ инфекции происходит инфицирование клеток-предшественников трофобласта в хорионе, что может снизить количество этих клеток и их функциональную активность. Их исследования показали, что репликация вируса ухудшает способность к обновлению клеток, поддерживает их недифференцированное состояние. Также ими было обнаружено, что инфицированные клетки-предшественники не могут мигрировать, а, следовательно, снижается образование ворсин [125]. Это объясняет почему плаценты в случаях врожденной ЦМВ инфекции могут быть уменьшены в размерах [152].

Установлена модель гематоплацентарного барьера, состоящая из клеток трофобласта и плацентарных перицитов [138]. Плацентарные перициты необходимы для пролиферации эндотелиальных клеток, а также для стабильности и целостности микроциркуляторного русла плаценты. Перициты также имеют решающее значение для развития сосудов плаценты и ангиогенеза [73, 138]. D.M. Aronoff с соавторами (2017) в недавнем исследовании выявили, что через 24 часа после воздействия ЦМВ на плаценту в ней повышается экспрессия моноцитарного хемотаксического белка-1 [73]. Эти результаты свидетельствуют о том, что ЦМВ инфекция изменяет микроокружение плаценты, а моноцитарный хемотаксический

белок-1 инициирует повреждение плаценты и плода [70]. Кроме того, было обнаружено повышение уровня фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) в супернатантах плацентарных перидитов, подвергшихся воздействию ЦМВ [73]. Было обнаружено, что ЦМВ инфекция может вызвать гибель перидитов в проксимальных участках плацентарной сосудистой сети. Это может повлиять на проницаемость плацентарных сосудов, увеличить плацентарное воспаление и привести к нарушению ангиогенеза. Кроме того, возможны нарушения тканевой перфузии и нарушение микроциркуляции [70].

Таким образом, ЦМВ инфекция ухудшает дифференцировку и инвазию цитротрофобласта, необходимые для обеспечения адекватного кровоснабжения плаценты и плода. Инфицирование патогенным штаммом ЦМВ ухудшает рост ворсинок. Плаценты, полученные от новорожденных с симптоматической врожденной ЦМВ инфекцией и негативным исходом, проявляют признаки гипоксии. Клетки-предшественники трофобласта дают начало зрелым клеткам плаценты человека. Нарушение их пролиферации и функции может приводить к гипоксии и порокам развития у плода, таким как задержка внутриутробного роста. Было установлено, что ЦМВ-инфицированные клеточные белки присутствуют в клетках-предшественниках хориона в случаях врожденного симптоматического заболевания. Фактически, иммуногистохимические и вирусологические исследования показали, что тяжелая инфекция плаценты была связана с диффузным виллузитом и некрозом, что согласуется с функциональными нарушениями и возможным последующим поражением головного мозга [74, 92, 125].

Очевидно, что ЦМВ оказывает влияние на функции плаценты, способствует развитию виллузита, дицидуита и ишемии тканей, ведет к развитию гипоксического состояния, что приводит к неблагоприятным исходам для плода и может стать причиной задержки внутриутробного роста плода и мертворождения [54, 99, 174, 175]. Большая часть исследований на сегодняшний день посвящены изучению влияния первичной ЦМВ инфекции

на течение беременности, в то время как обострению латентно текущей инфекции внимания практически не уделяется. Хотя существуют данные, показывающее ее влияние на прерывание беременности, но механизмы, приводящие к этому, практически не изучены [87, 130, 172].

1.2. Особенности цитокинового ответа при физиологической и осложненной вирусными инфекциями беременности

Нормальное течение беременности невозможно без супрессорной перестройки иммунной системы матери, что направлено на формирование и поддержание иммунотолерантности к полуаллогенному плоду. По данным многих авторов, даже при нормально протекающей беременности, действие трофобласта на эндометрий приводит к развитию децидуита, зависящего от ряда факторов, в том числе от эффектов Р и прогестероиндуцируемого блокирующего фактора (PIBF) с участием Т-хелперов I и II классов (Th-1 и Th-2). Th-1 ограничивают инвазию трофобласта и синтезируют провоспалительные цитокины: интерлейкин (IL) -1, интерферон гамма (IFN γ), TNF α , участвующие в росте и дифференцировке Т- и В-лимфоцитов, естественных киллеров, играющих роль в противовирусной и антибактериальной защите. Th-2, напротив, стимулируют инвазию трофобласта и синтезируют интерлейкины, участвующие, преимущественно, в гуморальных реакциях, гемопоэзе, ангиогенезе в децидуальной оболочке и трофобласте (IL-4, IL-5, IL-10) [11, 61, 200]. Для успешного становления и течения беременности необходим нормальный цитокиновый профиль, регулирующий взаимоотношения между полуаллогенной плацентой и иммунной системой матери [99, 126]. В норме во время беременности происходит переключение иммунного ответа с Th-1 на Th-2 тип: в сыворотке крови отмечается незначительный рост концентрации провоспалительных цитокинов, а на границе трофобласта и эндометрия можно отметить умеренный лимфоцитарный сдвиг. Нарушение этого процесса может

приводить к различной патологии беременности, вплоть до ее прерывания [11, 61, 144].

Цитокины непосредственно влияют на развитие и функцию плаценты, включая рост якорных и свободных ворсин хориона, необходимых для доставки кислорода, питательных веществ и иммуноглобулинов класса G (Ig G) к развивающемуся плоду [126]. Особенность продукции цитокинов во время беременности связана с созреванием плаценты и иммунологическими фазами [99]. ЦМВ обладает иммуномодулирующими свойствами, которые изменяют иммунный ответ хозяина на инфекцию, что может влиять на цитокиновый профиль плаценты, инфицированной ЦМВ [126]. В недавних исследованиях предполагалось, что ЦМВ инфекция изменяет баланс Th-1 и Th-2 во время беременности путем повреждения экспрессии цитокинов плацентарными клетками и ростом экспрессии цитокинов Th-1 в амниотическую жидкость [68, 99].

Также обнаружено, что при инфицировании ЦМВ повышается продукция $IFN\gamma$ [180]. Нарушение экспрессии цитокинов плацентой ассоциируется с задержкой внутриутробного роста плода, преждевременными родами и преждевременным разрывом плодных оболочек. Вероятно, что изменения, вызванные ЦМВ в уровнях цитокинов, приводят к провоспалительным изменениям в плаценте, а, следовательно, нарушению плацентарной функции, вирусной трансмиссии и поражению плода [99].

Gillian M. Scott с соавторами (2012) сравнили экспрессию цитокинов в амниотической жидкости беременных с внутриутробной ЦМВ инфекцией с контрольной неинфицированной группой. Уровень цитокинов с выраженным провоспалительным (Th-1) характером был значительно повышен в амниотической жидкости, полученной в случаях врожденной ЦМВ инфекции по сравнению с группой контроля, так же, как и уровень хемокинов. Уровень IL-5, имеющего как провоспалительное, так и воспалительное действие, также значительно повышался при врожденной ЦМВ инфекции. В то время,

как уровень противовоспалительного IL-4 (Th-2) при ЦМВ инфекции был значительно ниже [99].

Известно, что клетки трофобласта в стенке матки сосуществуют с естественными клетками-киллерами (NK клетками). Последние играют важную роль в инвазии трофобласта и процессах ремоделирования спиральных артерий, кроме того, они способны синтезировать провоспалительные цитокины [96, 128, 163, 184], тем самым влияя на степень выраженности иммунного ответа [70, 158]. *Ex vivo* исследования показывают, что NK клетки способны выявлять и разрушать инфицированные клетки с целью защиты плода от проникновения патогенов [95, 132]. В недавних исследованиях было выявлено, что количество децидуальных NK клеток увеличивается в плацентах, инфицированных ЦМВ [149, 153]. Есть данные, свидетельствующие о том, что NK клетки способны инактивировать ЦМВ в стромальных децидуальных клетках матери, но, в случае проникновения ЦМВ в плодовой вневорсинчатый трофобласт инактивации не происходит [96, 186]. При этом ЦМВ способен ингибировать пролиферацию клеток вневорсинчатого хориона, снижая их способность к инвазии, и подавляя иммунную функцию NK клеток, что приводит к аномалиям взаимодействия системы мать-плацента-плод [106].

Одним из провоспалительных цитокинов, синтезируемых NK клетками, является TNF α . TNF α играет важную роль в синтезе и секреции гормонов, а также в тканевых перестройках, происходящих в плаценте по мере ее развития [59, 126, 183, 191]. TNF α по большей части экспрессируется в трофобласте в ранние и поздние сроки беременности (больше, чем во втором триместре). TNF α функционирует во время беременности для усиления имплантации бластоцисты, контроля пролиферации трофобласта, миграции и дифференцировки, а также стимулирует деятельность матки во время родов. Его функция в процессе воспаления заключается в отборе иммунных эффекторных клеток, индукции апоптоза, а также он несет множественные функции в септическом ответе. Хотя этот фактор играет

важную роль в регуляции развития плаценты, отклонения в его экспрессии ассоциируется с неблагоприятными исходами беременности и также могут привести к развитию повреждений плода и его гибели [76, 183]. Так, S.M. Blois с соавторами (2017) было выявлено, что при самопроизвольном прерывании беременности преобладает фенотип децидуальных NK клеток, продуцирующих большое количество TNF α и IFN γ , способных блокировать пролиферацию, миграцию и дифференцировку клеток трофобласта [147]. Повышение уровня TNF α было выявлено у женщин с привычным невынашиванием [76, 78, 139], а также при преэклампсии [198].

ЦМВ обладает иммуномодулирующими свойствами, которые изменяют иммунный ответ хозяина на инфекцию, что может влиять на цитокиновый профиль плаценты, инфицированной ЦМВ [133]. Согласно экспериментальным данным, инфицирование ЦМВ приводит к увеличению экспрессии TNF α в плаценте [126].

Следует отметить, что важную роль в формировании иммунного ответа играет транскрипционный фактор NF-kB. Он способен активировать гены, кодирующие регуляцию ангиогенеза, дифференцировки, пролиферации и апоптоз трофобластов. В покоящейся клетке NF-kB находится в неактивном состоянии, но под действием провоспалительных цитокинов переходит в активное состояние [17, 36, 148]. Отмечено, что при задержке внутриутробного роста плода и преэклампсии происходит снижение транскрипционной активности NF-kB [17, 155].

Биологическая активность TNF α может быть модулирована, в частности, его растворимыми рецепторами sTNF-R1 и sTNF-R2, экспрессируемыми на поверхности различных типов клеток. Показано, что растворимая форма рецепторов может стабилизировать TNF α , когда цитокин присутствует в низких концентрациях в плазме, или нейтрализовать его, конкурируя за рецепторы на поверхности клетки, когда цитокин находится в избытке в местных средах. Растворимый рецептор sTNF-R1 постоянно экспрессируется в большинстве тканей, а sTNF-R2 – во время

воспалительной реакции. В период беременности как TNF α , так и его рецепторы в норме экспрессируются в ворсинчатом трофобласте [79]. Исследований экспрессии sTNF-R1 в ворсинчатом хорионе при беременности, осложненной ЦМВ инфекцией, нет, хотя показано, что его концентрация в сыворотке крови матери повышается при гипертензивных расстройствах беременности, в том числе преэклампсии [187].

Таким образом, дисрегуляция цитокинового ответа во время беременности вызывает нарушения процессов формирования плаценты, ее функционально-метаболической недостаточности, патофизиологические механизмы которой при вирусных инфекциях еще предстоит изучить [126].

1.3 Синтез гормонов в плаценте при физиологической и осложненной вирусными инфекциями беременности

Стероидные гормоны: гестагены, эстрогены, андрогены и глюкокортикоиды, а также их предшественник холестерин, необходимы для успешного становления и поддержания беременности [115, 144]. Они играют важную роль в регуляции изменения чувствительности к инсулину и метаболизму глюкозы в организме матери, способствуют некоторым изменениям сердечно-сосудистой системы в период беременности, являются ключевыми стимуляторами развития молочной железы, а также когнитивных состояний матери во время родов и послеродовом периоде [143, 144].

При фатальном нарушении развития беременности (неразвивающаяся беременность, самопроизвольное прерывание) уровень P и E2 в сыворотке крови беременной достоверно снижается [14, 199].

Плацента участвует в биосинтезе и метаболизме стероидов, а также в их обмене между матерью и плодом [22, 84, 157]. Синтез, метаболизм и транспорт стероидов из холестерина происходит в трофобласте ворсин хориона. Плацента является неполноценным эндокринным органом, часть ферментов, необходимых для стероидогенеза, находятся в тканях плода [22].

С 8 недели беременности синцитиотрофобласт становится основным местом синтеза Р и эстрогенов, а внутренние органы плода (кора надпочечников и печень) источником кортикостероидов и андрогенов: дегидроэпиандростерона (ДГЭА), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭАС), 16 α -гидрокси-ДГЭА (16 α -ОН-ДГЭА) и 16 α -гидрокси-ДГЭАС (16 α -ОН-ДГЭАС) [84].

По имеющимся сведениям, реактивация вирусов герпеса в период беременности ассоциирована с низким уровнем холестерина в ворсинчатом хорионе и в периферической крови беременных, что объясняется нарушением его синтеза и является фактором, уменьшающим образование стероидных гормонов [19, 25, 44].

Следует отметить, что для нормального развития беременности большое значение имеют гестагены: Р и его метаболиты. Р поддерживает имплантацию бластоцисты, обеспечивает иммунную толерантность организма матери к развивающемуся плоду, стимулирует рост матки и подготавливает молочные железы к лактации [84, 104, 173, 185]. Уровень Р повышается на протяжении всей беременности и снижается непосредственно перед родами [121, 160]. Р влияет на продолжительность беременности [160] через свою иммуномодулирующую активность, которая опосредуется четырьмя основными механизмами: прямой связью с иммунными клетками через ядерные рецепторы, сигналингом через мембранные рецепторы, связыванием с глюкокортикоидным рецептором, а также индуцированием транскрипции PIBF [73, 142].

Р может способствовать васкуляризации матки и плаценты различными путями. Например, он повышает регуляцию гомолога VEGF плацентарного фактора роста (PIGF) [173], который экспрессируется трофобластами и маточными НК клетками [173, 194]. В исследованиях показано, что PIGF способствует цитокинезу НК клеток, а, следовательно, ремоделированию децидуальных спиральных артерий в ранние сроки гестации и разветвлению лабиринтных сосудов в конце беременности у мышей [194]. Известно, что

децидуальные НК клетки способствуют сосудистым изменениям в период беременности благодаря секреции цитокинов (IFN γ , IL-17). IFN γ влияет на васкуляризацию матки и экспрессию стромальных генов, что приводит к нестабильности сосудов и облегчает ремоделирование децидуальных артерий [173]. Имеется предположение, что P и E2 вызывают апоптоз в нейтрофилах, которые переносят белки в Т-клетки. Эти «нейтрофил-индуцированные» Т-клетки повышают регуляторные маркеры и стимулируют рост сосудов *in vitro* через экспрессию IL-17 и VEGF [146].

Хотя роль P в иммунной системе недостаточно изучена, существует мнение о том, что до момента родов, гормон является критическим фактором в поддержании иммунотолерантного состояния и покоя миометрия. Кроме того, показано, что в лейкоцитах периферической крови P подавляет продукцию провоспалительных цитокинов, что снижает дифференцировку и пролиферацию подтипа Т-хелперов. Также P блокирует естественную дегрануляцию НК клеток и их цитолитическую функцию, делая более восприимчивыми к апоптозу [142, 171, 179].

Гестагены влияют и на уровень кальция и простагландинов в клетке, блокируют действие окситоцина и α -адренергическую стимуляцию. Под их действием замедляется передача нервного возбуждения по мышечным волокнам, что приводит к снижению нервно-мышечной активности матки [22, 84].

До восьмой недели беременности P секретируется желтым телом яичника, затем эта функция переходит плаценте. Синтез P начинается в митохондриях. Под действием 3β -гидрогистероиддегидрогеназы прегненолон превращается в P в эндоплазматическом ретикулуме. Стимулируется этот процесс хорионическим гонадотропином и хорионическим адренокортикотропином с помощью циклического аденозинмонофосфата [22, 84]. Различные эндогенные гормоны, такие как E2, инсулин, инсулиноподобный фактор роста, кальцитриол, лептин и кортикотропин-релизинг-гормон, могут регулировать синтез P [84].

Большое значение имеют и метаболиты Р. Его метаболизм происходит непосредственно в плаценте, плодных оболочках и миометрии при участии ряда ферментов. Наиболее распространенными метаболитами являются 20 α -дигидропрогестерон, участвующий в регуляции Р и обладающий, наряду с другими гестагенами, токолитическим эффектом, и 5 α -дигидропрогестерон, необходимый для синтеза аллопрегнанола – нейроактивного стероида, требующегося для полноценного развития нервной системы плода. Самым мощным токолитическим действием из всех метаболитов Р обладает 5 β -дигидропрогестерон. Кроме того, полагают, что он принимает участие в поддержании адекватного плодово-плацентарного кровотока. Еще одним метаболитом Р, обнаруженным в плаценте, является 17-гидроксипрогестерон – промежуточный продукт синтеза глюкокортикоидов. Конечным продуктом метаболизма Р является 5 β -прегнандиол, служащий основой для образования глюкуронилтрансферазы у плода [24].

В гистологических исследованиях, проведенных на плаценте от женщин с хронической герпес-вирусной инфекцией, показано снижение ее 3 β -гидроксистероиддегидрогеназной активности [18, 26, 27]. По другим данным, в трофобласте ворсин хориона от ЦМВ-инфицированных женщин отмечено снижение продуктов гистохимической реакции на 20 α -гидроксистероиддегидрогеназу [22, 44], что указывает на патогенетическую роль материнской инфекции в нарушении синтеза и метаболизма Р [45].

Группа стероидов эстрогенового ряда включает эстрон, эстрадиол и эстриол, которые участвуют в регуляции маточно-плацентарного кровотока и сократительной активности миометрия, обеспечивают рост и дифференцировку эндометрия, а также пролиферацию эпителия молочной железы. Определена роль эстрогенов в регуляции экспрессии генов, необходимых для доставки холестерина в плаценту [84].

Свое действие эстрогены осуществляют через различные типы рецепторов: как ядерные (ER α , ER β), являющиеся одновременно как транскрипционными факторами, так и мембранными рецепторами. Наиболее

хорошо изучены рецепторы эстрогена – α и β . ER α локализуется, кроме прочего, в плаценте – синцитиотрофобласте и цитотрофобласте [21, 84].

Синтез эстрогенов регулируется различными гормонами, такими как E2, кортизол, кальцитриол, кортикотропин-рилизинг-гормон, хорионический гонадотропин, инсулин и лептин [84]. Для синтеза эстрогенов также необходимы ферменты и белки-переносчики. Цитохром-P450c17 участвует в превращении прегненолона в 17 α -гидроксипрегненолон, а затем в ДГЭА. Ранее считалось, что плацента не способна превращать прегненолон и P в продукты андрогеногенеза, и предполагалось, что сульфатированные C₁₉-андрогены, 16 α -ОН-ДГЭАС и ДГЭАС поступают из тканей плода и, с помощью плацентарной стероидной сульфатазы, 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы 1 типа (3 β -ГСДГ-1), цитохрома-P45019A1 (ароматазы) и 17 β -гидроксистероиддегидрогеназы преобразуются в эстрогены [20, 84]. Согласно другим исследованиям, в клетках синцитиотрофобласта экспрессируется цитохром-P17A1, участвующий в синтезе 17 α -гидроксипрогестерона. Около 30% эстрогенов, образующихся во время беременности, производятся в плаценте в результате конверсии прегненолона под действием 17 α -гидроксилазы [109].

Продукция ДГЭА происходит в синцитиотрофобласте, но большая часть сульфатированных C₁₉-предшественников эстрогена – 16 α -ОН-ДГЭАС и ДГЭАС образуются в тканях плода. ДГЭА вырабатывается в надпочечниках плода, клетки которых обладают сульфаттрансферазной активностью, благодаря чему образуется ДГЭАС. В печени плода ДГЭАС подвергается 16 α -гидроксилированию с помощью цитохрома-P3A7 с образованием 16 α -ОН-ДГЭАС – наиболее частого предшественника эстрогенов. Синтезируемые плацентой неконъюгированные эстрогены путем диффузии высвобождаются в кровь матери и плода. Частично они сульфатируются как в организме матери, так и в тканях плода, а затем повторно попадают в плаценту. Кроме того, плацента обладает сульфатазной

и сульфаттрансферазной активностью, то есть может преобразовывать неконъюгированные эстрогены в сульфатированные формы и, наоборот [84].

Для захвата конъюгированных плодовых и материнских стероидов необходима экспрессия соответствующих транспортных систем. В трофобластах обнаружен белок-транспортер органических анионов. Исследования показали, что сульфатированные стероиды – ДГЭАС, 16 α -ОН-ДГЭАС, а также сульфатированные эстрогены захватываются с его помощью [164, 190].

Под действием стеролсульфатазы в синцитиотрофобласте происходит гидролиз стероидных сульфатированных стероидов (ДГЭАС, 16 α -ОН-ДГЭАС, эстрона сульфат, эстрадиола сульфат и эстриола сульфат) с образованием их неконъюгированных форм [84].

Фермент 3 β -ГСДГ-1 катализирует превращение ДГЭА в андростендион, который далее ароматизируется в эстрон с помощью цитохрома-P45019A1 (ароматазы), который также может превращать тестостерон в E2 [84].

Обратимое превращение 17-кето- и 17 β -гидроксигрупп в андрогены и эстрогены катализируется с помощью 17-кетостероидных редуктаз (гидроксистероиддегидрогеназ). Направление реакции зависит от субстрата. Фермент 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа 1 типа (17 β -ГСДГ-1) определяется в синцитиотрофобласте на четвертой неделе беременности, катализирует НАДФ-зависимое восстановление эстрона до более активного E2. Фермент 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа 2 типа определяется после 12 недели беременности в эндотелиальных клетках плацентарного барьера и проявляет окислительную активность, катализируя превращение E2, тестостерона и дегидротестостерона в их менее активные 17-кетоформы, эстрон, андростендион и 5 α -андростендион [20, 84].

В основном эстриол синтезируется из 16 α -ОН-ДЭАС, но может быть преобразован из эстрона или E2 под действием 16 α -гидроксилазы (цитохром-P4501A1) [84]. Основным эстрогеном является E2. Он способствует

экспрессии липопротеидов низкой плотности и трансплацентарному окислению кортизола, стимулирует рост и дифференцировку клеток трофобласта и образование ворсинок, способствуя nidации бластоцисты, содействует нормальному течению ферментативных процессов в синцитиотрофобласте. E2 стимулирует рост клеток эндотелия в процессе ангиогенеза в ворсинках, участвует в процессах апоптоза и ремоделирования тканей, способствует адекватному развитию внутренних органов плода и протекающим в них обменным процессам, в том числе за счет повышения доступности белка в организме и поддержания положительного азотистого баланса. Кроме того, E2 способен регулировать клеточный цикл, ускорять его за счет повышения активности циклин-зависимых киназ 2 и 4, стимулируя экспрессию циклина D1 и снижая концентрацию ингибиторов, циклин-зависимых киназ. Известно, что эстрогены могут влиять на функции митохондрий, увеличивая окислительное фосфорилирование и снижая продукцию супероксида в митохондриях. Установлено, что E2 влияет на экспрессию митохондриальных белков [21]. Концентрация E2 нарастает со сроком беременности [121].

В отличие от P, который обычно иммуносупрессивен, E2 обладает многогранными дозозависимыми иммуномодулирующими функциями [142]. Вне беременности при нормальных физиологических уровнях E2 проявляет иммуностимулирующее влияние путем стимуляции функции В-клеток и их выживаемости. После зачатия уровень E2 неуклонно повышается по мере прогрессирования беременности, что приводит к смещению баланса материнского иммунитета в сторону Th-2 и способствует иммунной толерантности, предотвращая отторжение плода [159].

Под действием эстрогенов происходят и другие изменения в материнском организме, необходимые для вынашивания беременности. Так, эстрогены способствуют увеличению объема циркулирующей крови за счет стимуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [111], через гипофизарно-гонадную ось действуют на нервную систему матери, изменяя

сердечный ритм, температуру тела, а также сон, реакцию на стресс и поведение беременной [21]. Эстрогены способны нарушать цитотоксичность НК клеток, препятствовать дифференцировке Т-хелперов 17 типа, стимулировать периферическую дифференцировку регуляторных Т-клеток и ингибировать NF- κ B-опосредованную транскрипцию [108, 110, 142].

Влияние на маточно-плацентарный кровоток – одна из наиболее важных функций эстрогенов. Она обеспечивается за счет ряда механизмов. Эстрогены способны оказывать регулирующее влияние на свертывающую систему крови, снижая уровень, как фибриногена, так и антитромбина III и протеина S. Кроме того, они способствуют продукции простациклина, оксида азота и эндотелиального фактора гиперполяризации, являющихся вазодилататорами, и, наоборот, блокируют действие вазоконстрикторов. Самым эффективным гормоном в данном случае является эстриол [21].

Таким образом, в ранние сроки беременности эстрогены способствуют росту и развитию плаценты, улучшают маточно-плацентарный кровоток, стимулируют изменения в материнском организме, направленные на поддержание беременности, влияют на выработку других стероидных и белковых гормонов в плаценте [21, 38].

Имеются данные, свидетельствующие о связи активной герпес-вирусной инфекции с низкими показателями E2 и эстриола в крови беременных женщин [5, 16, 19, 26]. В других работах, при гистологическом исследовании плаценты от женщин, инфицированных вирусами герпеса, выявлено снижение 17 β -гидроксистероиддегидрогеназной активности, что также свидетельствует о подавлении эстрогеногенеза [19, 44]. Следует также отметить и о том, что активная герпес-вирусная инфекция связана с низким уровнем ДГЭАС в сыворотке крови беременных женщин [28].

Подавление эстрогеногенеза может стать одной из причин нарушения маточно-плацентарного ангиогенеза и формирования плаценты. Следует отметить, что для становления оптимального маточно-плацентарно-плодового кровотока необходимо, чтобы более половины массы ворсинок

было представлено кровеносными капиллярами. Как уже говорилось выше, эстрогены принимают непосредственное участие в процессах ангиогенеза, стимулируя ряд факторов, необходимых для запуска морфологической и функциональной дифференцировки тканей плаценты и матки, таких как фактор роста фибробластов, VEGF, инсулиноподобный фактор роста, семейство эпидермальных факторов роста, ангиопоэтины, оксид азота, а также различные интегринны, необходимые для прикрепления клеток [21]. Также показана роль эстрогенов в индукции трансформирующего фактора роста β – представителя многофункциональных цитокинов, которые участвуют в пролиферации, дифференцировке, адгезии, миграции и апоптозе клеток трофобласта [21].

Возвращаясь к вопросу регуляции эстрогенами процессов ангиогенеза и формирования плаценты, необходимо уделить особое внимание таким сосудистым факторам как VEGF и PLGF. VEGF экспрессируется трофобластом и эндотелиальными клетками, связывает рецепторные тирозинкиназы, которые регулируют пролиферацию клеток, миграцию и ангиогенез. Биологическая активность VEGF модулируется растворимой формой его рецептора, который связывает и уменьшает свободные циркулирующие уровни VEGF и PLGF. Под влиянием эстрогенов и физиологической гипоксии в культуре цитотрофобласта значительно увеличивается экспрессия VEGF [151].

Представленные в данном разделе мировые научные данные по состоянию процессов прогестероно-эстрогеногенеза у женщин с физиологической и осложненной вирусными инфекциями беременности показывают необходимость дальнейшего исследования их влияния на морфогенез плаценты и формирование сосудов ворсин, взаимосвязи с локальными иммунными реакциями, что лежит в основе патофизиологических механизмов ранних потерь беременности.

1.4. Ультразвуковые и морфологические маркеры ранних потерь беременности, ассоциированных с вирусной инфекцией

Считается, что нарушения имплантации, плацентации или трансформации кровеносных сосудов приводят к самопроизвольному прерыванию беременности [113]. Активная инфекция может влиять на беременность, затрагивая любой из вышеупомянутых процессов, а также нарушить иммунный баланс, независимо от того, привела ли она к инфицированию плаценты и плода или нет. Одной из ведущих причин преждевременного завершения беременности являются латентно и хронически протекающие инфекционные, особенно вирусные заболевания, в частности ЦМВ инфекция [10, 32, 64].

Самопроизвольное прерывание беременности – одна из важнейших причин перинатальной заболеваемости и смертности [8, 32, 183]. Частота невынашивания в мире составляет, по данным ВОЗ, до 20%, и, несмотря на многочисленные современные методы диагностики и лечения, данный показатель не снижается. В России он составляет до 23% всех зарегистрированных беременностей. Максимальные репродуктивные потери приходятся на первый триместр – 60-85% [8, 10, 13, 61]. При этом до 40% ранних самопроизвольных аборт происходит эмбрионом с нормальным кариотипом [63].

Для снижения частоты самопроизвольного прерывания беременности в ранние сроки необходимо вовремя проводить диагностику угрозы ее прерывания. Высокоинформативным, безопасным, неинвазивным и доступным методом диагностики является ультразвуковое исследование [3, 48, 63]. При этом проводится оценка экстраэмбриональных структур и провизорных органов, а также самого эмбриона. К маркерам угрозы раннего прерывания беременности можно отнести:

1. низкое расположение плодного яйца;

2. локальное повышение тонуса миометрия, приводящее к деформации плодного яйца. Наиболее неблагоприятным является локальное повышение тонуса миометрия под развивающимся ветвистым хорионом, что может стать причиной не только нарушения процессов инвазии трофобласта, но и привести к образованию ретрохориальной гематомы и самопроизвольному прерыванию беременности;

3. ретрохориальную гематому (особенно при ее расположении в области проекции корня пуповины или корпорально расположенную, объемом более 20мл в сочетании с отставанием копчико-теменного размера (КТР) эмбриона на 10 и более дней от нормы);

4. недостаточное увеличение размеров амниотической полости (диаметр менее 10мм в сочетании с непропорционально большой хориальной полостью);

5. уменьшение объемов амниотической и хориальной полостей в сочетании с уменьшением КТР эмбриона и уменьшением частоты сердечных сокращений (ЧСС) эмбриона;

6. гипоплазию хориона, а также отставание утолщения хориона более, чем на 5мм от соответствующего срока гестации;

7. предлежание ветвистого хориона (полное или частичное перекрывание внутреннего зева);

8. отсутствие желтого тела в яичниках или его объем менее 2см³.

Ультразвуковыми признаками внутриутробной инфекции (ВУИ) являются:

1. гипоплазия амниона (размеры амниотической полости менее 10-12 мм) или расслоение амниотической оболочки с определением между ее листками анэхогенной жидкости;

2. гипоплазия хориона, а также его неоднородность, фрагментированность или наличие мелкодисперсной взвеси в хориальной полости;

3. отсутствие желточного мешка при среднем внутреннем диаметре плодного яйца менее 10мм, изменение диаметра желточного мешка (менее 2 или более 5,6 мм при сроке беременности 5-10 недель);
4. выявление амниотических тяжей;
5. определение идентичной эхогенности хориальной, амниотической и полости желточного мешка;
6. отсутствие сердечных сокращений у плода при его КТР более 16 мм или ЧСС менее 100 ударов в минуту после 9 недель беременности [13, 63, 119].

Согласно имеющимся на сегодняшний день данным, специфическими ультразвуковыми маркерами ВУИ плода при первичном инфицировании женщины ЦМВ в период беременности можно считать венрикуломегалию, внутрипеченочные кальцинаты, микроцефалию, «гиперэхогенный» кишечник, плевральный выпот, асцит или анасарку [94, 134, 135, 141]. Но эти исследования касаются более поздних сроков беременности и первичного инфицирования, данных о частоте и характере раннего невынашивания беременности при обострении ЦМВ инфекции на сегодняшний день в литературе нет.

При исследовании тканей хориона чаще всего ЦМВ определялся в трофобластическом эпителии и стромальных клетках ворсин, что говорит о проникновении возбудителя за плацентарный барьер, и может привести к внутриутробному инфицированию плода [35, 49, 52].

Плацента – провизорный орган, формирующийся в процессе эмбриогенеза, роста и развития плода и заканчивающий свое существования лишь к концу родов. С помощью плаценты происходит дыхание и питание плода, транспортировка продуктов обмена, в плаценте осуществляется синтез белков и гормонов. Между материнским организмом и плодом образуется система со сложными взаимоотношениями - мать-плацента-плод [41, 59, 192].

Очевидно, что ЦМВ оказывает влияние на функции плаценты, способствует развитию виллузита, дицидуита и ишемии тканей, ведет к развитию гипоксического состояния, что приводит к неблагоприятным исходам для плода и может стать причиной задержки внутриутробного роста плода и мертворождения [99, 125].

На ранних сроках беременности формируется эмбриотроф – небольшие лакуны, заполненные кровью и тканевой жидкостью, необходимые для питания зародыша. Было обнаружено, что при обострении ЦМВ инфекции на ранних сроках беременности происходит неполная трансформация эндометрия и спиральных артерий, вследствие чего лакуны эмбриотрофа располагаются на большом расстоянии друг от друга, поступление крови в них недостаточное, а это приводит к нарушению питания и гипоксии зародыша, что, свою очередь, может стать причиной его гибели и прерывания беременности [39, 40].

По данным авторов, обследовавших женщин с активной ЦМВ инфекцией в 9-14 недель беременности, у 64% исследуемых развилась хроническая плацентарная недостаточность, в том числе первичная у 20%, что авторы связывают с воздействием вируса на процесс формирования трофобласта в ранние сроки беременности [9].

Наиболее важные процессы, необходимые для полноценного функционирования плаценты, – это васкулогенез, ангиогенез и апоптоз. Они определяют последующее полноценное функционирование системы мать-плацента-плод. Морфогенез плаценты начинается с 12-14 суток после оплодотворения с появления первичных трофобластических ворсин, которые впоследствии переходят во вторичные, имеющие мезенхимальную основу и третичные, содержащие сосуды, и заканчивается к концу первого триместра беременности [47, 51]. Первый этап плацентации приходится на 4-5 недели гестации. Начинает формироваться гладкий и ворсинчатый хорион, в мезенхимальной строме из несосудистых гемопоэтических клеток формируются первичные капилляры, в которых циркулируют эритробласты.

Затем, на 6-7 неделе начинается рост и интенсивное ветвление ворсин за счет роста сети капилляров, формируется циркуляция между плацентой и эмбрионом. Далее, на 8-10 неделях беременности, начинает функционировать гемохориальный обмен [47, 75, 127].

В ворсинах хориона находятся клетки Кащенко-Гофбауэра – гетерогенная популяция фетальных макрофагов. Эти клетки можно обнаружить в соединительнотканном матриксе плаценты уже через 4 недели после зачатия, и они присутствуют на протяжении всей беременности. Клетки Кащенко-Гофбауэра участвуют в широком спектре функций, важных для успешной беременности, включая морфогенез плаценты, иммунную регуляцию, контроль содержания стромальной жидкости и перенос ионов и сывороточных белков через трансплацентарный барьер. Нарушения гомеостаза клеток Кащенко-Гофбауэра связано с патологией плаценты, включая инфекцию, воспаление и недостаточное развитие плаценты [162].

При исследовании плацент, полученных при самопроизвольном прерывании беременности в ранние сроки на фоне хронической герпетической и/или ЦМВ инфекции, в цитотрофобласте, ворсинах хориона и децидуальной ткани в 50% случаев обнаруживалась лейкоцитарная, макрофагальная и плазмоцитарная инфильтрация. Кроме того, в ворсинах определялось увеличенное количество клеток Кащенко-Гофбауэра, а в межворсинчатом пространстве - отложение фибриноида с частичным замуровыванием ворсин. В 20% случаев определялся некроз части ворсин и некротические очаги в децидуальной ткани, нейтрофильные скопления в межворсинчатом пространстве, и диффузная нейтрофильная инфильтрация в плодных оболочках. При этом степень дифференцировки ворсин соответствовала сроку беременности [5, 43, 52].

При гистологическом исследовании плацент, полученных от инфицированных ЦМВ плодов, обнаруживается плацентарный виллузит, проявляющийся наличием лимфогистиоцитарных инфильтратов,

оказывающих в различной степени влияние на плацентарное ворсинчатое дерево [82, 131].

При обострении ЦМВ инфекции при сроке гестации 5-6 недель обнаруживалось нарушение дифференцировки клеток трофобласта и мезенхимы, а также уменьшение кровоснабжения со стороны артерий матки, что являлось причиной недостаточности первой волны инвазии трофобласта. Кроме того, выявлена задержка процесса формирования эмбриотрофа, а, следовательно, нарушение образования вторичных ворсинок [5].

Таким образом, характерные ультразвуковые признаки угрозы раннего прерывания беременности при ЦМВ инфекции на сегодняшний день остаются не определены. Роль инфекции в развитии хронической плацентарной недостаточности и последующее неблагоприятное влияние на внутриутробное состояние плода, проявляющееся в виде гипоксии и задержки внутриутробного роста плода, не вызывает сомнений. Однако причины нарушения формирования плаценты при ЦМВ инфекции остаются недостаточно изученными.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика базы и объект исследования

Диссертационное исследование выполнено в период с 2016 по 2019 годы в лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (г. Благовещенск) (заведующий лабораторией – И.А. Андриевская, д.б.н., профессор РАН).

Клинической базой для исследования было гинекологическое отделение Государственное автономное учреждение здравоохранения Амурской области «Благовещенская городская клиническая больница» (г. Благовещенск).

Вся работа проводилась с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных исследований с участием человека в качестве субъекта» с поправками 2013 г. и правилам клинической практики в РФ, утвержденными приказом Министерства РФ № 200н от 1 апреля 2016 года. Работа одобрена комитетом по биомедицинской этике при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (Протокол № 114-Д, 22.11.2016 г.). От каждой пациентки получено добровольное информированное согласие на обследование и лечение, оформлена специально разработанная карта, в которую вносились данные анамнеза и результаты проведенного обследования.

Для достижения поставленной цели и решения задач было проведено проспективное исследование по типу «случай-контроль». Объектом исследования являлись 192 беременные женщины в первом триместре

беременности (6-12 недель), обследование которых позволило выделить следующие клинические группы.

Первую группу составили ЦМВ-серопозитивные женщины – 165 случаев (основная группа), вторую – ЦМВ-серонегативные женщины – 27 случаев (контрольная группа). На втором этапе исследования женщины основной группы были разделены на две подгруппы. Первая подгруппа – женщины с активной ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности – 42 случая.

Клинический диагноз активной ЦМВ инфекции устанавливался при комплексном исследовании периферической крови на наличие типоспецифических Ig классов М и G, индекса avidности Ig G более 65%, а также выявлении ДНК ЦМВ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови, моче, буккальном эпителии и слизистой шейки матки. Активная ЦМВ инфекция у обследуемых женщин первой подгруппы клинически проявлялось симптомами острой респираторной вирусной инфекции (слабость, недомогание, заложенность носа, слизистое отделяемое из носа, повышение температуры тела до субфебрильных цифр).

Вторую подгруппу составили беременные женщины в первом триместре с латентным течением ЦМВ инфекции: отсутствие прямых маркеров репликации ЦМВ, низкие титры Ig G по данным серологического исследования, индекс avidности Ig G более 65% – 123 случая.

Критериями включения в основную группу были:

1. Хроническая ЦМВ инфекция (активное или латентное ее течение).
2. Стойкая клиническая ремиссия герпес-вирусной инфекции в первом триместре беременности.
3. Самопроизвольное прерывание беременности или медицинский аборт при сроке беременности 6-12 недель.
4. Наличие информированного согласия на исследование.

Критериями включения в контрольную группу были:

1. Отсутствие ЦМВ инфекции.
2. Стойкая клиническая ремиссия герпес-вирусной инфекции в первом триместре беременности.
3. Медицинский аборт при сроке беременности 6-12 недель.
4. Наличие информированного согласия на исследование.

Критерии исключения:

1. Первичная ЦМВ инфекция.
2. Обострение других воспалительных экстрагенитальных заболеваний.
3. Наличие инфекций, передающихся половым путем.
4. Возраст женщины старше 27 лет.
5. Аномалии развития половых органов.
6. Наличие гормональной поддержки гестагенами.
7. Гестационный сахарный диабет (O24.4).

Все исследуемые женщины были жительницами г. Благовещенска и были отобраны по типу «копия-пара», то есть сопоставимы по возрасту, индексу массы тела (ИМТ) и социальному статусу.

Средний возраст беременных в основной группе составил $23,3 \pm 2,3$ года, в контрольной – $23,1 \pm 2,1$ года, в подгруппах статистически значимых различий не было ($p > 0,05$).

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

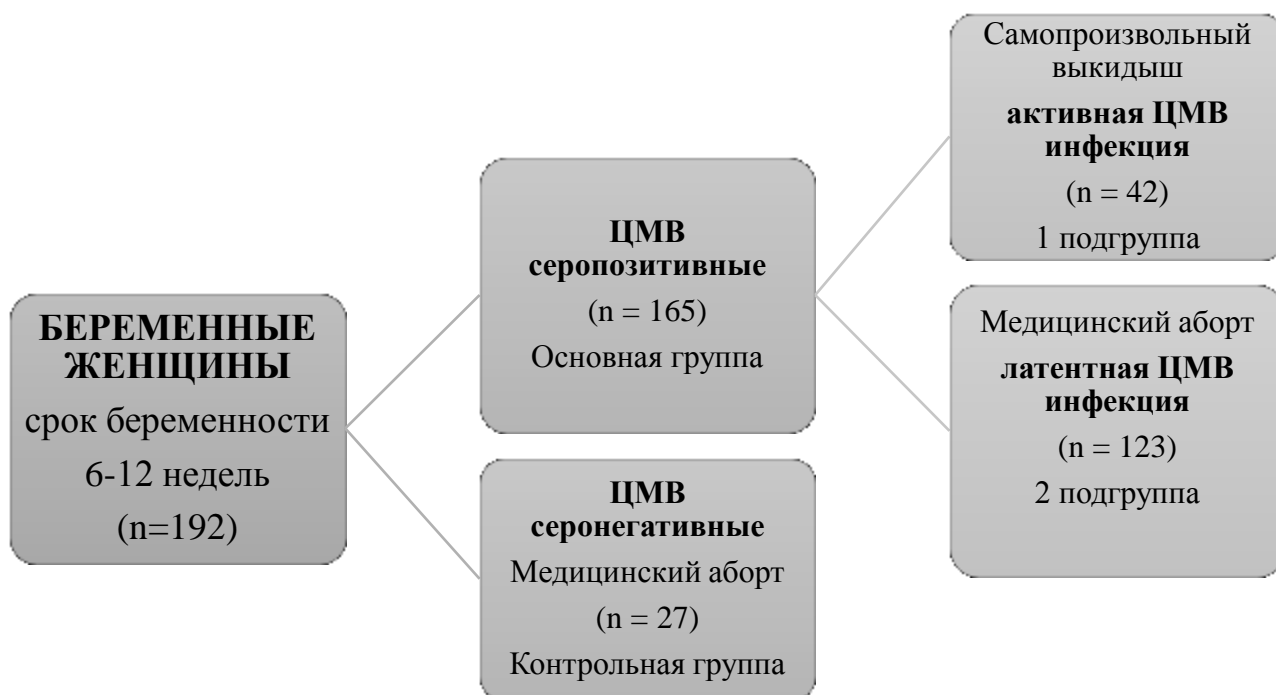


Рисунок 1. Дизайн исследования.

ИМТ у 7 (4,2%) беременных женщин основной группы соответствовал ожирению и у 19 (11,5%) избыточной массе тела, в контрольной группе – у 1 (3,7%) и 3 (11,1%) соответственно. В подгруппах статистически значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$).

Структура соматических заболеваний у беременных женщин в исследуемых подгруппах представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Структура соматической патологии у исследуемых беременных

Соматическая патология	Код МКБ-10	1 подгруппа (n=42)		2 подгруппа (n=123)		Контрольная группа (n=27)		p_1	p_2
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%		
Хронический тонзиллит	J 35.0	7	16,6	22	17,9	4	14,8	0,896	0,920
Хронический гастрит	K 29.5	6	14,3	21	17,1	5	18,5	0,896	0,920
Хронический пиелонефрит	N 11	3	7,1	7	5,7	1	3,7	0,946	0,955
Пролапс митрального клапана	I 34.1	6	14,3	12	12,2	4	14,8	0,773	0,670
Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией и контрольной группы; p_2 – значимость различий при сравнении беременных женщин с латентным течением ЦМВ инфекции и контрольной группы.									

Значимых различий в соматической патологии между обследуемыми не было.

Курили в первой подгруппе 3 женщины (7,1%), во второй – 10 (8,1%) и в группе контроля 2 женщины (7,4%). Средний возраст наступления менархе у женщин основной группы составил $11,9 \pm 0,9$ года, в группе контроля – $11,7 \pm 0,9$ года, по подгруппам достоверных различий не было выявлено ($p=0,810$). Все исследуемые женщины имели регулярный менструальный цикл в анамнезе.

Общее число беременностей и родов в анамнезе у женщин в исследуемых группах представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Общее число беременностей и родов у исследуемых женщин

Число беременностей и родов	1 подгруппа (n=42)		2 подгруппа (n=123)		Контрольная группа (n=27)		p_1	p_2
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%		
Первая беременность	22	52,4	51	41,5	13	48,1	0,732	0,525
Вторая и более беременность	20	47,6	71	57,7	14	51,9	0,732	0,578
Роды в срок в анамнезе	14	33,3	40	32,5	11	40,7	0,533	0,415
Кесарево сечение в анамнезе	4	9,5	9	7,3	3	11,1	0,846	0,790
Медицинский аборт в анамнезе	12	28,6	35	28,5	4	14,8	0,304	0,144
Внематочная беременность в анамнезе	2	4,8	6	4,9	1	3,7	0,694	0,809

Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией и контрольной группы; p_2 – значимость различий при сравнении беременных женщин с латентным течением ЦМВ инфекции и контрольной группы.

Преждевременных родов, осложнений после родов, оперативного родоразрешения в анамнезе у исследуемых женщин не было.

У всех исследуемых женщин настоящая беременность наступила спонтанно, без предгравидарной подготовки.

Таким образом, все беременные в исследуемых группах были сопоставимы по большинству анамнестических данных.

2.2. Методы исследования

2.2.1. Стандартные общеклинические методы обследования

1. При сборе анамнеза внимание уделялось наследственной предрасположенности к артериальной гипертензии, сахарному диабету, сведениям о приеме лекарственных препаратов. Выясняли перенесенные в детстве инфекционные заболевания и сопутствующую соматическую патологию, возраст наступления менархе и характер его становления, нарушения менструального цикла, перенесенные гинекологические заболевания, объем лечения и реабилитации, хирургические вмешательства. Изучали акушерский анамнез: паритет родов, сведения о каждой из предшествующих беременностей – исход для матери и плода, течение родов, послеродового периода, оперативные вмешательства.

2. Жалобы (клинические проявления ЦМВ инфекции).

3. Общее физикальное обследование органов дыхания, кровообращения, пищеварения, мочевыводящей системы. Определяли тип телосложения, вес, рост, индекс массы тела, оценивали состояние кожного покрова и видимых слизистых оболочек, проводили стандартный онкоосмотр. Для оценки степени ожирения вычислялся ИМТ по формуле (А.Кетле, 1869): $I=m/h^2$, где m – масса тела в килограммах, h – рост в метрах. Показатели ИМТ интерпретировали в соответствии с рекомендациями ВОЗ (2018), где ИМТ 25-30 – избыточный вес, >30 – ожирение.

4. Осмотр акушером-гинекологом. Включал измерение размеров таза, осмотр и пальпацию молочных желез, осмотр наружных половых органов, оценку состояния слизистой оболочки влагалища, шейки матки, наличие рубцовых, трофических изменений, высыпаний и язвенных поражений, качественную и количественную характеристику выделений, бимануальное исследование (при отсутствии противопоказаний), забор

мазков на морфологическое и цитологическое исследование, бактериологический посев из цервикального канала.

5. Клинико-лабораторное обследование: определение группы крови и резус-принадлежности, клинический и биохимический анализ крови, анализ крови на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), HBs-антиген, антитела к вирусу гепатита С, определение антител к бледной трепонеме (*Treponema pallidum*) в крови, коагулограмма, общий анализ мочи, иммунный статус и гормональный профиль крови, бактериоскопическое и бактериологическое исследование отделяемого из цервикального канала, шейки матки и влагалища, ПЦР – диагностика инфекций, передающихся половым путем, на наличие ДНК вируса простого герпеса (ВПГ) - 1,2 типа и ЦМВ, хламидий, уреоплазм, микоплазм.

6. Ультразвуковое исследование органов малого таза.

7. Консультация узких специалистов (терапевт, оториноларинголог, окулист, стоматолог и врачи других специальностей по показаниям).

Обследование беременных женщин было проведено в соответствии с действовавшим на тот момент времени приказом №572н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)», утвержденным Министерством здравоохранения Российской Федерации 01.11.2012г.

2.2.2. Лабораторные методы исследования

Образцы крови у беременных женщин были взяты в момент госпитализации методом венепункции в пробирки, содержащие цитрат натрия. Плазму крови получали центрифугированием в течение 20 минут при 1000g.

Получение проб мочи проводили центрифугированием в течение 10 минут при 1000g с последующим ресуспендированием осадка в стерильной

среде (0,218 М сахара (Reachem, Россия), 0,0038 М KH_2PO_4 (Reachem, Россия), 0,0072 М K_2HPO_4 (Reachem, Россия), 1 % бычий сывороточный альбумин (Sigma, Япония)).

Забор буккального эпителия проводили стерильными зондами (Zhenjiang Gongdong Medical Technology Co. Ltd., Китай), после чего помещали в транспортную среду (стерильный раствор хлорида натрия 0,9%) и хранили в холодильнике, при температуре $+2^\circ\text{C}$ - $+5^\circ\text{C}$ не более 7 дней. Забор содержимого цервикального канала проводился с помощью стерильных урогенитальных зондов (Unicorn Med., Китай) с последующим внесением в пробирку с транспортной средой (стерильный раствор хлорида натрия 0,9%). Хранили в холодильнике при температуре $+2^\circ\text{C}$ - $+5^\circ\text{C}$ не более 7 дней.

Образцы ворсинчатого хориона забирались в течение 10-15 минут после медицинского аборта и перед использованием промывали в стерильном физиологическом растворе. Для выделения ДНК, предварительно взвешенные кусочки ворсинчатого хориона помещали в жидкий азот, растирали их в порошок в ступке в жидком азоте, добавляли равный объем стерильного физиологического раствора, тщательно перемешивали и отбирали необходимый объем материала для дальнейшего анализа.

Экстракт ткани получали центрифугированием гомогената в течение 15 минут при 3000g и температуре $+4^\circ\text{C}$, полученного описанным выше способом.

Все образцы биологического материала подвергались заморозке при -70°C до проведения анализов.

Иммуноферментный анализ (ИФА) использовали для определения в сыворотке крови:

1. Типоспецифических антител (иммуноглобулины, Ig) класса М и G к ЦМВ и ВПГ-1,2 в парных сыворотках с помощью наборов «ЦМВ-IgM-стрип», «ЦМВ-Ig G-стрип», «ВПГ-1,2-IgM-стрип» и «ВПГ-1,2-Ig Gстрип»

(ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя;

2. Индекса авидности Ig G к ЦМВ и ВПГ-1,2 с использованием наборов «ВектоЦМВ-Ig G-авидность» и «ВектоВПГ-1,2-Ig G-авидность» (ЗАО «ВекторБест», г. Новосибирск) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя;

3. Р и E2 в сыворотке периферической крови и экстракте ворсинчатого хориона с помощью наборов «Стероид-ИФА-прогестерон», (ООО «Алкор Био», г. Санкт-Петербург), «Стероид-ИФА-эстрадол», (ООО «Алкор Био», г. Санкт-Петербург) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

4. Растворимых рецепторов прогестерона (PR) и эстрогена альфа (ER α) в экстрактах ворсинчатого хориона с помощью наборов «Cloud-Clone Corporation» (США) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

5. Растворимых рецепторов фактора некроза опухоли (sTNF-R1) в сыворотке периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона с помощью наборов «Human sTNF-R1 (60kDa) ELISA» («Bender Medsystems», Австрия) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

6. Транскрипционного ядерного фактора NF-kB в сыворотке периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона с помощью наборов «Саупан» (США) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

7. TNF α в сыворотке периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона с помощью набора «ИФА-TNF-alfa» (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург) согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

Принцип, лежащий в основе данных тест-систем, заключается в том, что антитела, специфичные к определяемым иммуноглобулинам, цитокинам,

гормонам и растворимым рецепторам, сорбированы в лунках планшета. При добавлении контрольных образцов сыворотки крови или экстракта ворсинчатого хориона происходит связывание с антителами в ячейках планшета с образованием ферментного комплекса. Несвязанные материалы удаляются при отмывке, после которой добавляется субстратный раствор, взаимодействующий с ферментным комплексом с образованием окрашенного раствора.

Регистрацию результатов ИФА проводили на аппарате ридер «StatFax 2100» (США) при длине волны 450 нм, длина сравнения 620 нм. Интенсивность окраски, измеренная при указанной длине волны, была прямо пропорциональна содержанию концентрации определяемых антител, иммуноглобулинов, цитокинов, гормонов и растворимых рецепторов в образцах.

Молекулярно-биологический метод исследования (ПЦР в режиме реального времени). Для постановки ПЦР в режиме реального времени использовали «Комплект реагентов для выделения ДНК» и «Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК ЦМВ и ВПГ-1,2» (ООО «НПО ДНК-технология», г.Москва) согласно рекомендациям фирмы-производителя.

Реакционная смесь содержала смесь для амплификации, запечатанная в парафине (20 мкл.), Tag-полимеразу (10 мкл.), минеральное масло (10 мкл.), образец препарата ДНК (5 мкл.).

Учет результатов осуществляли на приборе ДТ-96 (ООО «НПО ДНК-технология», г. Москва), позволяющий анализировать образцы ДНК в динамическом диапазоне от 1 до 10^9 копий с одновременной детекцией по четырем флуоресцентным красителям (FAM/SYBRGreen, ROX, R6G, CY5) с заданной программой (95°C – 20 сек., 62°C – 40 сек.). Все исследования проводились в соответствии с инструкциями к прибору.

Гистохимический метод исследования использовался для выявления 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе по методу З. Лойда (1982) в модификации М.Т. Луценко [29]. Субстратом для выявления являлись 0,1М

растворы прегненолона («Sigma», США) и эстрогена («Sigma», США). В качестве акцептора для определения локализации энзима применялась соль тетразолия фирмы «ICN Biomedicals» (США) в конечной концентрации 5мМ. Как кофактор использовали НАДФ («Sigma», США) в конечной концентрации 1мМ. Инкубационный раствор готовился на основе 0,1М фосфатного буфера рН 7,4. Инкубация проводилась в течение 30 минут при 37° С. По окончании инкубации срезы промывали дистиллированной водой, фиксировали в 10% нейтральном формалине и заключали в глицерин-желатин. Для исключения участия других факторов в восстановлении тетразолиевой соли проводили контрольные опыты. Количество образующихся продуктов реакции проводили на программе компьютерной цитофотометрии путем подсчета методом измерения на стандартную единицу площади 0,01 (зонд) в 100 различных точках объекта (пиксель/мкм²).

Морфологическое исследование. Для микроскопического исследования забор и фиксация ткани ворсинчатого хориона проводились не позднее одного часа после получения материала. Фиксация осуществлялась в 10% растворе нейтрального формалина, изготовление блоков – по методике заливки материала в парафин. Из полученных блоков на микротоме изготавливали срезы 5-10 мкм, которые после депарафинизации окрашивали по Ван Гизону.

Для получения полутонких срезов кусочки ворсинчатого хориона фиксировали в 2,5% глютаровом альдегиде на 0,1М фосфатном буфере по методике J.J. Coalson, V.T. Vinteret et. al. (1986). После дофиксации в 1% растворе четырехокси осмия на 0,1М растворе фосфатного буфера материал обезвоживали в спиртах восходящей концентрации – 50%, 60%, 70%, затем контрастировали в уранилацетате на 70% спирте, обезвоживали в 96% спирте, в двух сменах абсолютного спирта и ацетоне по 10 минут. Заливка в блоки и полимеризация проводились в течение 72 часов при температуре +60° С.

Полутонкие срезы получали на ультрамикротоме LKB NOWA 8800 (Швеция). Полутонкие срезы окрашивались толуидиновым синим.

Микроскопирование и фотографирование микропрепаратов препаратов осуществляли на цифровом микроскопе «МЕИИ» (Япония).

2.2.3. Функциональные методы исследования

Всем беременным проводили эхографическое исследование на ультразвуковом аппарате «Philips HD 11 XE» (Нидерланды) с использованием трансвагинального датчика частотой 3-7 МГц и/или трансабдоминального датчика частотой 3-8 МГц. Определяли локализацию плодного яйца, проводили оценку его строения, размеров и роста, размеры хориальной и амниотической полостей, а также размеры, форму и эхогенность желточного мешка, оценивали толщину, структуру и эхогенность хориона, наличие ретрохориальной гематомы, исследовали структуру миометрия на наличие участков утолщения (гипертонуса).

2.3. Статистическая обработка полученных результатов

При статистическом анализе данных применяли программу Statistica 10.0 (Statsoft Inc., США) с соблюдением общих рекомендаций для медицинских и биологических исследований (правообладатель лицензии – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания»).

Непрерывные величины представлены как средние и стандартные отклонения в формате $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, при соответствии нормальному закону распределения. Категориальные данные представлены в виде долей, частот и процентов.

С целью проверки равенства средних значений в двух выборках использовали t-критерий Стьюдента. Для оценки равенства дисперсий между независимыми выборками применяли критерий Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Анализ различия частот в двух независимых исследуемых группах проводился с помощью критерия χ^2 Пирсона, при значении абсолютных частот в таблицах сопряженности меньше 10, использовался критерий с поправкой χ^2 Йейтса. Анализ относительных рисков (ОР) проводился с помощью четырехпольных таблиц сопряженности с 95% доверительным интервалом (ДИ). Показатель ОР сравнивался с 1 для определения характера связи фактора и исхода: ОР =1 – исследуемый фактор не влияет на вероятность исхода (отсутствие связи между фактором и исходом); ОР >1 – фактор повышает частоту исходов (прямая связь); ОР <1 – фактор снижает вероятность исхода (обратная связь). Подсчет 95% ДИ для частот и долей производился онлайн-калькулятором, предложенным порталом Vassar Stats: Web Site for Statistical Computation (<http://vassarstats.net/>). В случае если оба значения – и нижней, и верхней границ ДИ – находились по одну сторону от 1, не включая 1, то делался вывод о статистической значимости выявленной связи между фактором и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$. Если нижняя граница 95% ДИ меньше 1, а верхняя – больше, то делался вывод об отсутствии статистической значимости влияния фактора на частоту исхода независимо от величины показателя ОР ($p > 0,05$).

Подсчет 95% ДИ для среднего значения осуществлялся по следующей формуле: $95\%CI_{mean} = M \pm t \times m$, где M – среднее значение; t – значение критерия Стьюдента, соответствующее выбранному уровню статистической значимости и числу степеней свободы; m – стандартная ошибка среднего значения (число степеней свободы равно $n-1$, где n – это число объектов исследования в выборке).

Анализ внутригрупповой взаимосвязи признаков проводился методом корреляционного анализа Пирсона. Линейный коэффициент корреляции (r)

оценивали: $r = 1$ – зависимость очень сильная; $r > 0,7$ – высокая зависимость; $r > (0,4-0,7)$ – средняя зависимость; $r > (0,05-0,4)$ – слабая зависимость; $r < 0,05$ – зависимость отсутствует. Различия во всех случаях оценивали, как статистически значимые при $p < 0,05$. Оценку корреляционной зависимости проводили с помощью построения корреляционной сети с помощью программы Cytoscape 3.7.2 (США) и приложения к программе Metscape 3.1.3.

Дискриминантный анализ (многофакторный математический анализ с выявлением наиболее весомых показателей, ранга их информативности по F-критерию Фишера и веса каждого показателя) проводился с использованием методов математического моделирования и описательной статистики для получения дискриминантных уравнений.

ГЛАВА 3. ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

3.1. Показатели специфического к ЦМВ иммунного ответа и основных медиаторов воспалительного ответа (NF- κ B, TNF α , sTNF-R1) в периферической крови и в плаценте при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности

Анализ содержания в периферической крови беременных женщин с активной инфекцией (1 подгруппа) маркеров специфического иммунного ответа к ЦМВ показал наличие антител иммуноглобулинов (Ig) класса М с уровнем $2,15 \pm 0,37$, титра антител Ig G в интервале от 1:1600 до 1:3200, индекса авидности – $91,20 \pm 1,31\%$. В ходе ПЦР-анализа у 33% беременных женщин данной подгруппы выявлена ДНК ЦМВ в содержимом цервикального канала, что указывало на возможность вертикальной передачи вируса, увеличивающей риск инфицирования эмбрио-хориальной области. В остальных случаях (67%) ДНК ЦМВ выявлена в образцах мочи, что свидетельствовало о гематогенном пути инфицирования маточно-хориальной области. Исследование проб плацентарного материала, полученного при инструментальной ревизии полости матки после самопроизвольного аборта у этих беременных женщин, подтвердило наличие ДНК ЦМВ во всех случаях хориального материала, что согласуется с вышеизложенным доводом.

У беременных женщин с латентным течением ЦМВ инфекции (2 подгруппа) в крови выявлялись только антитела Ig G к ЦМВ с титром 1:400-1:800, что значительно меньше, чем в первой подгруппе ($p < 0,001$), и индекс авидности – $98,10 \pm 1,16\%$, что выше, чем в первой подгруппе ($p < 0,05$). ДНК ЦМВ выявлялся в соскобе с буккального эпителия у 21 беременной женщины (17%), что также указывало на наличие хронической инфекции. В

пробах плацентарного материала, полученных при добровольном прерывании беременности, ДНК ЦМВ выявлено не было.

Дальнейшие исследования, проведенные по оценке формирования TNF-зависимого воспалительного ответа в подгруппах беременных женщин с различным течением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности, показали наличие следующих закономерностей (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели TNF α , sTNF-R1и NF-kB в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M \pm SD$

Показатели	1 подгруппа	2 подгруппа	Контрольная группа
Размер выборки	42	123	27
Периферическая кровь			
TNF- α , пг/мл	109,66 \pm 3,35 $p_1 < 0,001$	37,29 \pm 1,27 $p_2 < 0,001$	20,56 \pm 1,24
sTNF-R1, нг/мл	2,53 \pm 0,23 $p_1 > 0,05$	2,34 \pm 0,29 $p_2 > 0,05$	2,07 \pm 0,38
NF-kB, пг/мл	12,45 \pm 1,44 $p_1 < 0,001$	7,16 \pm 0,78 $p_2 > 0,05$	5,55 \pm 0,96
Экстракт ворсинчатого хориона			
TNF- α , пг/мл	123,78 \pm 3,12 $p_1 < 0,001$	40,31 \pm 1,11 $p_2 < 0,001$	22,56 \pm 0,98
sTNF-R1, нг/мл	7,27 \pm 0,18 $p_1 < 0,001$	2,89 \pm 0,41 $p_2 > 0,05$	2,73 \pm 0,23
NF-kB, пг/мл	15,91 \pm 2,03 $p_1 < 0,001$	8,38 \pm 0,89 $p_2 > 0,05$	7,07 \pm 0,73
Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией с контрольной группой; p_2 – значимость различий при сравнении женщин с латентным течением ЦМВ инфекции с контрольной группой.			

В 1 подгруппе отмечались достоверно более высокие показатели транскрипционного фактора NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в периферической крови беременных женщин, соответственно в 2,66 раза ($p < 0,001$) и в 2,24 раза ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Показатели TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона также были выше, чем в периферической крови относительно аналогичных значений контрольной группы соответственно в 5,49 раза ($p < 0,001$) и 5,33 раза ($p < 0,001$). Показатели растворимого рецептора sTNF-R1 были достоверно выше в 2,66 раза ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. В периферической крови показатели sTNF-R1 статистически значимо не изменялись ($p > 0,05$).

Во 2 подгруппе достоверно выше контрольной группы были показатели TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона соответственно в 1,8 раза ($p < 0,001$) и в 1,7 раза ($p < 0,001$). Показатели NF-kB и sTNF-R1 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона статистически значимо не изменялись ($p > 0,05$ соответственно).

Для подтверждения наличия взаимосвязей между показателями специфического иммунного ответа к ЦМВ и медиаторами TNF-зависимого воспалительного ответа, регулируемого NF-kB и sTNF-R1, был проведен корреляционный анализ (рисунок 2-3). В 1 подгруппе выявлена высокая прямая корреляционная зависимость (рисунок 2):

- между показателями TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,83, p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,80, p < 0,01$), показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,80, p < 0,01$);

- между показателями TNF α и NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,90, p < 0,01$), показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,82, p < 0,01$);

- между показателями уровня антител Ig M к ЦМВ и NF-kB в периферической крови ($r = 0,83, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,86, p < 0,01$).

- между показателями TNF α и sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,75, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,83, p < 0,01$);

- между показателями sTNF-R1 и NF-kB в периферической крови ($r = 0,83, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,90, p < 0,01$).

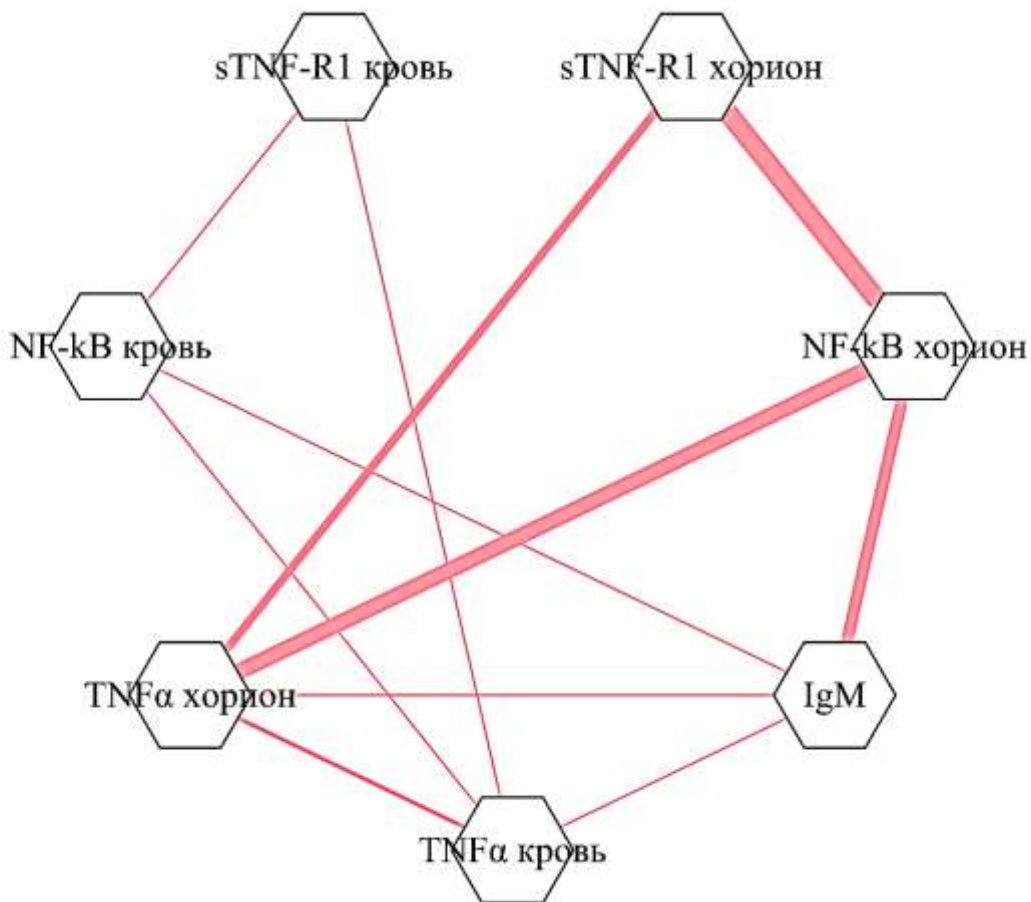


Рисунок 2. Графическое изображение высокой прямой (с установленным порогом $r > 0,7$) корреляционной связи между показателями TNF- α , sTNF-R1 и NF-kB в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Во 2 подгруппе выявлена высокая прямая корреляционная зависимость (рисунок 3):

- между показателями TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,71, p < 0,01$).

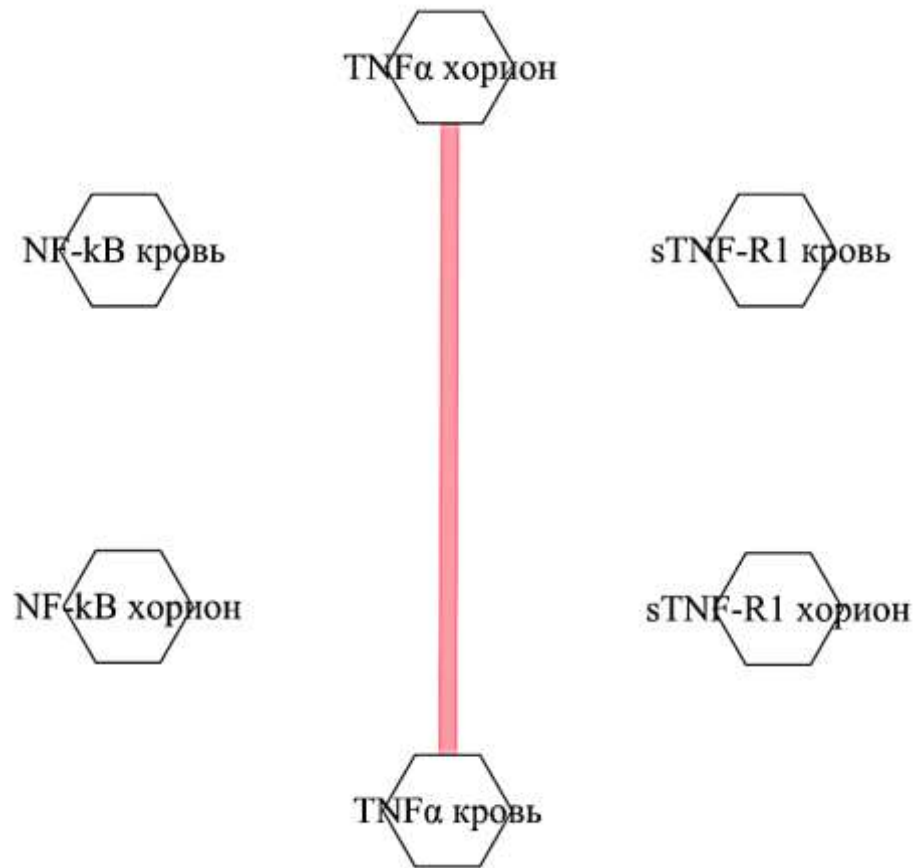


Рисунок 3. Графическое изображение высокой прямой корреляционной связи (с установленным порогом $r > 0,7$) между показателями TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Таким образом, полученные в ходе исследования результаты свидетельствуют о том, что реактивация ЦМВ инфекции, в отличие от ее латентной формы, вызывает усиление локального воспалительного ответа через активацию сигнального NF-kB пути, стимулирующего продукцию

TNF α и sTNF-R1, что может быть причиной нарушения обменной и гормонообразовательной функции плаценты на этапе ее формирования в первом триместре беременности.

3.2. Содержание прогестерона, эстрадиола и их рецепторов в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона при различном течении ЦМВ инфекции

Следующим этапом наших исследований было выявление особенностей изменения показателей P, E2 и их рецепторов (PR, ER α) в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и поиска взаимосвязей с параметрами специфического иммунного ответа к ЦМВ и маркерами воспалительного ответа.

В таблице 4 приведены показатели P, E2, PR и ER α в периферической крови и экстрактах ворсинчатого хориона в 1 и 2 подгруппах беременных женщин, соответственно с активной и латентной ЦМВ инфекцией, в первом триместре беременности.

Таблица 4 – Показатели прогестерона, эстрадиола и их рецепторов в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M \pm SD$

Показатели	1 подгруппа	p_1	2 подгруппа	p_2	Контроль ная группа
Размер выборки	42		123		27
Периферическая кровь					
P, нмоль/л	57,27±3,65	<0,001	64,29±2,18	<0,001	78,39±2,25
E2, пг/мл	6,75±1,05	<0,05	8,09±0,94	>0,05	9,72±0,82
Экстракт ворсинчатого хориона					
P, нмоль/л	48,13±1,04	<0,001	60,99±1,75	<0,001	72,85±2,06
PR, нг/мл	9,86±1,20	<0,001	16,67±1,02	>0,05	18,59±1,10
E2, пг/мл	5,38±0,65	<0,001	7,18±0,77	>0,05	8,66±0,76
ER α , нг/мл	14,46±0,94	<0,05	17,85±1,99	>0,05	20,37±1,79
Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией и контрольной группой; p_2 – значимость различий при сравнении женщин с латентным течением ЦМВ инфекции и контрольной группой.					

Сравнительный анализ показателей P в 1 подгруппе позволил выявить однонаправленное уменьшение уровня гормона в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,5 раза ($p < 0,001$) соответственно, содержание рецептора PR в экстрактах ворсинчатого хориона уменьшалось в 1,9 раза ($p < 0,001$) относительно контрольной группы. Во 2 подгруппе показатели P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона уменьшались относительно контрольной группы в 1,2 раза ($p < 0,001$) соответственно. Показатели PR в экстрактах ворсинчатого хориона значимо не отличались от аналогичных значений контрольной группы ($p > 0,05$).

При анализе содержания E2 в 1 подгруппе выявлены более низкие его показатели в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в периферической крови, относительно аналогичных значений контрольной группы в 1,6 раза ($p < 0,001$) и в 1,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. Показатели рецептора ER α в экстрактах ворсинчатого хориона уменьшались в 1,4 раза ($p < 0,05$) относительно контрольной группы. Во 2 подгруппе значимых изменений в показателях E2 и ER α относительно аналогичных значений контрольной группы выявлено не было ($p > 0,05$).

Поиск корреляционных взаимосвязей между показателями специфического иммунного ответа к ЦМВ, маркерами воспаления и гормональных нарушений в исследуемых подгруппах показал наличие следующих закономерностей (рисунок 4-7).

В 1 подгруппе выявлена высокая прямая корреляционная зависимость (рисунок 4):

- между показателями P и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,75$, $p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,72$, $p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,78$, $p < 0,01$);

- между показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона и E2 в периферической крови ($r = 0,77$, $p < 0,01$), показателями E2 ($r = 0,79$, $p < 0,01$) и ER α ($r = 0,82$, $p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона;

- между показателями E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,74$, $p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,77$, $p < 0,01$);

- между показателями E2 и ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79$, $p < 0,01$).

Высокая обратная корреляционная зависимость выявлена:

- между показателями TNF α в периферической крови и P в периферической крови ($r = -0,74$, $p < 0,01$), показателями E2 ($r = -0,81$, $p < 0,01$) в периферической крови;

- между показателями TNF α и показателями E2 ($r = -0,73, p < 0,01$), P ($r = -0,82, p < 0,01$), PR ($r = -0,7, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,81, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона;

- между показателями NF-kB в периферической крови и P в периферической крови ($r = -0,76, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,76, p < 0,01$), PR ($r = -0,78, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,82, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,78, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,83, p < 0,01$);

- между показателями NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона и P в периферической крови ($r = -0,78, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,85, p < 0,01$), PR ($r = -0,84, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,85, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,81, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,89, p < 0,01$);

- между показателями sTNF-R1 и показателями E2 в периферической крови ($r = 0,76, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,74, p < 0,01$);

- между показателями уровня антител IgM к ЦМВ и P в периферической крови ($r = -0,74, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,73, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,78, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,80, p < 0,01$).

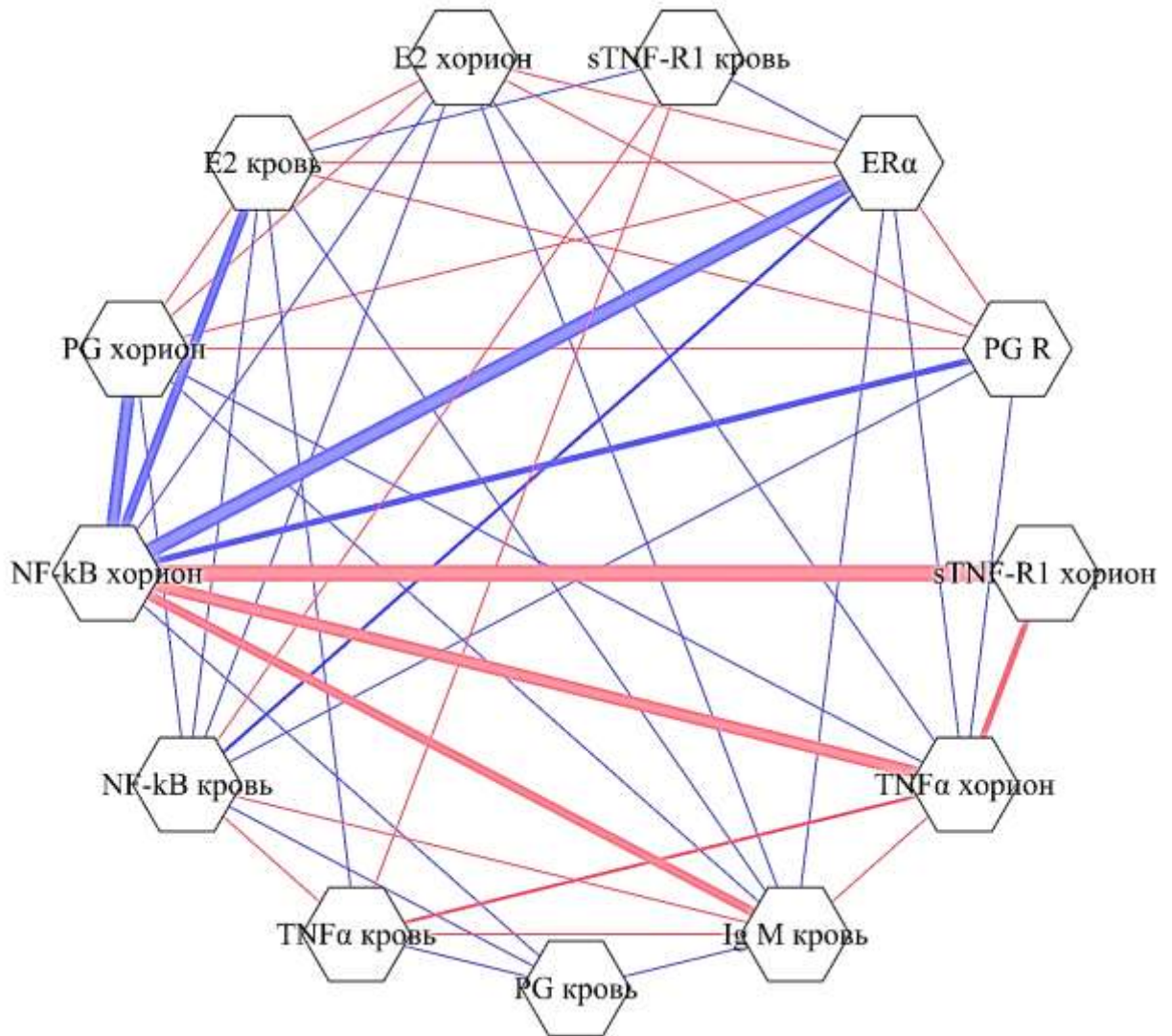


Рисунок 4. Графическое изображение высокой прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r > 0,7$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между показателями P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, PR в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, ERα в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями TNFα, sTNF-R1, NF-kB в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена (рисунок 5):

- между показателями P и E2 в периферической крови ($r = 0,69, p < 0,01$).

Средняя обратная корреляционная зависимость выявлена:

- между показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона и уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = -0,68, p < 0,01$).

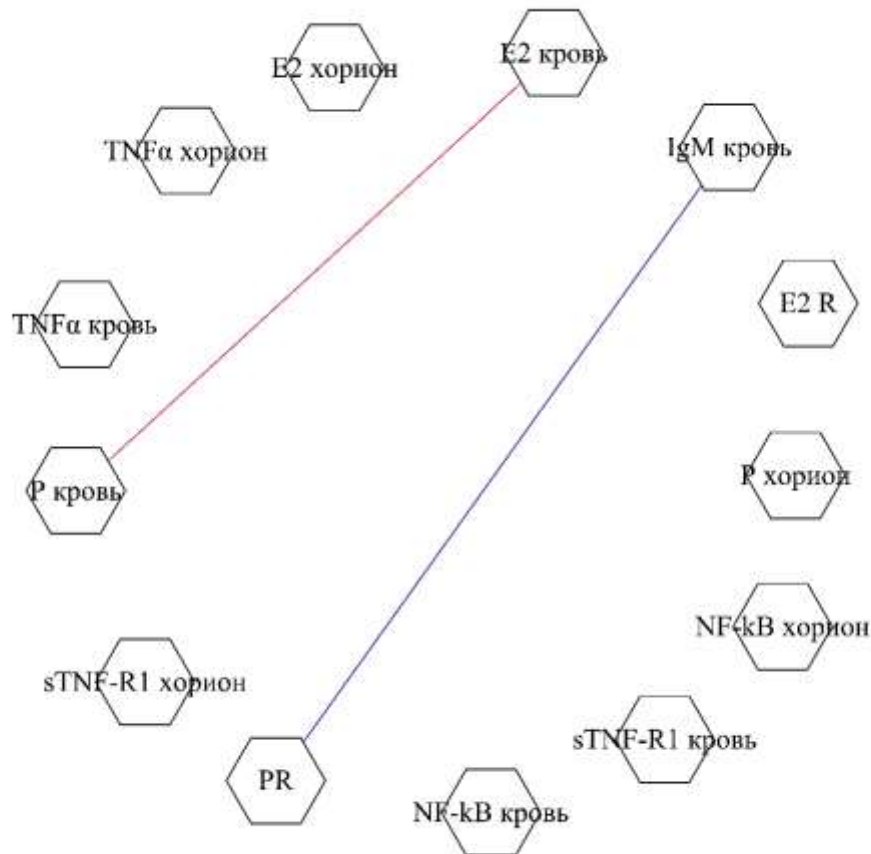


Рисунок 5. Графическое изображение средней прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r = 0,4-0,69$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r = -0,69-(-0,4)$) корреляционной связи между показателями P и E2 в периферической крови, показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона и уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Во 2 подгруппе выявлена высокая прямая корреляционная зависимость (рисунок 6):

- между показателями Р в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79, p < 0,01$).

Высокая обратная корреляционная зависимость выявлена:

- между показателями Р и TNF α в периферической крови ($r = -0,73, p < 0,01$);

- между показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона и TNF α в периферической крови ($r = -0,78, p < 0,01$);

- между показателями E2 и TNF α в периферической крови ($r = -0,72, p < 0,01$).

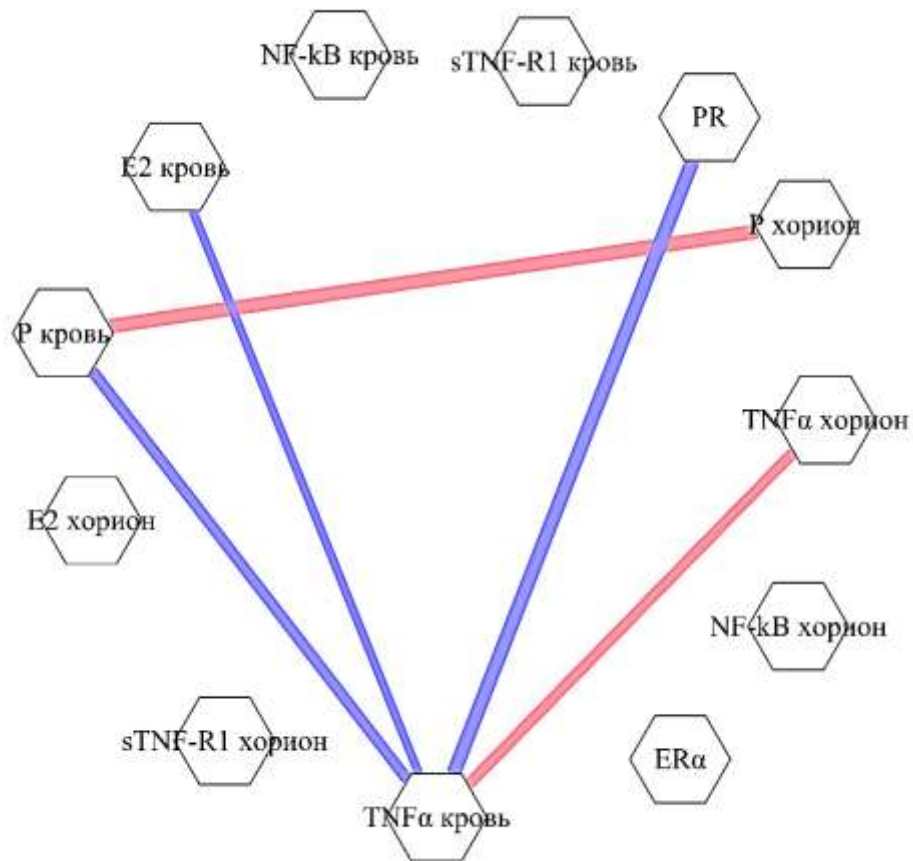


Рисунок 6. Графическое изображение высокой прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r > 0,7$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между показателями P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови, PR в экстрактах ворсинчатого хориона, TNFα в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена (рисунок 7):

- между показателями P в периферической крови и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,64, p < 0,01$).

Средняя обратная корреляционная зависимость:

- между показателями P и TNFα в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66, p < 0,01$);

- между показателями PR и TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,60, p < 0,01$);

- между показателями E2 и TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69, p < 0,01$).

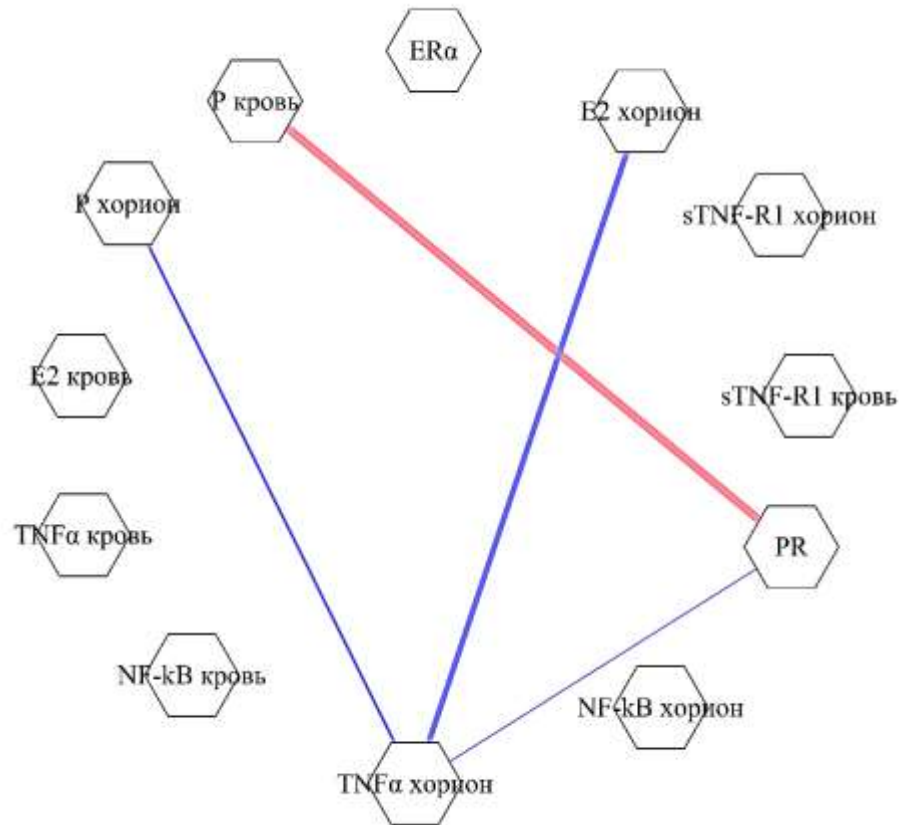


Рисунок 7. Графическое изображение средней прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r = 0,4-0,69$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r = -0,69-(-0,4)$) корреляционной связи между показателями P в периферической крови и PR в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями E2 в периферической крови, показателями TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

На основе выявленных закономерностей можно заключить, что наличие обратной связи высоких уровней TNF α и sTNF-R1 и низких показателей P и E2, PR и ER α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ

инфекцией, может указывать на развитие патологических процессов, определяющих формирование эмбриохориальной недостаточности, создающей условия для неблагоприятного исхода беременности. В подгруппе с латентным течением инфекции связь показателей $TNF\alpha$, P и E2 также указывает на модулирующую роль цитокина в эффективности участия гормонов в процессах, контролируемых формированием ворсин хориона и васкулогенез.

3.3. Показатели активности основных гистохимических маркеров, отражающих состояние процессов образования прогестерона и эстрогенов в плаценте при различном течении ЦМВ инфекции

Оценка активности основных гистохимических маркеров, отражающих состояние процессов образования P и эстрогенов в плаценте при различном течении ЦМВ инфекции, была проведена с учетом плотности распределения продуктов реакции на 3β -ГСДГ-1 (рисунок 8-10) и 17β -ГСДГ-1 (рисунок 11-13). Цитофотометрические показатели представлены в таблице 5.

В ходе гистохимического исследования выявлено зависимое от активности ЦМВ инфекции изменение интенсивности продуктов реакции на 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в трофобласте ворсин хориона 1 и 2 подгрупп относительно контрольной группы, что подтверждает описанную в предыдущем разделе разную изменчивость показателей P и E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона.

Согласно результатам, представленным в таблице 5, в 1 подгруппе отмечалось равнозначное уменьшение цитофотометрических показателей 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в 1,4 раза ($p < 0,001$ соответственно) относительно аналогичным значениям контрольной группы. Во 2 подгруппе отмечено достоверное уменьшение показателей 17β -ГСДГ-1 в 1,1 раза ($p < 0,001$), а показатели 3β -ГСДГ-1 значимо не изменялись ($p > 0,05$).

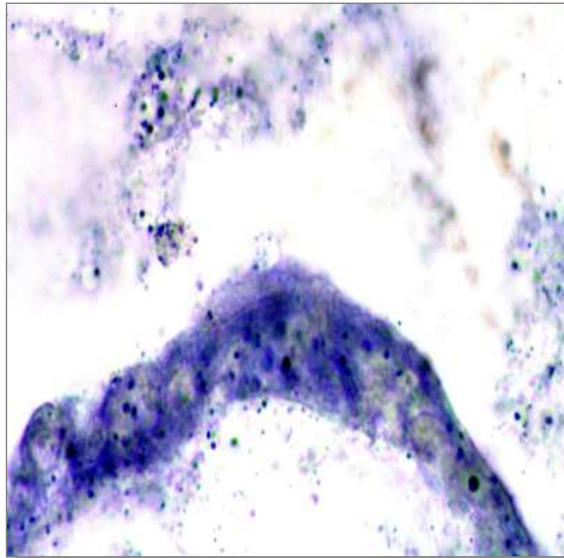


Рисунок 8. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Контрольная группа. Гистохимическая реакция на 3β-гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15×40.

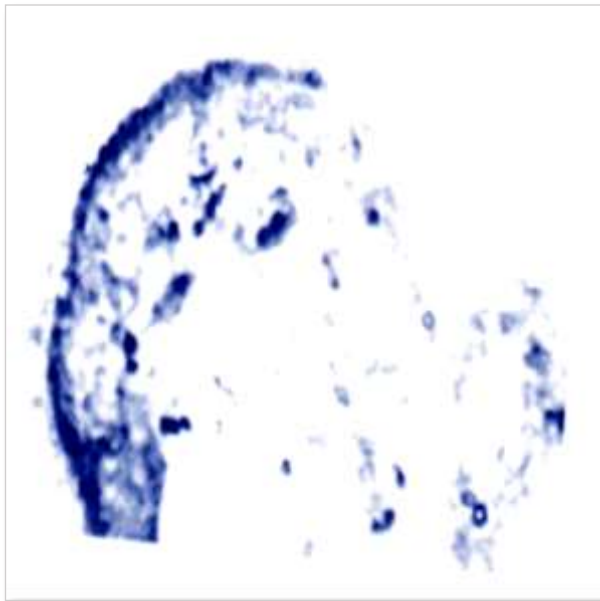


Рисунок 9. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентная ЦМВ инфекция. Гистохимическая реакция на 3β-гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15×40.

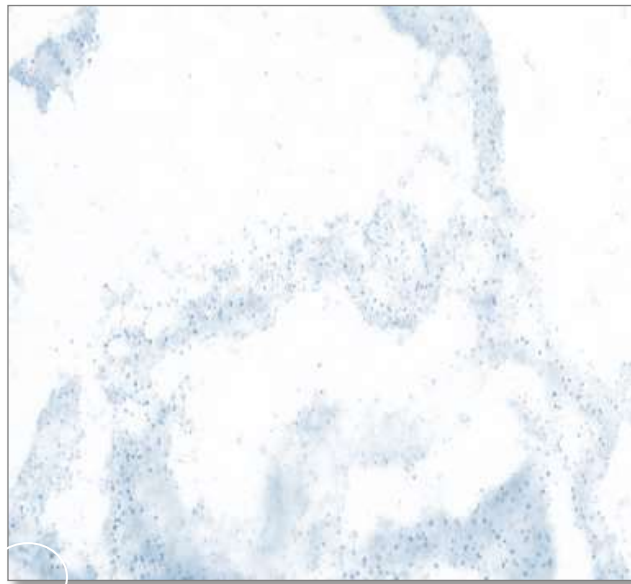


Рисунок 10. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Гистохимическая реакция на 3 β -гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15 \times 40.

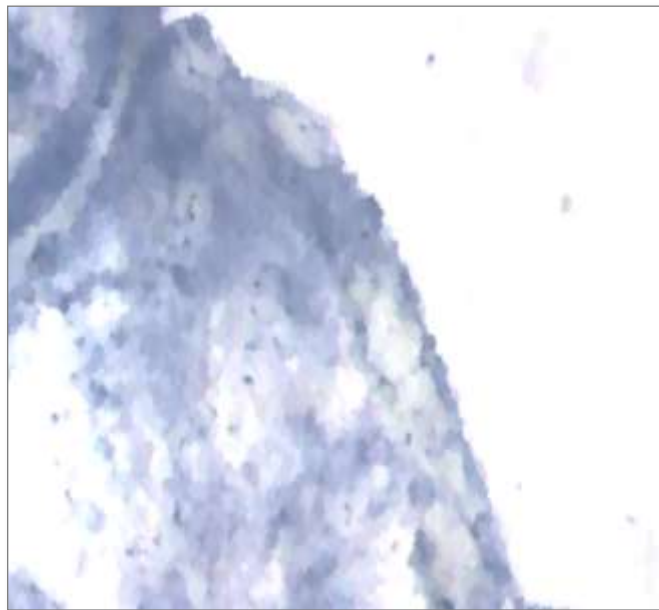


Рисунок 11. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Контрольная группа. Гистохимическая реакция на 17 β -гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15 \times 40.

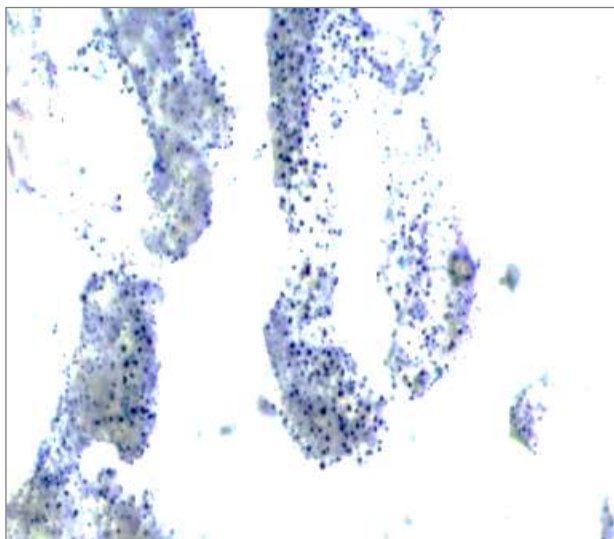


Рисунок 12. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентное течение ЦМВ инфекции. Гистохимическая реакция на 17β -гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15×40 .

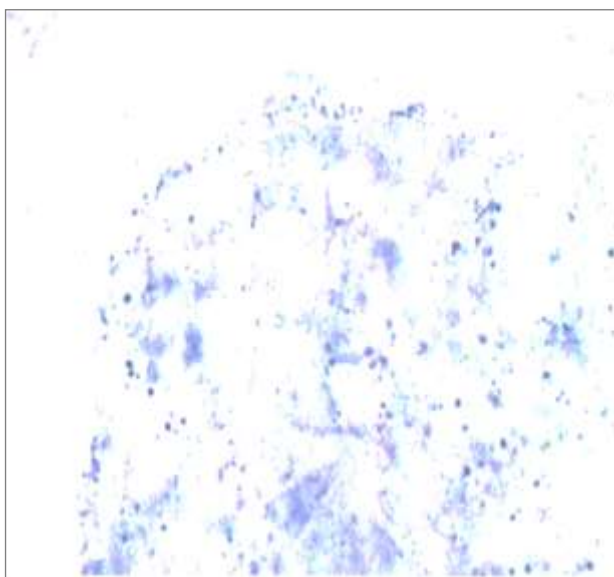


Рисунок 13. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Гистохимическая реакция на 17β -гидроксистероиддегидрогеназу I типа. Реакция по З. Лойда. Увеличение 15×40 .

Таблица 5 – Цитофотометрические показатели плацентарной 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы 1 типа и дегидроэпиандростерона в исследуемых группах

Показатели	1 подгруппа	p_1	2 подгруппа	p_2	Контрольная группа
Размер выборки	42		123		27
3 β -ГСДГ-1, пиксель/мкм ²	32,48 \pm 2,24	<0,001	44,15 \pm 2,54	>0,05	46,97 \pm 2,11
17 β -ГСДГ-1, пиксель/мкм ²	32,24 \pm 1,88	<0,001	40,38 \pm 1,71	<0,001	45,18 \pm 2,33
Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией и контрольной группой; p_2 – значимость различий при сравнении женщин с латентным течением ЦМВ инфекции и контрольной группой.					

Поиск корреляционных взаимосвязей в исследуемых подгруппах показал следующие закономерности (рисунок 14-16).

В 1 подгруппе выявлены высокие прямые корреляции (рисунок 14):

- между показателями 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и Р в периферической крови ($r = 0,74$, $p < 0,01$), показателями Е2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,70$, $p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = 0,79$, $p < 0,01$);

- между показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и Р в периферической крови ($r = 0,84$, $p < 0,01$), показателями Р в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,86$, $p < 0,01$), показателями Е2 в периферической крови ($r = 0,85$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,81$, $p < 0,01$).

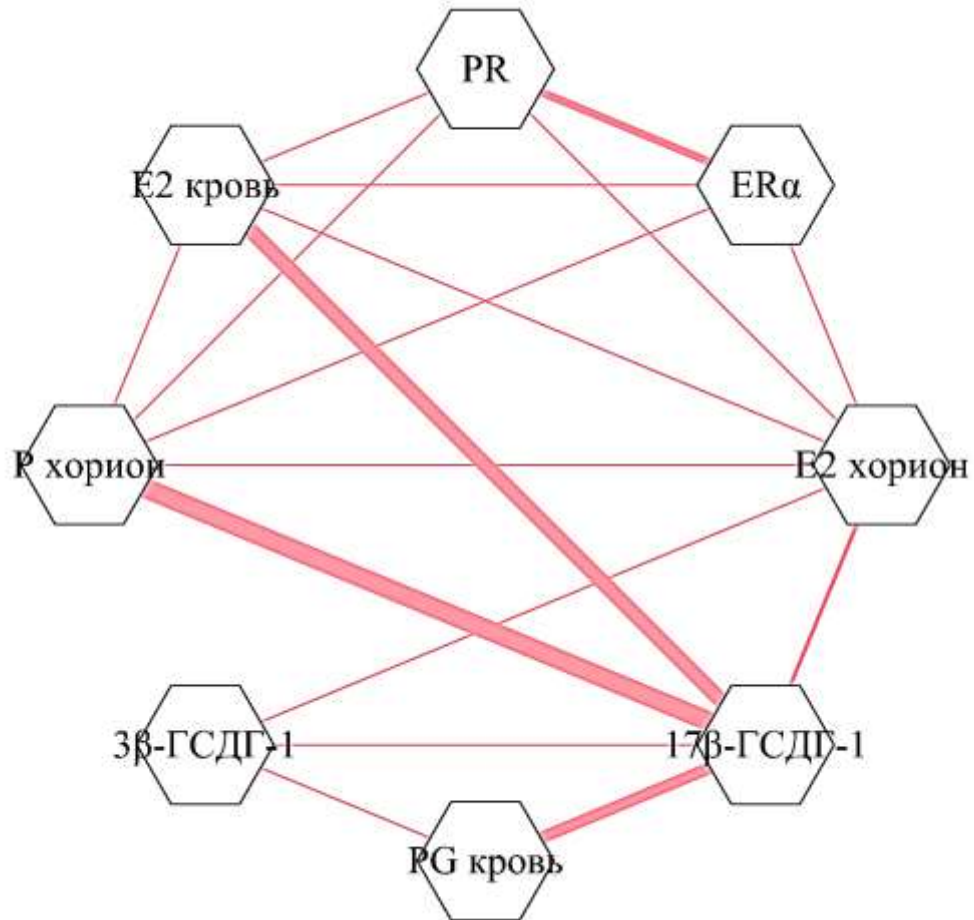


Рисунок 14. Графическое изображение высокой прямой (с установленным порогом $r > 0,7$) корреляционной связи между показателями 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, PR в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и ER α в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена (рисунок 15):

- между показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,69, p < 0,01$).

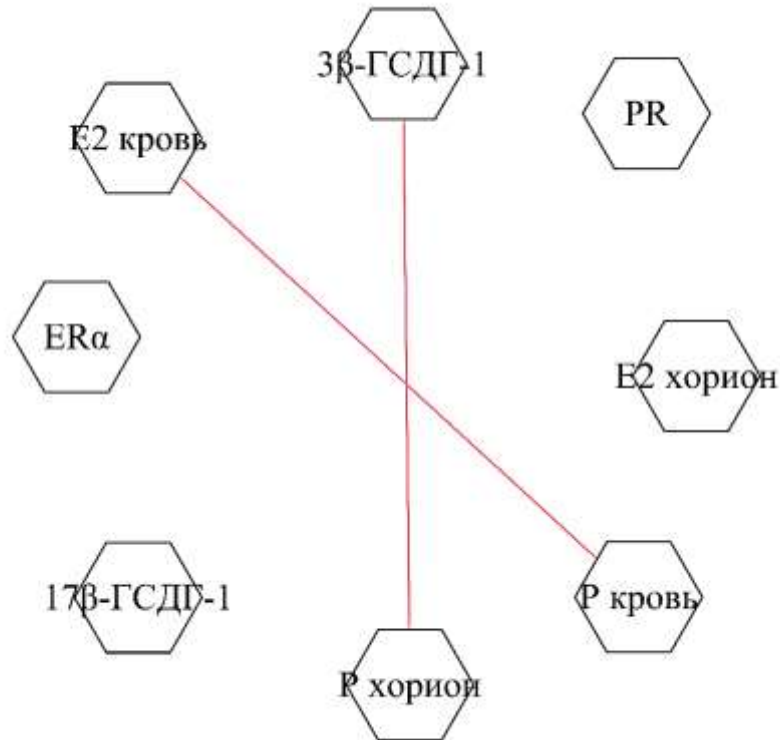


Рисунок 15. Графическое изображение средней прямой (с установленным порогом $r = 0,4-0,69$) корреляционной связи между показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Во 2 подгруппе показано наличие высоких прямых корреляций (рисунок 16):

- между показателями 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,81, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,85, p < 0,01$).

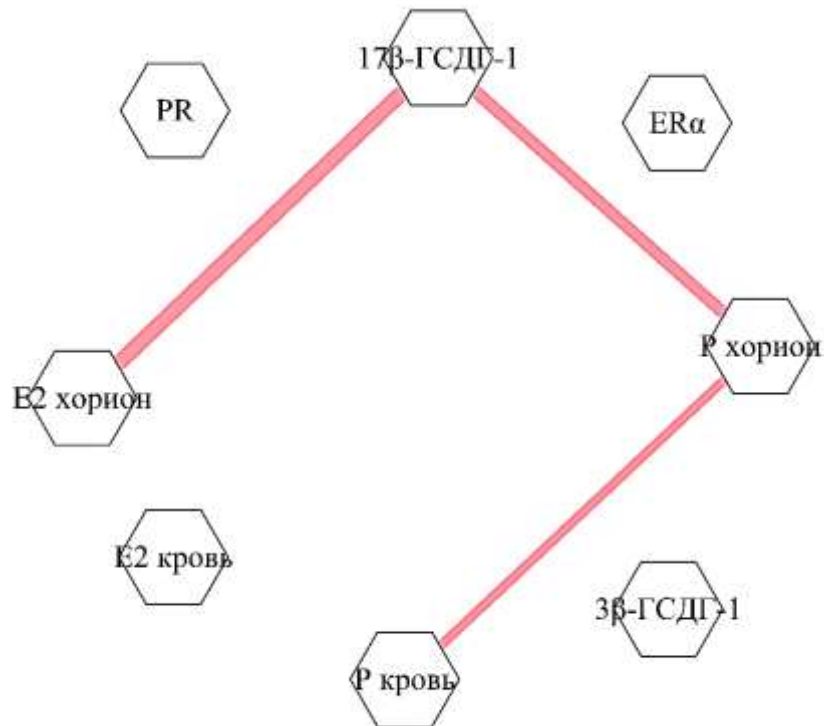


Рисунок 16. Графическое изображение высокой прямой (с установленным порогом $r > 0,7$) корреляционной связи между показателями 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, Р в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, Е2 в экстрактах ворсинчатого хориона у беременных женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

В ходе дальнейшего анализа выявлена корреляционная зависимость между показателями основных гистохимических маркеров – регуляторов активности процессов образования Р и Е2 и факторами, отражающими интенсивность TNF-зависимых воспалительных реакций (рисунок 17-19). В 1 подгруппе выявлены высокие обратные корреляционные связи (рисунок 17):

- между показателями sTNF-R1 в экстрактах ворсинчатого хориона и 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,77, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,87, p < 0,01$);

- между показателями $\text{TNF}\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,70, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,88, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе;

- между показателями NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона и 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,78, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,93, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе;

- между показателями уровня антител Ig M к ЦМВ и 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,72, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,83, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе.

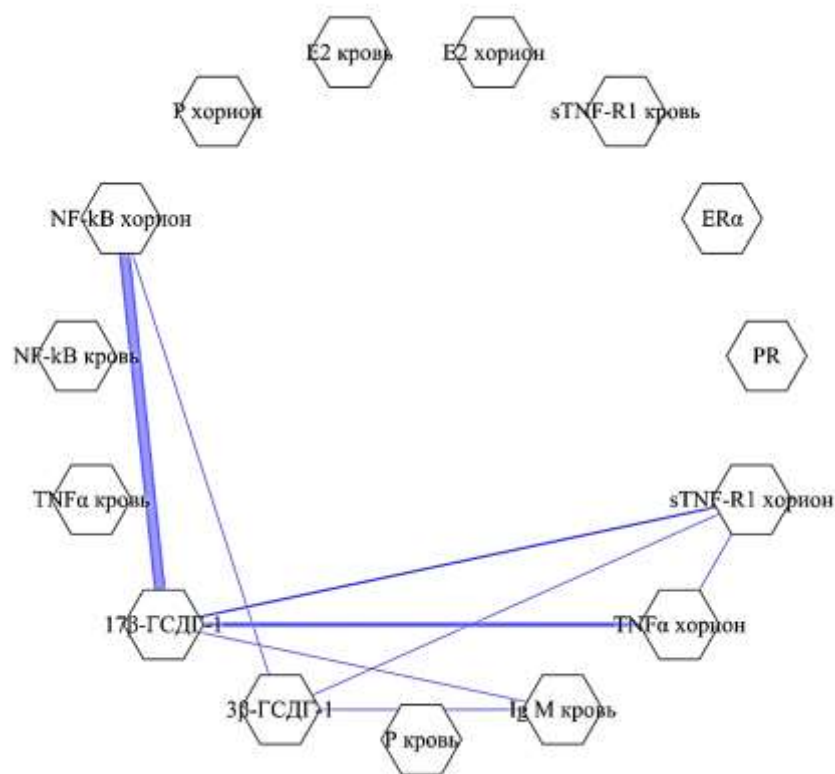


Рисунок 17. Графическое изображение высокой обратной (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между показателями 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, PR в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, $\text{ER}\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона, $\text{TNF}\alpha$, sTNF-R1, NF-kB в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и уровнем антител Ig класса M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Во 2 подгруппе выявлены следующие высокие обратные корреляции (рисунок 18):

- между показателями TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона, 3 β -ГСДГ-1 ($r = -0,71, p < 0,01$) и 17 β -ГСДГ-1 ($r = -0,72, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе.

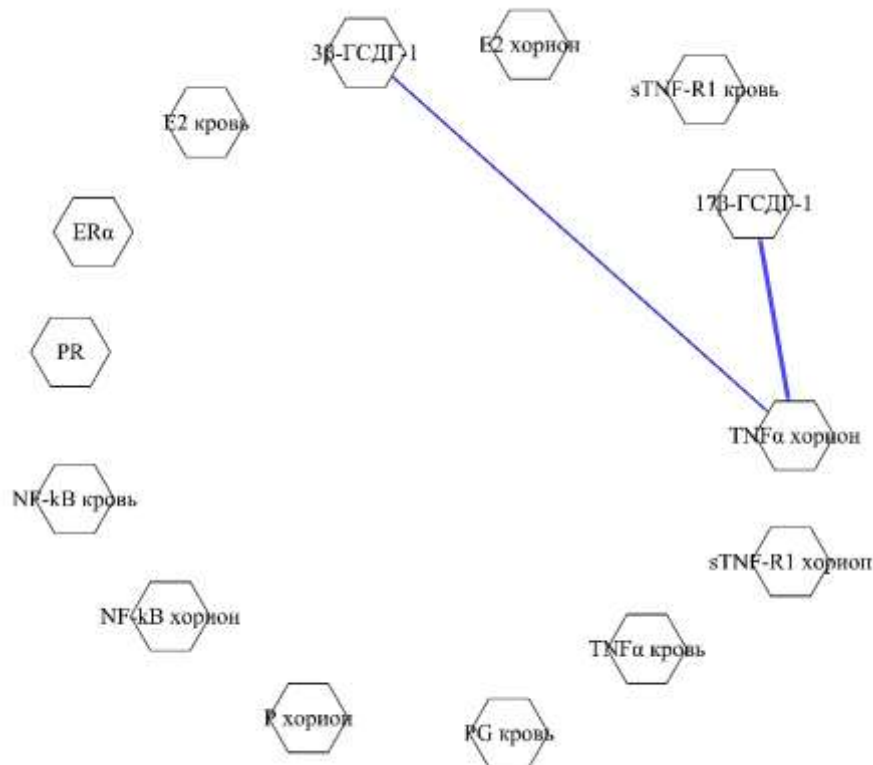


Рисунок 18. Графическое изображение высокой обратной (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между показателями TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона, 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

По результатам анализа можно предположить, что ЦМВ инфекция оказывает зависимое от ее активности в первом триместре беременности

влияние на функционально-метаболические характеристики плаценты, усиливающее провоспалительный ответ и уменьшающее активность 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 – ферментов, катализирующих образование P и E2.

3.4. Клинико-морфологические и ультразвуковые особенности строения плаценты у беременных женщин при различном течении ЦМВ инфекции

В таблице 6 показаны особенности клинического течения первого триместра беременности в исследуемых подгруппах.

Так, угроза прерывания беременности в 1 подгруппе (активная ЦМВ инфекция) встречалась в 10 раз чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. Проявлялась в 8 раз чаще ($p < 0,001$) тянущими болями внизу живота, в 9 раз чаще ($p < 0,001$) предлежанием хориона и в 6 раз чаще ($p < 0,001$) гипертонусом миометрия. Ретрохориальная гематома встречалась в 28,6% случаев, жалобы на мажущие кровянистые выделения из половых путей предъявляли 47,6% женщин 1 подгруппы. В контрольной группе мажущих кровянистых выделений из половых путей и ретрохориальной гематомы выявлено не было.

Во 2 подгруппе (латентная ЦМВ инфекция) угроза прерывания беременности была диагностирована в 4 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. При этом жалобы на тянущие боли внизу живота во 2 подгруппе были в 2 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. Кроме того, у 5,7% женщин 2 подгруппы были мажущие кровянистые выделения из половых путей. Проведенное ультразвуковое исследование показало, что предлежание хориона встречалось во 2 подгруппе в 4 раза чаще ($p < 0,001$), гипертонус миометрия в 3 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе, и в 9,8% случаев была выявлена ретрохориальная гематома.

Таблица 6 – Клинические и ультразвуковые признаки угрозы прерывания беременности в исследуемых группах

	Первая подгруппа (n=42)		Вторая подгруппа (n=123)		Контрольная группа (n=27)		p_1	p_2
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%		
Угроза прерывания беременности	42	100	35	28,4	2	7,4	<0,001	<0,05
Тянущие боли внизу живота	24	57,1	18	14,6	2	7,4	<0,001	>0,05
Мажущие кровянистые выделения из половых путей	20	47,6	7	5,7	0	0	<0,001	>0,05
Предлежание хориона	14	33,3	19	15,4	1	3,7	<0,05	>0,05
Ретрохориальная гематома	12	28,6	12	9,8	0	0	<0,05	>0,05
Гипертонус миометрия	18	42,9	25	20,3	2	7,4	<0,05	>0,05
Примечание: p_1 – значимость различий при сравнении беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией и контрольной группой; p_2 – значимость различий при сравнении женщин с латентным течением ЦМВ инфекции и контрольной группой.								

При гистологическом исследовании препаратов ворсинчатого хориона у женщин 1 подгруппы выявлялись признаки локального воспаления, которые характеризовались наличием зон инфильтрации и отека стромы

промежуточных ворсин (рисунок 19). В таких ворсинах значительно увеличивалось количество плацентарных макрофагов, которые были часто увеличены в размерах, ядра пикнотизированы (рисунок 20), что свидетельствовало об ослаблении их регуляторной функции, определяющей провоспалительный ответ и апоптоз синцитиотрофобласта ворсин плаценты (рисунок 21). В этих условиях отмечалась общая структурная дезорганизация ворсинчатого хориона и нарушение дифференцировки ворсин. Ворсины были различной формы и размеров, аваскуляризованными или гиповаскуляризованными (1-2 капилляра, в норме 3-4) с нарушенной локализацией сосудов и не соответствующие сроку беременности (часто встречались вторичные мезенхимальные ворсины) (рисунок 22).

Следовательно, для 1 подгруппы характерным, но не специфическим морфологическим признаком, является задержка дифференцировки и нарушение васкулогенеза ворсин хориона, вызывающая расстройства эмбрио-плацентрного кровотока, что негативно влияет на дальнейшее развитие беременности.

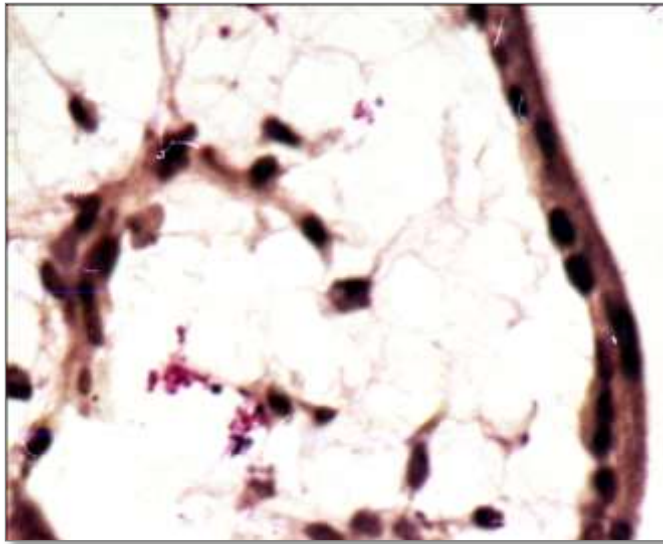


Рисунок 19. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Инфильтрация и зоны отека стромы ворсин. Окраска по Ван Гизону. Увеличение 15×40.

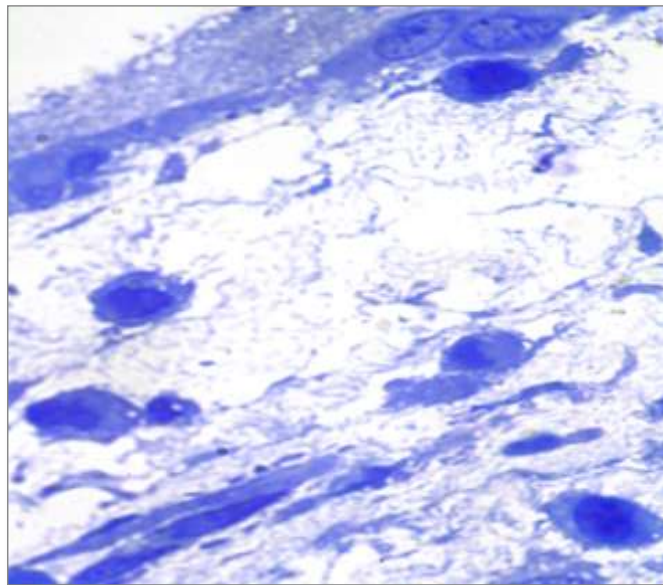


Рисунок 20. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Макрофаги. Пикноз ядер. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 40×100.

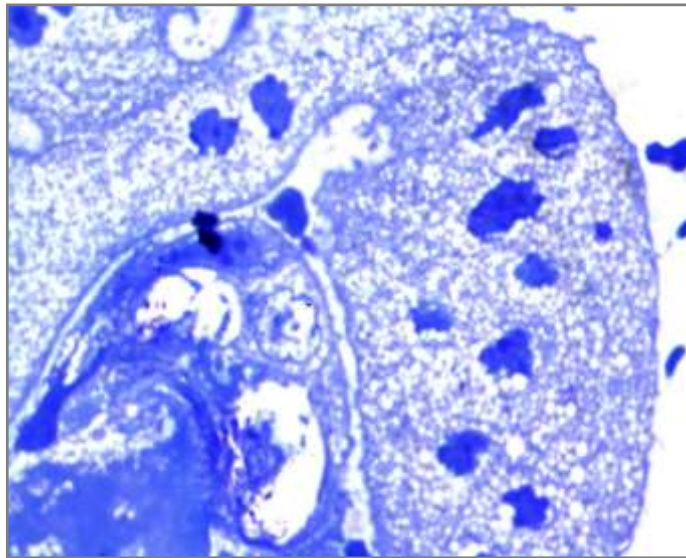


Рисунок 21. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Апоптоз синцитиотрофобласта. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 40×100 .

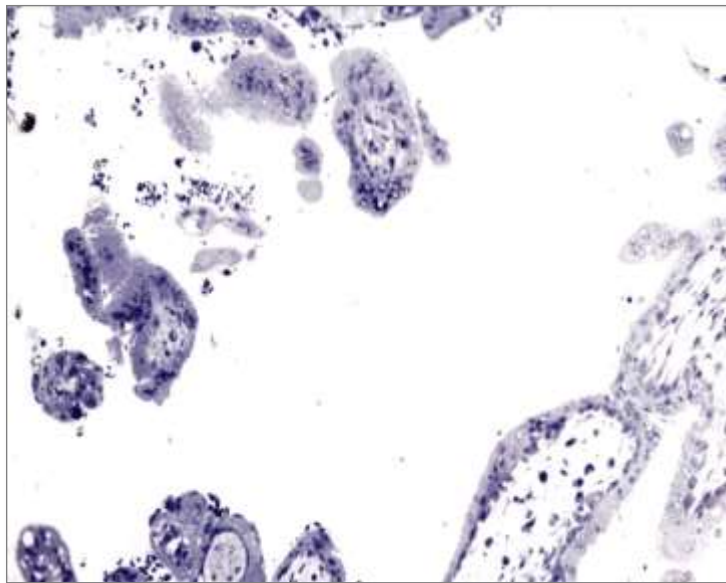


Рисунок 22. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Активная ЦМВ инфекция. Нарушение дифференцировки ворсин. Аvascularные и гиповаскулярные ворсины. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 15×10 .

На полутонких срезах ворсинчатого хориона от женщин 2 подгруппы в строме ворсин плацентарные макрофаги имели большее количество гранул (рисунок 23).

При оценке образцов, структура ворсин хориона соответствовала сроку беременности. Встречались третичные мезенхимальные ворсины и гиповаскуляризованные промежуточные ворсины (1-2 капилляра). В строме васкуляризованных ворсин капилляры располагались преимущественно в парацентральной и центральной зонах. В более крупных центрально расположенных сосудах просветы были пусты и расширены. При этом количество капилляров в васкуляризованных ворсинах часто не соответствовало сроку беременности (2-3 капилляра) (рисунок 24).

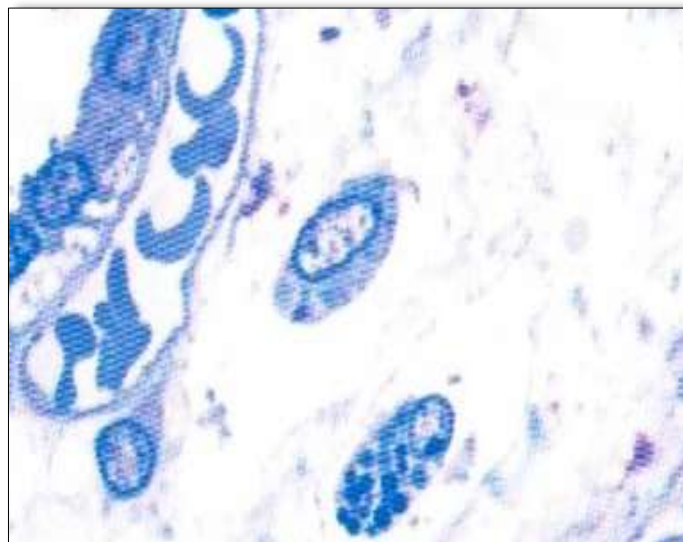


Рисунок 23. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентное течение ЦМВ инфекции. Макрофаги с высокой пролиферативной и секреторной активностью. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 40×100 .

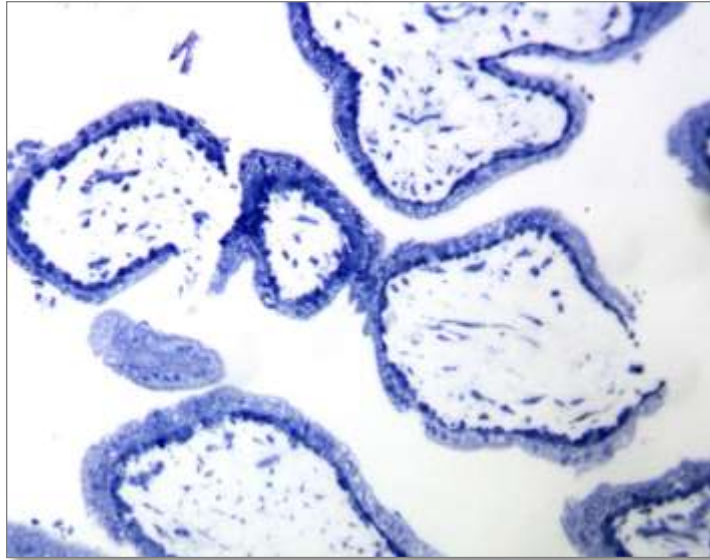


Рисунок 24. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентное течение ЦМВ инфекции. Отставание формирования капиллярной сети и дифференцировки сосудов ворсин. Полутонкий срез. Окраска толуидиновым синим. Увеличение 15×10 .

Таким образом, несмотря на отсутствие нарушений дифференцировки ворсин хориона и их соответствия сроку беременности, во 2 подгруппе отмечаются признаки задержки васкулогенеза, ограничивающие достаточный обмен питательными веществами и газов для растущего эмбриона.

Поиск корреляционных взаимосвязей между показателями специфического иммунного ответа к ЦМВ, маркерами воспаления, гормональными нарушениями и признаками угрозы прерывания беременности в исследуемых подгруппах показал наличие следующих закономерностей (рисунок 26-29).

В 1 подгруппе женщин высокая прямая корреляционная зависимость выявлена (рисунок 26):

- между угрозой прерывания беременности и показателями $TNF\alpha$ в периферической крови ($r = 0,73, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,74, p < 0,01$), показателями $sTNF-R1$ в экстрактах ворсинчатого

хориона ($r = 0,73$, $p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,74$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76$, $p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$);

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,81$, $p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,78$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76$, $p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,80$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,84$, $p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,82$, $p < 0,01$);

- между наличием мажущих кровянистых выделений из половых путей и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,79$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,85$, $p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,83$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76$, $p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,79$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,87$, $p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$);

- между предлежанием хориона по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,74$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,77$, $p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,72$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76$, $p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,77$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,83$, $p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,73$, $p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,78$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79$,

$p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,72, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,75, p < 0,01$);

- между гипертонусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,77, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,84, p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,79, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,78, p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,85, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79, p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,78, p < 0,01$).

Высокая обратная корреляционная зависимость установлена:

- между угрозой прерывания беременности и показателями 3 β -ГСДГ-1 ($r = -0,76, p < 0,01$) и 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,73, p < 0,01$);

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,83, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,81, p < 0,01$);

- между наличием мажущих кровянистых выделений из половых путей и показателями P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,73, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,77, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,81, p < 0,01$);

- между предлежанием хориона по данным ультразвукового исследования и показателями P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,71, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,72, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,76, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,78, p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями ER α в экстрактах

ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,75, p < 0,01$);

- между гипертонусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,71, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,73, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,77, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,79, p < 0,01$).

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена (рисунок 27):

- между угрозой прерывания беременности и показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,63, p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,68, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,69, p < 0,01$), показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,67, p < 0,01$).

Средняя обратная корреляционная зависимость выявлена:

- между угрозой прерывания беременности и показателями P в периферической крови ($r = -0,62, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,63, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,68, p < 0,01$) и экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,64, p < 0,01$), ER α ($r = -0,63, p < 0,01$);

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями P в периферической крови ($r = -0,65, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69, p < 0,01$), показателями 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,65, p < 0,01$);

- между наличием мажущих кровянистых выделений из половых путей и показателями P в периферической крови ($r = -0,64, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66, p < 0,01$), показателями E2 в

экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67, p < 0,01$), показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,60, p < 0,01$);

- между предлежанием хориона по данным ультразвукового исследования и показателями Р в периферической крови ($r = -0,61, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,63, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68, p < 0,01$), показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,56, p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями Р в периферической крови ($r = -0,62, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,65, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,69, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68, p < 0,01$), показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,57, p < 0,01$);

- между гипертонусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями Р в периферической крови ($r = -0,62, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69, p < 0,01$), показателями 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,57, p < 0,01$).

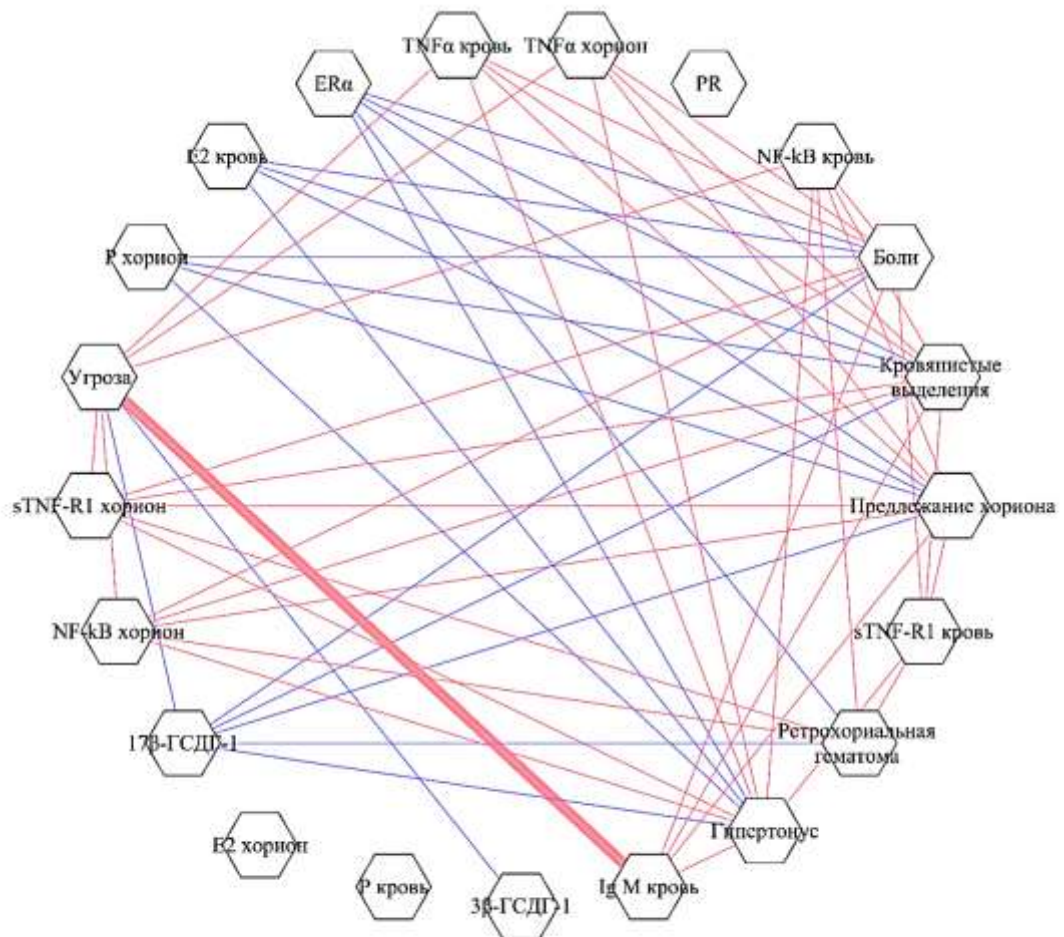


Рисунок 26. Графическое изображение высокой прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r > 0,7$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между клиническими и ультразвуковыми маркерами угрозы прерывания беременности, показателями 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, показателями P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона, E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями ERα в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями TNFα, sTNF-R1, NF-κB в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

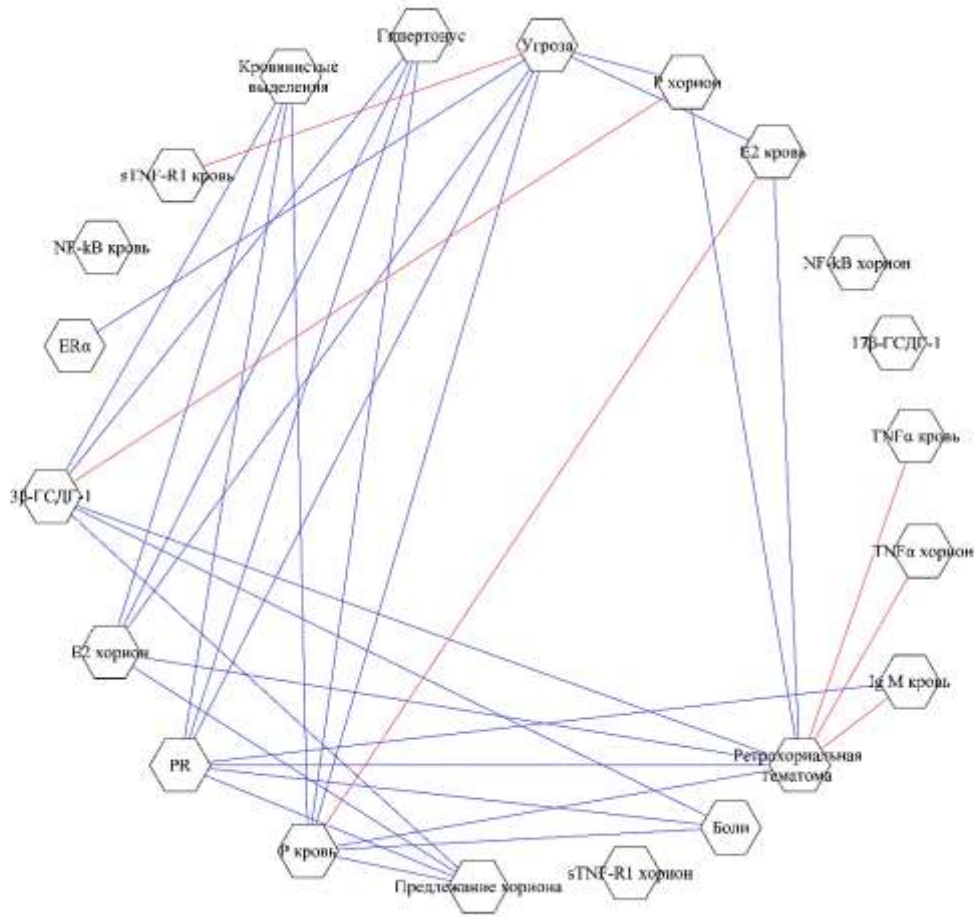


Рисунок 27. Графическое изображение средней прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r = 0,4-0,69$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r = -0,69-(-0,4)$) корреляционной связи между клиническими и ультразвуковыми маркерами угрозы прерывания беременности, показателями 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями $ER\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями $TNF\alpha$, sTNF-R1, NF- κ B в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона и показателями уровня антител Ig M к ЦМВ в периферической крови у беременных женщин 1 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

Во 2 подгруппе женщин выявлена средняя прямая корреляционная зависимость (рисунок 28):

- между угрозой прерывания беременности и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,62, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,50, p < 0,01$);

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,52, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,43, p < 0,01$);

- между предлежанием хориона по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,44, p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,41, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,42, p < 0,01$);

- между гипертонусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями TNF α в периферической крови ($r = 0,53, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,45, p < 0,01$).

Высокая обратная корреляционная зависимость выявлена:

- между угрозой прерывания беременности и показателями P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), показателями PR ($r = -0,83, p < 0,01$), E2 ($r = -0,78, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,77, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона;

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями E2 в периферической крови ($r = -0,71, p < 0,01$);

- между гипертонусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,80, p < 0,01$).

Средняя обратная корреляционная зависимость выявлена (рисунок 29):

- между угрозой прерывания беременности и показателями Р в периферической крови ($r = -0,55, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,60, p < 0,01$);

- между жалобами на тянущие боли внизу живота и показателями Р в периферической крови ($r = -0,57, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,51, p < 0,01$), показателями PR ($r = -0,63, p < 0,01$), E2 ($r = -0,55, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,54, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,64, p < 0,01$);

- между наличием мажущих кровянистых выделений из половых путей и показателями E2 в периферической крови ($r = -0,45, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,42, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,46, p < 0,01$);

- между предлежанием хориона по данным ультразвукового исследования и показателями Р в периферической крови ($r = -0,41, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,53, p < 0,01$), показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,60, p < 0,01$), показателями E2 в периферической крови ($r = -0,59, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,45, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,56, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,45, p < 0,01$);

- между наличием ретрохориальной гематомы по данным ультразвукового исследования и показателями Р в периферической крови ($r = -0,50, p < 0,01$), показателями PR ($r = -0,49, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,64, p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,48, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,41, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,62, p < 0,01$);

- между гипертономусом миометрия по данным ультразвукового исследования и показателями P в периферической крови ($r = -0,56, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,57, p < 0,01$), показателями E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,58, p < 0,01$), показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,65, p < 0,01$), показателями 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,62, p < 0,01$).

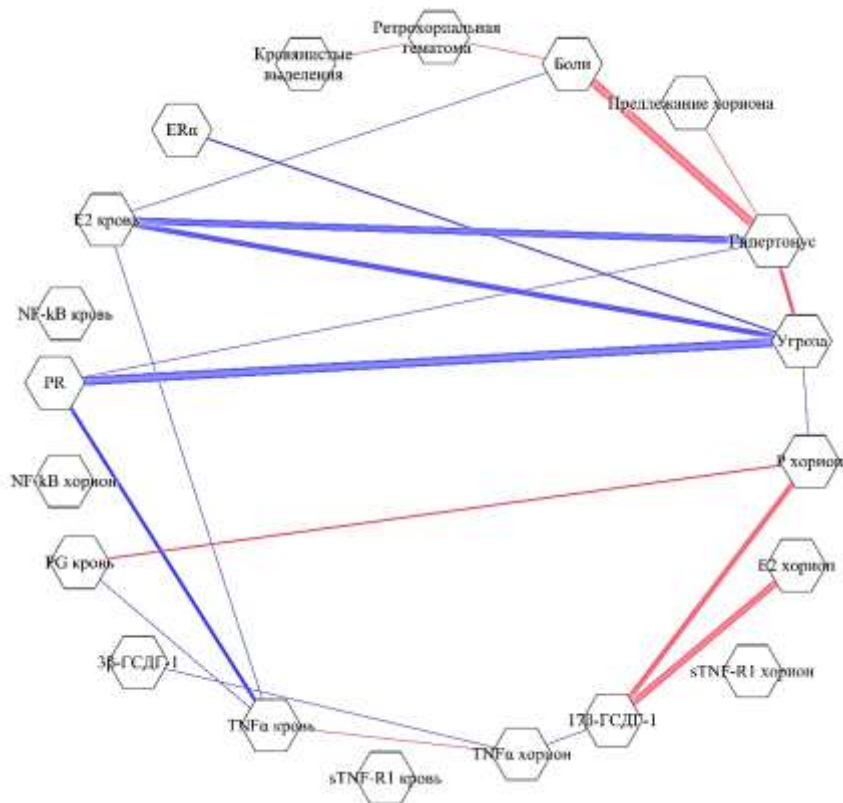


Рисунок 28. Графическое изображение высокой прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r > 0,7$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r < -0,7$) корреляционной связи между клиническими и ультразвуковыми маркерами угрозы прерывания беременности, показателями 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, показателями P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

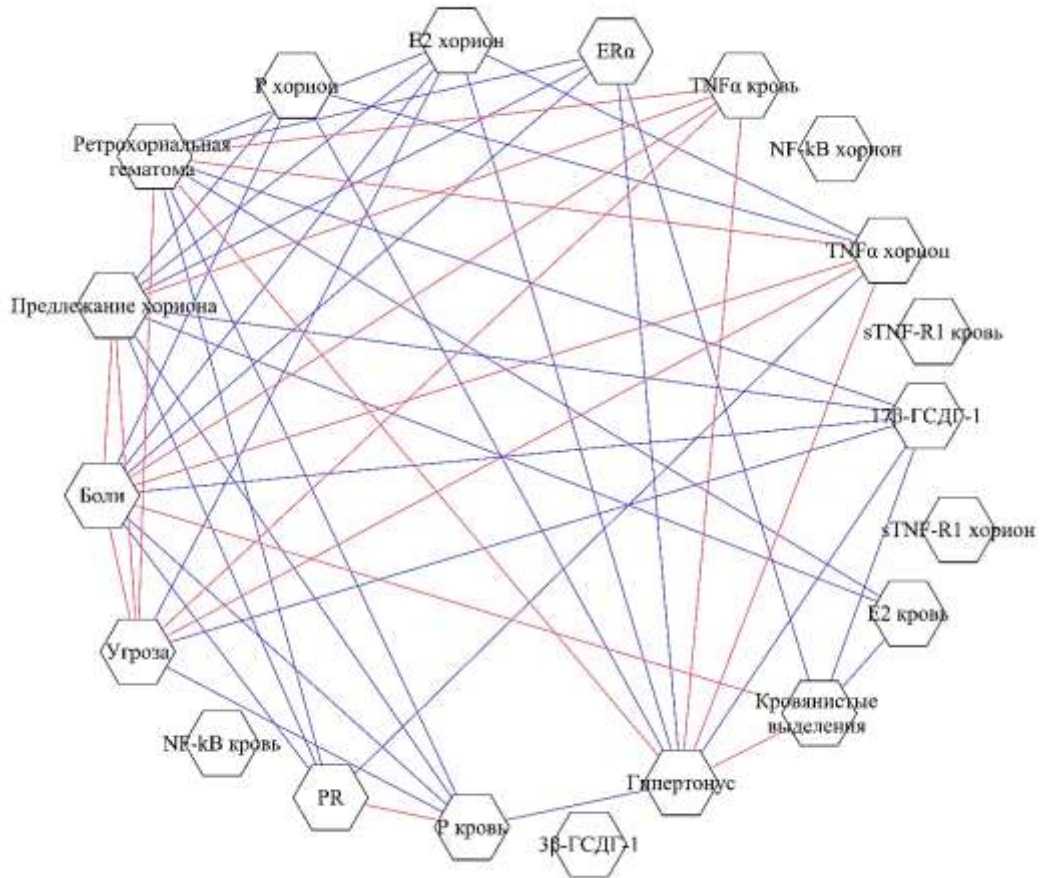


Рисунок 29. Графическое изображение средней прямой (красный цвет линий) (с установленным порогом $r = 0,4-0,69$) и обратной (синий цвет линий) (с установленным порогом $r = -0,69-(-0,4)$) корреляционной связи между клиническими и ультразвуковыми маркерами угрозы прерывания беременности, показателями 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, показателями Р в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями PR в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями ER α в экстрактах ворсинчатого хориона, показателями TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин 2 подгруппы. Разная толщина линий отражает силу корреляционной связи.

На основании полученных закономерностей можно заключить, что причиной угрожающего течения беременности является ЦМВ инфекция и связанные с ней изменения локального иммунного ответа и процессов образования Р и эстрогенов в формируемой плаценте. Сочетанное действие ЦМВ инфекции, гиперпродукции $TNF\alpha$, гипопрогестеро-эстрогемии на ранних этапах беременности приводит к развитию патологии маточно-хориальной области, которая морфологически обусловлена задержкой дифференцировки ворсин и васкулогенеза и клинически проявляется болями с мажущими кровянистыми выделениями из половых путей, ретрохориальной гематомой и предлежанием хориона.

У женщин с латентной ЦМВ инфекцией увеличение локального уровня $TNF\alpha$ и уменьшение продукции трофобластом Р ассоциируется с нарушением васкулогенеза ворсин хориона, что также повышает риск угрозы прерывания беременности и ее клинических проявлений в первом триместре беременности.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И ОТНОСИТЕЛЬНЫХ РИСКОВ УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

4.1. Прогностически значимые иммуно-гормональные показатели в оценке угрожающего течения первого триместра беременности при ЦМВ инфекции

Для решения вопроса оценки угрожающего течения беременности и определения прогностически значимых иммуно-гормональных показателей при различном течении ЦМВ инфекции был проведен пошаговый дискриминантный анализ. Этот метод позволил определить переменные, имеющие наибольший вклад в различия между исследуемыми группами.

В качестве независимых переменных выступали количественные параметры: TNF α , sTNF-R1 и NF-kB, P, E2, ER α , PR в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона, 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1 в плаценте. В качестве зависимой переменной был взят бинарный признак: наличие или отсутствие угрозы прерывания беременности в исследуемых подгруппах. Отбор независимых переменных осуществлялся путем прямого пошагового анализа.

Первый пошаговый дискриминантный анализ проведен в 1 подгруппе (активная ЦМВ инфекция). В качестве независимых переменных были взяты количественные признаки, отражающие уровень TNF α , sTNF-R1, NF-kB, P и E2 в периферической крови. Отбор независимых переменных, выступающих в качестве количественных переменных, осуществлялся путем прямого пошагового анализа.

В ходе анализа были отобраны следующие показатели: TNF α ($p < 0,001$) и sTNF-R1 ($p < 0,001$), которые можно считать предикторами угрозы прерывания беременности в 1 подгруппе, о чем свидетельствует высокое

значение коэффициента канонической корреляции (0,780) и низкое значение Лямбды Уилкса (таблица 7).

Таблица 7 – Оценка значимости дискриминантной функции

Функция	Лямбда Уилкса	Хи-квадрат	Значимость
1	0,391	86,366	p <0,001

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -12,099 + 0,638 \times X_1 + 1,880 \times X_2,$$

где -12,099 – свободный член,

X_1 – показатели TNF α в периферической крови (количественный показатель),

X_2 – показатели sTNF-R1 в периферической крови (количественный показатель).

Были определены значения координат центроидов (чисел, равных значению дискриминантной функции), полученных при подстановке в ее уравнение средних значений TNF α и sTNF-R1. Функция в центроидах групп представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Функция в центроидах групп первой математической модели

Угроза прерывания беременности	Функция 1
Нет	-1,910
Есть	0,798
	Точка разделения: -0,556

На рисунке 31 представлены значения функции в центроидах групп, позволяющих прогнозировать возникновение угрозы прерывания беременности в 1 подгруппе. Как можно судить по рисунку, значение

дискриминантной функции больше $-0,556$ позволяет предсказать возникновение угрозы прерывания беременности в 1 подгруппе. Значение меньше $-0,556$ соответствует норме. Вероятность правильности классификации составляет 88,4%.

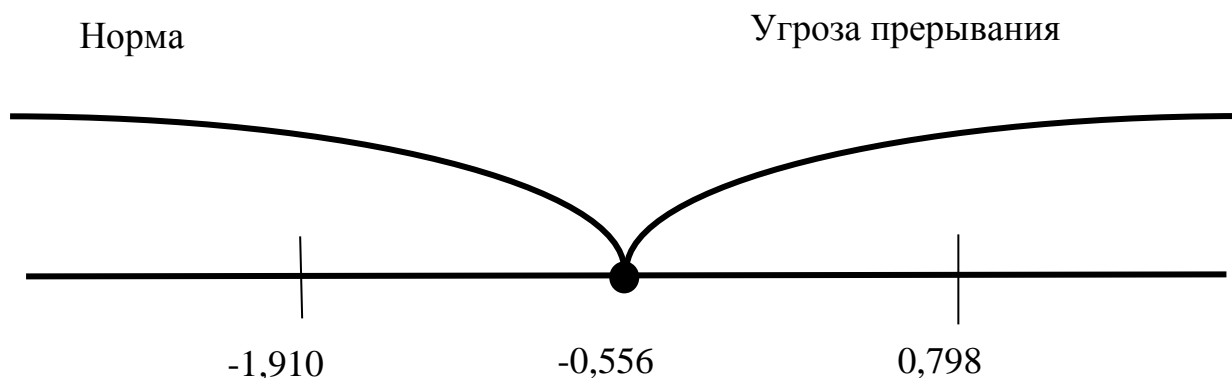


Рисунок 30. Расположение по числовой прямой значений центроидов дискриминантной функции каждой группы первой математической модели.

Второй пошаговый дискриминантный анализ был проведен во 2 подгруппе (латентная ЦМВ инфекция). В качестве независимых переменных были взяты количественные признаки, отражающие уровень $TNF\alpha$, $sTNF-R1$, $NF-kB$, P и $E2$ в периферической крови. Отбор независимых переменных, выступающих в качестве количественных переменных, осуществлялся путем прямого пошагового анализа.

Во 2 подгруппе среди показателей периферической крови были отобраны следующие показатели: P ($p < 0,001$) и $TNF\alpha$ ($p < 0,001$), которые можно считать предикторами угрозы прерывания беременности, о чем свидетельствует достаточно высокое значение коэффициента канонической корреляции ($0,812$) и низкое значение Лямбды Уилкса (таблица 9).

Таблица 9 – Оценка значимости дискриминантной функции

Функция	Лямбда Уилкса	Хи-квадрат	Значимость
3	0,341	75,115	p < 0,001

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -2,472 + 1,036 \times X_1 - 0,826 \times X_2,$$

где -2,472 – свободный член,

X_1 – показатели Р в периферической крови (количественный показатель),

X_2 – показатели TNF α в периферической крови (количественный показатель).

Были определены значения координат центроидов (чисел, равных значению дискриминантной функции, полученных при подстановке в ее уравнение средних значений Р и TNF α в периферической крови). Функция в центроидах групп представлена в таблице 10.

Таблица 10 – Функция в центроидах групп второй математической модели

Угроза прерывания беременности	Функция 3
Нет	0,867
Есть	-2,167
	Точка деления: -0,65

На следующем рисунке представлены значения функции в центроидах групп, позволяющих прогнозировать возникновение угрозы прерывания беременности. Как можно судить по рисунку, значение дискриминантной функции меньше -0,65 позволяет предсказать возникновение угрозы прерывания беременности во 2 подгруппе. Значение больше 0,65

соответствует норме. Вероятность правильности классификации составляет 95,7%.

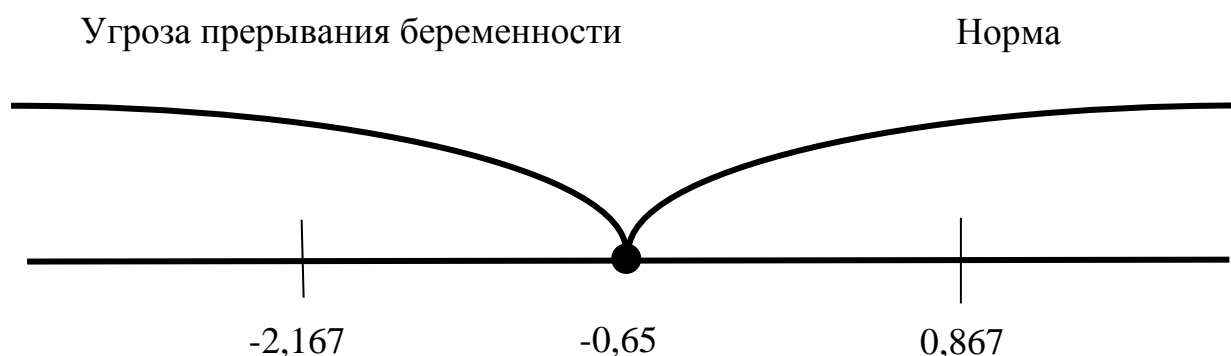


Рисунок 31. Расположение по числовой прямой значений центроидов дискриминантной функции каждой группы второй математической модели.

Третий пошаговый дискриминантный анализ проведен для поиска значимых показателей, раскрывающих возможные закономерности нарушения формирования плаценты в 1 подгруппе. В качестве независимых переменных были взяты показатели, полученные в экстракте ворсинчатого хориона: $TNF\alpha$, $sTNF-R1$, $NF-kB$, P , $E2$, PR , $ER\alpha$, 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1. Отбор независимых переменных осуществлялся путем прямого пошагового анализа. Были отобраны следующие показатели: 3β -ГСДГ-1 ($p < 0,001$) и $TNF\alpha$ ($p < 0,001$), о чем свидетельствовало высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,810) и низкое значение Лямбды Уилкса (таблица 11).

Таблица 11 – Оценка значимости дискриминантной функции

Функция	Лямбда Уилкса	Хи-квадрат	Значимость
2	0,344	98,286	$p < 0,001$

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = 19,291 + 0,434 \times X_1 - 0,277 \times X_2,$$

где 19,291 – свободный член,

X_1 – показатель 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе (количественный),

X_2 – уровень TNF α в экстракте ворсинчатого хориона (количественный показатель).

Были определены значения координат центроидов (чисел, равных значению дискриминантной функции, полученных при подстановке в ее уравнение средних значений 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и TNF α в экстракте ворсинчатого хориона). Функция в центроидах групп представлена в таблице 12.

Таблица 12 – Функция в центроидах групп третьей математической модели

Патология хориона	Функция 2
Нет	2,115
Есть	-0,884
	Точка разделения: 0,6155

На рисунке 33 представлены значения функции в центроидах групп, позволяющих определять вероятность развития патологии хориона. Вероятность правильности классификации составляет 95,8%.

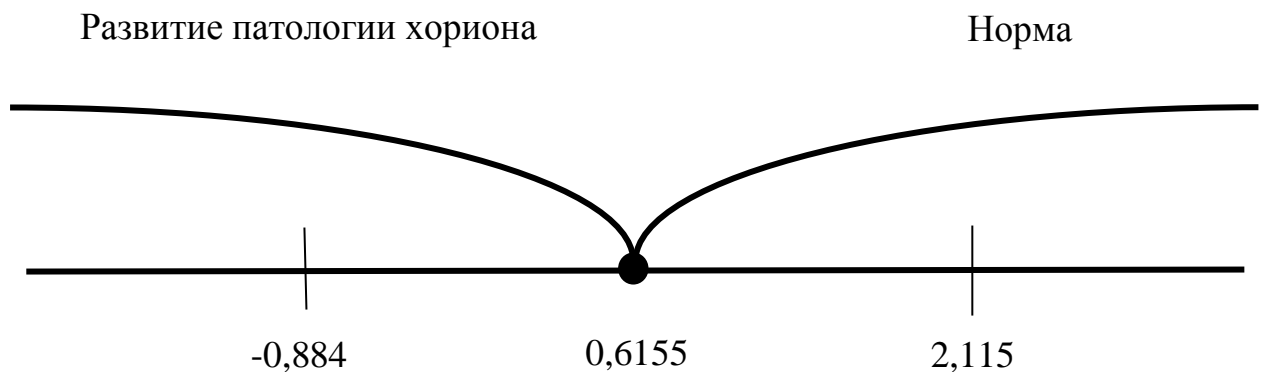


Рисунок 32. Расположение по числовой прямой значений центроидов дискриминантной функции каждой группы третьей математической модели.

Четвертый пошаговый дискриминантный анализ был проведен для поиска значимых показателей, раскрывающих возможные закономерности нарушения формирования плаценты во 2 подгруппе. В качестве независимых переменных были взяты показатели, полученные в экстрактах ворсинчатого хориона: $TNF\alpha$, sTNF-R1, NF-kB, P, E2 и их рецепторы (PR, ER α), 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1. Отбор независимых переменных осуществлялся путем прямого пошагового анализа. Были отобраны следующие показатели: P ($p < 0,001$) и $TNF\alpha$ ($p < 0,001$), о чем свидетельствовало высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,443) и низкое значение Лямбды Уилкса (таблица 13).

Таблица 13 – Оценка значимости дискриминантной функции

Функция	Лямбда Уилкса	Хи-квадрат	Значимость
4	0,803	14,674	$p < 0,001$

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -11,991 - 0,257 \times X_1 + 0,686 \times X_2,$$

где -11,991 – свободный член,

X_1 – показатель уровня P в экстрактах ворсинчатого хориона (количественный показатель),

X_2 – уровень $TNF\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона (количественный показатель).

Были определены значения координат центроидов (чисел, равных значению дискриминантной функции, полученных при подстановке в ее уравнение средних значений P и $TNF\alpha$ в экстрактах ворсинчатого хориона). Функция в центроидах групп представлена в таблице 14.

Таблица 14 – Функция в центроидах групп четвертой математической модели

Патология хориона	Функция 4
Нет	-0,163
Есть	1,463
	Точка разделения: 0,65

На следующем рисунке представлены значения функции в центроидах групп, определять вероятность развития патологии хориона. Вероятность правильности классификации составляет 94,3%.

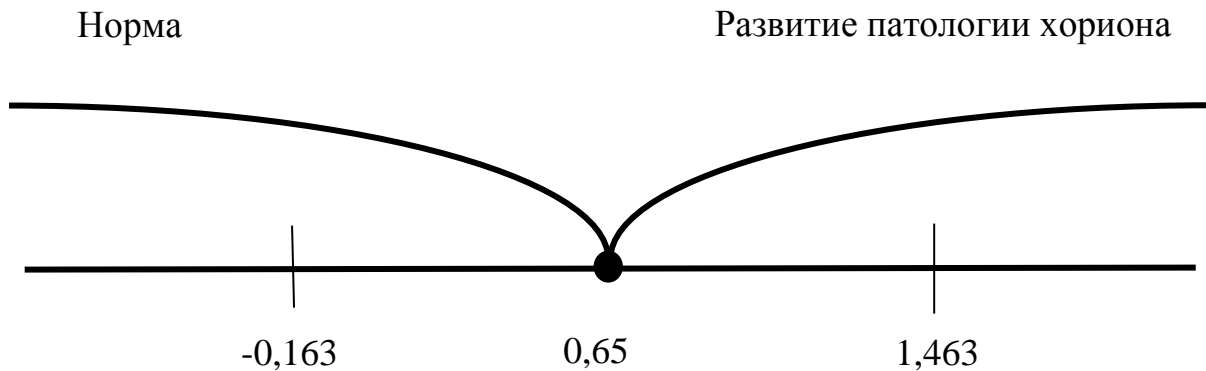


Рисунок 33. Расположение по числовой прямой значений центроидов дискриминантной функции каждой группы четвертой математической модели.

Таким образом, согласно полученным математическим моделям основными предикторами угрозы прерывания беременности у беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией в первом триместре являются увеличение показателей TNF α и его растворимый рецептор sTNF-R1, с латентным течением инфекции – увеличение показателей TNF α и уменьшение P в периферической крови.

Наибольший вклад в развитие патологии хориона у беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией вносит увеличение показателей TNF α и

уменьшение 3β -ГСДГ-1, с латентным течением инфекции – увеличение показателей TNF α и уменьшение количества P в экстрактах ворсинчатого хориона.

4.2. Анализ и оценка относительных рисков угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции на основе клинических, ультразвуковых и гормональных параметров

Исследование показало наличие значимой зависимости угрозы прерывания беременности от активности ЦМВ инфекции в первом триместре беременности (таблица 15). Риск развития угрозы прерывания беременности в 1 подгруппе был в 2,47 раза выше (ОР=2,47; 95% ДИ: 1,667 – 3,655), чем во 2 подгруппе.

Среди клинических признаков угрозы прерывания беременности первое место занимали мажущие кровянистые выделения из половых путей, риск возникновения которых в 1 подгруппе был в 8,11 раз выше (ОР=8,11; 95% ДИ: 3,054 – 21,508), чем во 2 подгруппе. Вероятность возникновения тянущих болей внизу живота также была значимо выше в 3,55 раза выше в 1 подгруппе, чем во 2 подгруппе (ОР=3,55; 95% ДИ: 2,005 – 6,286).

Среди ультразвуковых параметров угрозы прерывания беременности (предлежание хориона, ретрохориальная гематома, гипертонус миометрия) также выявлено, что все они значимо чаще выявлялись в 1 подгруппе. Риск возникновения ретрохориальной гематомы в 1 подгруппе был в 2,95 раза выше (ОР=2,95; 95% ДИ: 1,367 – 6,356), чем во 2 подгруппе, предлежания хориона – в 2,28 раза выше (ОР=2,28; 95% ДИ: 1,243 – 4,174), гипертонуса миометрия – в 2,05 раза (ОР=2,05; 95% ДИ: 1,212 – 3,476).

Оценка риска возникновения гипопрогестерон-эстрогенемии у беременных женщин 1 и 2 подгрупп представлена в таблице 16. Было выявлено, что у 34 (81%) беременных женщин 1 подгруппы показатели P и у 31 (74%) женщин показатели E2 в периферической крови были ниже

минимальных значений контрольной группы. Во 2 подгруппе ниже минимальных значений контрольной группы были показатели Р у 41 (33%) беременной женщины.

Риск возникновения гипопрогестеронемии в 1 подгруппе был в 2,47 раза выше (ОР=2,43; 95% ДИ: 1,716 – 3,454), гипоэстрогенемии – в 2,46 раза выше, чем во 2 подгруппе (ОР=2,46; 95% ДИ: 1,684 – 3,583).

Таблица 15 – Оценка риска угрозы прерывания беременности у беременных женщин 1 подгруппы

Фактор	χ^2	ОР	ДИ 95% (нижняя граница)	ДИ 95% (верхняя граница)
Угроза прерывания беременности	28,46 $p < 0,001$	2,47	1,667	3,655
Клинические параметры угрозы прерывания беременности				
Тянущие боли внизу живота	25,60 $p < 0,001$	3,55	2,005	6,286
Мажущие кровянистые выделения из половых путей	30,27 $p < 0,001$	8,11	3,054	21,508
Ультразвуковые параметры угрозы прерывания беременности				
Предлежание хориона	8,189 $p < 0,05$	2,28	1,243	4,174
Ретрохориальная гематома	8,017 $p < 0,05$	2,95	1,367	6,356
Гипертонус миометрия	8,193 $p < 0,05$	2,05	1,212	3,476

Таблица 16 – Оценка риска уменьшения образования прогестерона и эстрадиола у беременных женщин I подгруппы

Показатель	χ^2	ОР	ДИ 95% (нижняя граница)	ДИ 95% (верхняя граница)
Снижение уровня Р в периферической крови	37,32 $p < 0,001$	2,43	1,716	3,454
Снижение уровня Е2 в периферической крови	31,09 $p < 0,001$	2,46	1,684	3,583
Примечание: p – значимость различий при сравнении беременных с активной ЦМВ инфекцией и ее латентным течением.				

Учитывая полученные результаты, можно заключить, что основными факторами риска угрозы прерывания беременности являются активная ЦМВ инфекция в первом триместре беременности, мажущие кровянистые выделения из половых путей и ретрохориальная гематома. Основными причинами развития данных патологий, возможно, будут являться инициируемые TNF α воспалительные процессы в маточно-хориальной области.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ЦМВ инфекция встречается повсеместно. Она поражает все возрастные группы населения, при этом клинические проявления могут как совсем отсутствовать или быть минимальными, подобными острым респираторным заболеваниям, так и очень тяжелыми, особенно при внутриутробном инфицировании плода. При этом врожденная ЦМВ инфекция может стать причиной выраженного поражения центральной нервной системы, включая венрикуломегалию, микроцефалию и внутричерепные кальцификаты, а также привести к гибели плода как внутриутробно, так и в раннем неонатальном периоде [66, 91, 93, 193]. Серопозитивность к ЦМВ среди женщин репродуктивного возраста в мире колеблется от 35 до практически 100% [42, 88, 188]. Беременности свойственно физиологическое снижение иммунитета для вынашивания полуаллогенного плода, кроме того, в организме матери изменяются обменные и нейроэндокринные процессы, а, следовательно, на фоне беременности возможна как манифестация, так и активация латентно текущей ЦМВ инфекции [8, 9, 72]. Среди акушерской патологии у ЦМВ-серопозитивных беременных преобладают: невынашивание, плацентарная недостаточность, задержка внутриутробного роста плода, а также преждевременные роды [69, 88, 170, 196]. Реактивация инфекции в первом триместре беременности ведет к наиболее тяжелым последствиям [22, 40, 150].

Такое влияние на течение и беременности и развитие плода обусловлено цитопатическим действием ЦМВ на развивающуюся плаценту. ЦМВ усиливает апоптоз в клетках трофобласта. Это происходит не только за счет повышения вирусной нагрузки, так как вирус реплицируется в клетках трофобласта, но и за счет его способности к дисрегуляции нормального цитокинового профиля [123, 126, 150, 154]. Данные изменения могут стать причиной развития плацентарной недостаточности, приводящей к гипоксии плода и задержке его роста. Кроме того, воспалительный процесс в плаценте

приводит к повышению ее проницаемости, а, следовательно, повышается вероятность внутриутробного инфицирования плода [99, 125].

Повреждение формирующейся плаценты ЦМВ становится причиной нарушения ее эндокринной функции: снижается активность 3β - и 20α -гидроксистероиддегидрогеназ и образование эстрогенов [2, 26, 44]. Недостаток эстрогенов в ранние сроки беременности в свою очередь приводит к нарушению имплантации, плацентации, а также трансформации кровеносных сосудов, что может являться причиной самопроизвольного прерывания беременности [113, 197].

Таким образом, выявление причинно-следственных взаимосвязей в системе иммуно-гормональной регуляции позволит раскрыть причины нарушения формирования плаценты, определяющие угрозу прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции.

В связи с этим, целью диссертационного исследования явилось установление иммуно-гормональных закономерностей нарушения формирования плаценты в патогенезе осложнений первого триместра беременности при ЦМВ инфекции.

Для достижения поставленной цели и задач было проведено проспективное исследование 192 беременных женщин при сроке беременности 6-12 недель. На первом этапе исследования женщины были разделены на две группы: ЦМВ-серопозитивные – 165 человек (средний возраст $23,3 \pm 2,3$ года) и ЦМВ-серонегативные – 27 человек (средний возраст $23,1 \pm 2,1$ года). На втором этапе беременные первой группы были разделены на две подгруппы: женщины с активной ЦМВ инфекцией – 42 случая и с латентным ее течением – 123 случая. Все исследуемые беременные женщины были сопоставимы по анамнестическим и физикальным данным.

О реактивации ЦМВ инфекции в первом триместре беременности судили по серологическим маркерам активной репликации ЦМВ в периферической крови: наличию антител Ig M к ЦМВ, высокого титра антител Ig G, индекса avidности Ig G более 65%, а также по выявлению ДНК

ЦМВ методом ПЦР в содержимом цервикального канала и в моче. Латентная ЦМВ инфекция диагностировалась по низкому титру антител Ig G, индексу avidности Ig G более 65%, наличию или отсутствию ДНК ЦМВ в буккальном эпителии.

Для осуществления поставленной цели и задач были использованы стандартные общеклинические методы обследования (сбор анамнеза, жалобы, общее физикальное обследование органов и систем, осмотр акушером-гинекологом, клинико-лабораторное обследование, ультразвуковое исследование органов малого таза и консультация узких специалистов по показаниям) в соответствии с приказом «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)», утвержденным приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации 01.11.2012г. №572н. Кроме того, были проведены дополнительные лабораторные методы обследования, необходимые для изучения TNF-зависимого воспалительного ответа, гормонального фона и особенностей строения хориона. Анализ межгрупповых различий для независимых выборок по каждому из нормально распределенных количественных признаков проводили параметрическими критериями: t-критерий Стьюдента и Фишера (F-test). Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Для оценки значимости различий относительных показателей в двух независимых исследуемых группах использовали критерий χ^2 Пирсона, при значении абсолютных частот в таблицах сопряженности меньше 10, использовался критерий с поправкой χ^2 Йейтса. Для оценки ОР использовались четырехпольные таблицы сопряженности с 95% ДИ. Для анализа зависимости признаков использовали корреляционный анализ Пирсона. Различия во всех случаях оценивали, как статистически значимые при $p < 0,05$. Для оценки взаимосвязей между исследуемыми иммуно-гормональными, клинико-морфологическими и ультразвуковыми параметрами использовали построение корреляционной

сети. Поиск наиболее значимых прогностических показателей проводился с помощью дискриминантного анализа.

По имеющимся сведениям, уровень серопозитивности к ЦМВ может стать причиной раннего прерывания беременности, что связывают не только с риском прямого инфицирования эмбриона и плаценты, но и ЦМВ-зависимой индукцией воспалительных процессов и каскада апоптотических реакций в маточно-хориальной области, ограничивающих трансформацию маточных артерий, дифференцировку и васкулогенез ворсин [99]. Экспериментально доказано влияние ЦМВ на цитокиновый профиль плаценты, связанный с продукцией TNF α [126]. При этом усиление продукции TNF α при инфекционно-воспалительных заболеваниях у женщин часто связывают с неблагоприятным течением и исходом беременности [136, 181, 183, 198].

Вместе с тем, молекулярные механизмы, раскрывающие влияние особенностей течения ЦМВ инфекции в первом триместре беременности на развитие TNF-зависимого воспаления в плаценте на этапах ее формирования и его вклад в развитие угрожающего течения первого триместре беременности, остается не ясным, что определило цели и задачи диссертационного исследования.

На первом этапе нами был исследован уровень серопревалентности к ЦМВ и установлена изменчивость основных медиаторов TNF-зависимого воспалительного ответа (TNF α , NF- κ B, sTNF-R1) в периферической крови и экстрактах ворсинчатого хориона у женщин с активной инфекцией и латентным течением в первом триместре беременности, что позволило выявить следующие закономерности.

У беременных женщин с активной инфекцией в первом триместре беременности в периферической крови выявлены антитела Ig M и высокоавидные антитела Ig G (титр антител 1:1600-1:3200). Индекс авидности Ig G был ниже, чем у беременных женщин с латентной инфекцией, и составил $91,20 \pm 1,31\%$ ($p < 0,05$). В ходе ПЦР-анализа у 33% беременных женщин данной подгруппы выявлена ДНК ЦМВ в содержимом

цервикального канала, что указывало на возможность вертикальной передачи вируса, увеличивающей риск инфицирования эмбрио-хориальной области. В остальных случаях (67%) ДНК ЦМВ выявлена в образцах мочи, что свидетельствовало о гематогенном пути инфицирования маточно-хориальной области. Исследование проб плацентарного материала, полученного при инструментальной ревизии полости матки после самопроизвольного аборта у этих беременных женщин, подтвердило наличие ДНК ЦМВ во всех пробах хориального материала.

У беременных женщин с латентным течением инфекции в крови были выявлены только антитела Ig G к ЦМВ (титр 1:400-1:800), индекс авидности составил $98,10 \pm 1,16$ %. ДНК ЦМВ выявлялся в соскобе с буккального эпителия у 17% женщин, что свидетельствовало о хронической инфекции. В пробах плацентарного материала, полученных при добровольном прерывании беременности, ДНК ЦМВ выявлено не было.

Дальнейшие исследования, проведенные в подгруппах беременных женщин, показали различия в характере развития воспалительного ответа в условиях активной и латентной ЦМВ инфекции. У беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией показатели активности NF-kB были выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в периферической крови (в 2,66 раза и в 2,24 раза, $p < 0,001$, соответственно) относительно контрольной группы. Показатели TNF α имели аналогичные изменения – были значимо выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в периферической крови (в 5,49 раза и 5,33 раза, $p < 0,001$, соответственно), а sTNF-R1 был выше в экстрактах ворсинчатого хориона (в 2,66 раза, $p < 0,001$).

Установленные закономерности указывают на то, что у женщин с активной ЦМВ инфекцией маточно-хориальная область вовлекается в воспалительный процесс, индуцируемый TNF α через NF-kB сигнальный путь и поддерживаемый sTNF-R1. Такие нарушения, по данным авторов, являются причиной повреждения хориона и эндокринных расстройств, определяющих

в последующем эмбриохориальную недостаточность и неблагоприятный исход беременности [126].

В подгруппе беременных женщин с латентной инфекцией было выявлено равнозначное увеличение показателей TNF α как в периферической крови, так и в экстрактах ворсинчатого хориона (в 1,8 раза и в 1,7 раза, $p < 0,001$, соответственно), без значимых изменений показателей NF-kB и sTNF-R1 ($p > 0,05$ соответственно), что указывало на иммуномодулирующую роль цитокина в процессах, определяющих дальнейшее развитие беременности.

Следовательно, TNF α можно рассматривать как цитокин, обладающий иммуномодулирующими и провоспалительными свойствами, проявление которых у беременных женщин в первом триместре беременности имеет дозозависимый эффект, определяемый формой ЦМВ инфекции, что было подтверждено корреляционным анализом.

В подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией выявлены прямые высокие корреляционные связи между TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,83$, $p < 0,01$), NF-kB в периферической крови ($r = 0,80$, $p < 0,01$), уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,83$, $p < 0,01$); TNF α и NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,90$, $p < 0,01$), уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,82$, $p < 0,01$); уровнем антител Ig M к ЦМВ и NF-kB в периферической крови ($r = 0,83$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,86$, $p < 0,01$), TNF α и sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,83$, $p < 0,01$); sTNF-R1 и NF-kB в периферической крови ($r = 0,83$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,90$, $p < 0,01$).

В подгруппе беременных женщин с латентной инфекцией выявлена высокая прямая корреляционная зависимость между TNF α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,71$, $p < 0,01$).

По результатам корреляционного анализа можно заключить, что активная ЦМВ инфекция, в отличие от ее латентной формы, инициирует развитие локального воспалительного ответа в маточно-хориальной области через активацию сигнального NF-kB пути, усиливающего продукцию TNF α и sTNF-R1, что является одной из причин нарушения обменной и гормонообразовательной функции плаценты на этапе ее формирования в первом триместре беременности.

Доказанной является связь низких показателей эстрогенов с высокими показателями TNF α в периферической крови в период патологической беременности и, наоборот [159, 187]. По другим данным, изменение провоспалительных эффектов NF-kB и транскрипция генов-мишеней воспалительного ответа контролируется Р и E2 через геномные и не геномные сигнальные пути посредством связи лиганда (Р или E2) с цитоплазматическими или ядерными формами рецепторов PR и ER α [145, 161, 176]. Развитие ответной реакции через прогестрон- и эстроген-чувствительные гены в трофобласте усиливает образование целого ряда молекулярных посредников (ростовые факторы (VEGF, PlGF), оксид азота и др.), участвующих в регуляции пролиферации, миграции и инвазии трофобласта, а также дифференцировке и васкулогенезе ворсин хориона, что поддерживает адекватный обмен веществ и газов для растущего эмбриона [21, 151].

По нашим данным, в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией показатели Р как в периферической крови, так и в экстрактах ворсинчатого хориона (в 1,5 раза, $p < 0,001$, соответственно), и PR в экстрактах ворсинчатого хориона были значимо низкими (в 1,9 раза, $p < 0,001$) относительно контрольной группой. В подгруппе с латентным течением инфекции уменьшение показателей было характерно только для Р как в периферической крови, так и в экстрактах ворсинчатого хориона (в 1,2 раза, $p < 0,001$, соответственно).

Анализ содержания E2 показал, что его уровень изменялся только в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией. При этом более низкие его показатели были выявлены в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в периферической крови, относительно контрольной группы (в 1,6 раза, $p < 0,001$, и в 1,4 раза, $p < 0,05$, соответственно). Показатели рецептора ER α в экстрактах ворсинчатого хориона также были низкими в данной подгруппе женщин (в 1,4 раза, $p < 0,05$).

Поиск корреляционных взаимосвязей подтвердил наличие многомерных внутри- и межсистемных связей между показателями специфического иммунного ответа к ЦМВ, маркерами воспаления и гормональных нарушений в исследуемых подгруппах, указывающих на изменчивость в системах регуляции процессов, напрямую связанных с формированием плаценты. В подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией выявлена высокая прямая корреляционная зависимость между P и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,75$, $p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = 0,75$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,72$, $p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,78$, $p < 0,01$); PR в экстрактах ворсинчатого хориона и E2 в периферической крови ($r = 0,77$, $p < 0,01$), E2 ($r = 0,79$, $p < 0,01$) и ER α ($r = 0,82$, $p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона; E2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,74$, $p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,77$, $p < 0,01$); E2 и ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79$, $p < 0,01$). Высокая обратная корреляционная зависимость выявлена между TNF α и P ($r = -0,74$, $p < 0,01$), E2 ($r = -0,81$, $p < 0,01$) в периферической крови; TNF α и P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,75$, $p < 0,01$), E2 ($r = -0,73$, $p < 0,01$), PR ($r = -0,70$, $p < 0,01$) и ER α ($r = -0,81$, $p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона; sTNF-R1 и E2 в периферической крови ($r = -0,76$, $p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74$, $p < 0,01$); уровнем антител Ig M к ЦМВ и P в периферической крови ($r = -0,74$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,73$, $p < 0,01$),

E2 в периферической крови ($r = -0,78, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,80, p < 0,01$).

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена между P и E2 в периферической крови ($r = 0,69, p < 0,01$); средняя обратная корреляционная зависимость – между PR в экстрактах ворсинчатого хориона и уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = -0,68, p < 0,01$).

В подгруппе беременных женщин с латентной инфекцией выявлена высокая прямая корреляционная зависимость между P в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79, p < 0,01$); обратная корреляционная зависимость – между P и TNF α в периферической крови ($r = -0,73, p < 0,01$); PR в экстрактах ворсинчатого хориона и TNF α в периферической крови ($r = -0,78, p < 0,01$); E2 и TNF α в периферической крови ($r = -0,72, p < 0,01$).

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена между P в периферической крови и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,64, p < 0,01$); обратная корреляционная зависимость – между P и TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66, p < 0,01$); PR и TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,60, p < 0,01$); E2 и TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69, p < 0,01$).

Выявленные закономерности позволяют заключить, что наличие обратной связи между показателями TNF α , sTNF-R1, P, E2, PR и ER α в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией может свидетельствовать о взаимообусловленном нарушении регуляции внутриклеточных сигнальных путей, поддерживающих гормоногенез. Все это может явиться причиной локального воспаления и патологии маточно-хориальной области в условиях активной ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. В подгруппе с латентным течением инфекции связь уровней TNF α , P и E2 также может указывать на модулирующую роль цитокина в эффективности участия

гормонов в процессах, контролирующих формирование ворсин хориона и васкулогенез.

Для доказательства нарушения процессов прогестерон- и эстрогеногенеза в ворсинчатом хорионе при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности нами была проведена оценка активности основных гистохимических маркеров – 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1. В ходе гистохимического исследования выявлено зависимое от активности ЦМВ инфекции изменение интенсивности окраски продуктов реакции на 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1, которое отчетливо выявлялось в трофобласте ворсин хориона относительно контрольной группы, что подтверждает выявленную изменчивость показателей Р и Е2 в периферической крови и в экстрактах ворсинчатого хориона. По данным цитофотометрического анализа, в подгруппе женщин с активной ЦМВ инфекцией показатели 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 равнозначно уменьшались (в 1,4 раза, $p < 0,001$, соответственно) относительно контрольной группы. В подгруппе женщин с латентным течением инфекции значимо уменьшались только показатели 17β -ГСДГ-1 (в 1,1 раза, $p < 0,001$).

Вполне очевидно, что в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией низкая активность 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ограничивает образование Р и Е2 и их поступление в материнский кровоток. Причиной эндокринных расстройств, вероятно, служит вовлечение маточно-плацентарной области в воспалительный процесс, поддерживаемый активной ЦМВ инфекцией и высоким уровнем TNF α , что приводит к эмбрио-хориальной недостаточности и неблагоприятному исходу беременности. Латентная инфекция характеризуется менее выраженной изменчивостью в продукции ворсинчатым хорионом гормонов, что определяется уменьшением уровня Р и адекватным сроку беременности уровнем Е2 и менее значимым снижением активности 17β -ГСДГ-1.

Представленные факты подтверждаются результатами корреляционного анализа, согласно которому в подгруппе беременных

женщин с активной ЦМВ инфекцией выявлены прямые корреляционные связи между 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P в периферической крови ($r = 0,74, p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,70, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = 0,79, p < 0,01$); 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и P в периферической крови ($r = 0,84, p < 0,01$), P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,86, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = 0,85, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,81, p < 0,01$). Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена между 3β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе и P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,69, p < 0,01$).

В подгруппе беременных женщин с латентным течением инфекции выявлены высокие прямые корреляционные связи между 17β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, P ($r = 0,81, p < 0,01$) и E2 ($r = 0,85, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона.

Дальнейший корреляционный анализ, проведенный в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией, выявил высокую обратную связь между sTNF-R1 в ворсинчатом хорионе, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,77, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,87, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе; TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,70, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,88, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе; NF-kB в экстрактах ворсинчатого хориона, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,78, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,93, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе; уровнем антител Ig M к ЦМВ, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,72, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,83, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе.

В подгруппе беременных женщин с латентным течением инфекции выявлены высокие обратные корреляционные связи между TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона, 3β -ГСДГ-1 ($r = -0,71, p < 0,01$) и 17β -ГСДГ-1 ($r = -0,72, p < 0,01$) в ворсинчатом хорионе. Средние прямые корреляции между показателями P в периферической крови и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,64, p < 0,01$); обратные корреляции между TNF α

в экстрактах ворсинчатого хориона, Р в периферической крови ($r = -0,68$, $p < 0,01$) и PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67$, $p < 0,01$).

С учетом вышеизложенных фактов был проведен анализ клинико-морфологических и ультразвуковых параметров в исследуемых подгруппах беременных женщин. Было установлено, что угроза прерывания беременности в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией встречалась в 10 раз чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. В 8 раз чаще ($p < 0,001$) проявлялась тянущими болями внизу живота, в 9 раз чаще ($p < 0,001$) предлежанием хориона и в 6 раз чаще ($p < 0,001$) гипертонусом миометрия. В контрольной группе мажущих кровянистых выделений из половых путей и ретрохориальной гематомы выявлено не было.

В подгруппе беременных женщин с латентным течением инфекции угроза прерывания беременности выявлялась в 4 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. Жалобы на тянущие боли внизу живота были в 2 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе. У 5,7% женщин были мажущие кровянистые выделения из половых путей и в 9,8% случаев была выявлена ретрохориальная гематома. Предлежание хориона встречалось в 4 раза чаще ($p < 0,001$), гипертонус миометрия в 3 раза чаще ($p < 0,001$), чем в контрольной группе.

При гистологическом исследовании препаратов ворсинчатого хориона у женщин с активной ЦМВ инфекцией выявлялись признаки локального воспаления, которые характеризовались наличием зон инфильтрации и отека стромы промежуточных ворсин. В ворсинах значительно увеличивалось количество плацентарных макрофагов, которые были часто увеличены в размерах, ядра пикнотизированы, что свидетельствовало об ослаблении их регуляторной роли, обуславливающей инициацию воспалительных реакций и апоптоз трофобласта ворсин хориона. В этих условиях отмечалась общая структурная дезорганизация хориона и нарушение дифференцировки ворсин. Ворсины были различной формы и размеров, аваскуляризованными или гиповаскуляризованными (1-2 капилляра) с нарушенной локализацией

сосудов и не соответствующие сроку беременности (часто встречались вторичные мезенхимальные ворсины).

По-видимому, выявленные морфологические изменения хориона у женщин с активной ЦМВ инфекцией, могут быть обусловлены восходящим инфицированием хориона, что подтверждается данными ПЦР-анализа. В остальных случаях инфицирование хориальной области происходило гематогенным путем. Также не исключается смешанный тип инфицирования хориона.

Следовательно, для подгруппы женщин с активной ЦМВ инфекцией характерным морфологическим признаком, но не специфическим, является патология хориона (задержка дифференцировки и васкулогенеза ворсин) и, как следствие, расстройства эмбрио-плацентрного кровотока, что негативно влияет на дальнейшее развитие беременности и приводит к самопроизвольному аборту.

На полутонких срезах ворсинчатого хориона от женщин с латентным течением инфекции в строме ворсин выявлялись макрофаги с увеличенным количеством гранул.

Структура ворсин хориона соответствовала сроку беременности. Встречались третичные мезенхимальные ворсины и гиповаскуляризованные промежуточные ворсины. В строме васкуляризованных ворсин капилляры располагались преимущественно в парацентральной и центральной зонах. В более крупных центрально расположенных сосудах просветы были пусты и расширены. При этом количество капилляров в васкуляризованных ворсинах не соответствовало сроку беременности (2-3 капилляра).

Таким образом, несмотря на отсутствие нарушений дифференцировки ворсин хориона в подгруппе женщин с латентным течением инфекции отмечаются признаки задержки васкулогенеза.

Полученные результаты ультразвукового и морфологического исследования ворсинчатых хорионов укладываются в предположение о том, что ЦМВ инфекция является причиной ранних осложнений беременности

[19, 64, 182, 189] через нарушение баланса локальных и общих иммуногормональных механизмов [14, 33], создавая дополнительные неблагоприятные условия для ее развития [56]. По некоторым данным, воспалительные изменения при самопроизвольных абортах регистрируются в 59-90% соскобов из полости матки [1, 56, 57].

Корреляционный анализ подтверждает выдвинутые предположения. В подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией выявлена высокая прямая корреляционная зависимость между угрозой прерывания беременности, TNF α в периферической крови ($r = 0,73, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,74, p < 0,01$), sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,73, p < 0,01$), NF-kB в периферической крови ($r = 0,74, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76, p < 0,01$), уровнем антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,75, p < 0,01$); тянущими болями внизу живота, TNF α в периферической крови ($r = 0,75, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,81, p < 0,01$), sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,78, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76, p < 0,01$), NF-kB в периферической крови ($r = 0,80, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,84, p < 0,01$), уровнем антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,82, p < 0,01$); мажущими кровянистыми выделениями из половых путей, TNF α в периферической крови ($r = 0,79, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,85, p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,83, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76, p < 0,01$), NF-kB в периферической крови ($r = 0,79, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,87, p < 0,01$), уровнем антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,75, p < 0,01$); предлежанием хориона, TNF α в периферической крови ($r = 0,74, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,77, p < 0,01$), показателями sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,72, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,76, p < 0,01$), показателями NF-kB в периферической крови ($r = 0,77, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого

хориона ($r = 0,83, p < 0,01$), показателями уровня антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,73, p < 0,01$); ретрохориальной гематомой, NF-kB в периферической крови ($r = 0,78, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79, p < 0,01$), sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,72, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,75, p < 0,01$); гипертонусом миометрия, TNF α в периферической крови ($r = 0,77, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,84, p < 0,01$), sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,79, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,78, p < 0,01$), NF-kB в периферической крови ($r = 0,85, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,79, p < 0,01$), уровнем антител IgM к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,78, p < 0,01$). Высокая обратная корреляционная зависимость между угрозой прерывания беременности, 3 β -ГСДГ-1 ($r = -0,76, p < 0,01$) и 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,73, p < 0,01$); тянущими болями внизу живота, P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,83, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,81, p < 0,01$); мажущими кровянистыми выделениями из половых путей, P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,73, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,77, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,81, p < 0,01$); предлежанием хориона, P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,71, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,72, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,76, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,78, p < 0,01$); наличием ретрохориальной гематомы, ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,74, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,75, p < 0,01$); гипертонусом миометрия, P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,71, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,73, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,77, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,79, p < 0,01$).

Средняя прямая корреляционная зависимость выявлена между угрозой прерывания беременности и sTNF-R1 в периферической крови ($r = 0,63$, $p < 0,01$); ретрохориальной гематомы, TNF α в периферической крови ($r = 0,68$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,69$, $p < 0,01$), уровнем антител Ig M к ЦМВ в периферической крови ($r = 0,67$, $p < 0,01$); обратная корреляционная зависимость – между угрозой прерывания беременности, P в периферической крови ($r = -0,62$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,63$, $p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,68$, $p < 0,01$) и экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,64$, $p < 0,01$), ER α ($r = -0,63$, $p < 0,01$); тянущими болями внизу живота, P в периферической крови ($r = -0,65$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66$, $p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69$, $p < 0,01$), 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,65$, $p < 0,01$); мажущими кровянистыми выделениями из половых путей, P в периферической крови ($r = -0,64$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66$, $p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67$, $p < 0,01$), 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,60$, $p < 0,01$); предлежанием хориона, P в периферической крови ($r = -0,61$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,63$, $p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68$, $p < 0,01$), 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,56$, $p < 0,01$); наличием ретрохориальной гематомы, P в периферической крови ($r = -0,62$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,65$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,66$, $p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,69$, $p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,68$, $p < 0,01$), 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,57$, $p < 0,01$); гипертонусом миометрия, P в периферической крови ($r = -0,62$, $p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67$, $p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,69$, $p < 0,01$), 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,57$, $p < 0,01$).

В подгруппе беременных женщин с латентным течением инфекции выявлена высокая обратная корреляционная зависимость выявлена между угрозой прерывания беременности, P в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), PR ($r = -0,83, p < 0,01$), E2 ($r = -0,78, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,77, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона; тянущими болями внизу живота и E2 в периферической крови ($r = -0,71, p < 0,01$); гипертонусом миометрия, PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,80, p < 0,01$).

Средняя прямая корреляционная зависимость – между угрозой прерывания беременности, TNF α в периферической крови ($r = 0,62, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,50, p < 0,01$); тянущими болями внизу живота, TNF α в периферической крови ($r = 0,52, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,43, p < 0,01$); предлежанием хориона, TNF α в периферической крови ($r = 0,44, p < 0,01$); наличием ретрохориальной гематомы, TNF α в периферической крови ($r = 0,41, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,42, p < 0,01$); гипертонусом миометрия, TNF α в периферической крови ($r = 0,53, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = 0,45, p < 0,01$); средняя обратная корреляционная зависимость – между угрозой прерывания беременности, P в периферической крови ($r = -0,55, p < 0,01$), E2 в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,67, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,60, p < 0,01$); тянущими болями внизу живота, P в периферической крови ($r = -0,57, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,51, p < 0,01$), PR ($r = -0,63, p < 0,01$), E2 ($r = -0,55, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,54, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона, 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,64, p < 0,01$); мажущими кровянистыми выделениями из половых путей, E2 в периферической крови ($r = -0,45, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,42, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,46, p < 0,01$); предлежанием хориона, P в периферической крови ($r = -0,41, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,53, p < 0,01$), PR в

экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,60, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,59, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,45, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,56, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,45, p < 0,01$); наличием ретрохориальной гематомы, P в периферической крови ($r = -0,50, p < 0,01$), PR ($r = -0,49, p < 0,01$), E2 ($r = -0,64, p < 0,01$), E2 ($r = -0,48, p < 0,01$) и ER α ($r = -0,41, p < 0,01$) в экстрактах ворсинчатого хориона, 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,62, p < 0,01$); гипертонусом миометрия, P в периферической крови ($r = -0,56, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,57, p < 0,01$), PR в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,72, p < 0,01$), E2 в периферической крови ($r = -0,80, p < 0,01$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,58, p < 0,01$), ER α в экстрактах ворсинчатого хориона ($r = -0,65, p < 0,01$), 17 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе ($r = -0,62, p < 0,01$).

Кроме того, был проведен расчет относительных рисков угрозы прерывания беременности. Вероятность ее возникновения в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией в 2,47 раз выше (95% ДИ: 1,667 – 3,655), чем у беременных женщин с латентным течением инфекции. Среди клинических признаков угрозы прерывания беременности первое место занимают мажущие кровянистые выделения из половых путей, риск их возникновения в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией в 8,11 раз выше, чем у беременных женщин с латентным течением инфекции (95% ДИ: 3,054 – 21,508). Частота возникновения тянущих болей внизу живота в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией также значимо в 3,55 раза выше (95% ДИ: 2,005 – 6,286), чем у беременных женщин с латентным течением инфекции.

При анализе ультразвуковых маркеров угрозы прерывания беременности (предлежание хориона, ретрохориальная гематома, гипертонус миометрия) также выявлено, что все они значимо чаще выявляются в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией, при этом риск

выявления ретрохориальной гематомы в 2,95 раз выше (95% ДИ: 1,367 – 6,356), чем у беременных женщин с латентным течением инфекции. Второе место занимает предлежание хориона, риск выявления данной патологии в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией в 2,28 раз выше (95% ДИ: 1,243 – 4,174), чем у беременных женщин с латентным течением инфекции. Риск выявления гипертонуса миометрия также был в 2,05 раза выше в подгруппе беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией (95% ДИ: 1,212 – 3,476), чем у беременных женщин с латентным течением инфекции.

Дальнейшие наши исследования были направлены на поиск значимых иммуно-гормональных показателей, позволяющих прогнозировать риск угрозы прерывания беременности у беременных женщин с различным течением ЦМВ инфекции. Прямой пошаговый дискриминантный анализ был проведен между зависимым бинарным признаком: наличие или отсутствие угрозы, и независимыми признаками: $TNF\alpha$, sTNF-R1 и NF- κ B, P, E2 и их растворимые рецепторы (ER α , PR) в периферической крови.

В подгруппе с активной ЦМВ инфекцией в ходе пошагового дискриминантного анализа были отобраны следующие показатели: $TNF\alpha$ и sTNF-R1 ($p < 0,001$ соответственно), которые можно считать предикторами угрозы прерывания беременности, о чем свидетельствуют высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,780) и низкое значение Лямбды Уилкса.

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -12,099 + 0,638 \times X_1 + 1,880 \times X_2,$$

где -12,099 – свободный член, X_1 – показатели $TNF\alpha$ в периферической крови, X_2 – показатели sTNF-R1 в периферической крови.

Значения дискриминантной функции в центроидах групп больше -0,556 с вероятностью 88,4% позволяют предсказать возникновение угрозы прерывания беременности у женщин с активной ЦМВ инфекцией.

В подгруппе с латентной ЦМВ инфекцией путем прямого пошагового анализа были отобраны следующие показатели: P и TNF α ($p < 0,001$ соответственно), которые можно считать предикторами угрозы прерывания беременности, о чем свидетельствуют высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,812) и низкое значение Лямбды Уилкса.

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -2,472 + 1,036 \times X_1 - 0,826 \times X_2,$$

где -2,472 – свободный член, X_1 – показатели P в периферической крови, X_2 – показатели TNF α в периферической крови.

Значения дискриминантной функции в центроидах групп больше -0,650 с вероятностью 95,7% позволяют предсказать возникновение угрозы прерывания беременности у женщин с латентным течением инфекции.

Следующие попытки дискриминантного анализа были направлены на поиск значимых показателей, определяющих возможные закономерности развития патологии хориона при различном течении ЦМВ инфекции.

В качестве независимых переменных были взяты серологические показатели, полученные в ходе исследования экстрактов ворсинчатого хориона: TNF α , sTNF-R1, NF-kB, P, E2 и их рецепторы (PR, ER α), гистохимические показатели: 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1.

В подгруппе с активной ЦМВ инфекцией были отобраны следующие показатели: TNF α и 3 β -ГСДГ-1 ($p < 0,001$ соответственно), о чем свидетельствует высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,810) и низкое значение Лямбды Уилкса.

В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = 19,291 + 0,434 \times X_1 - 0,277 \times X_2,$$

где 19,291 – свободный член, X_1 – показатели 3 β -ГСДГ-1 в ворсинчатом хорионе, X_2 – показатели TNF α в экстракте ворсинчатого хориона.

Значения дискриминантной функции с вероятностью 95,8% описывают причины возникновения патологии хориона у женщин с активной ЦМВ инфекцией.

В подгруппе с латентным течением инфекции в ходе пошагового дискриминантного анализа отобраны следующие показатели: TNF α и P ($p < 0,001$ соответственно), о чем свидетельствует высокое значение коэффициента канонической корреляции (0,443) и низкое значение Лямбды Уилкса. В результате проведенного анализа было получено следующее дискриминантное уравнение:

$$D = -11,991 - 0,257 \times X_1 + 0,686 \times X_2,$$

где -11,991 – свободный член, X_1 – показатели P в экстрактах ворсинчатого хориона, X_2 – показатели TNF α в экстрактах ворсинчатого хориона.

Значения дискриминантной функции с вероятностью 94,3% описывают причины возникновения патологии хориона у женщин с латентной инфекцией.

Полученные результаты исследования позволили разработать патогенетическую модель развития угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности (рисунок 34).

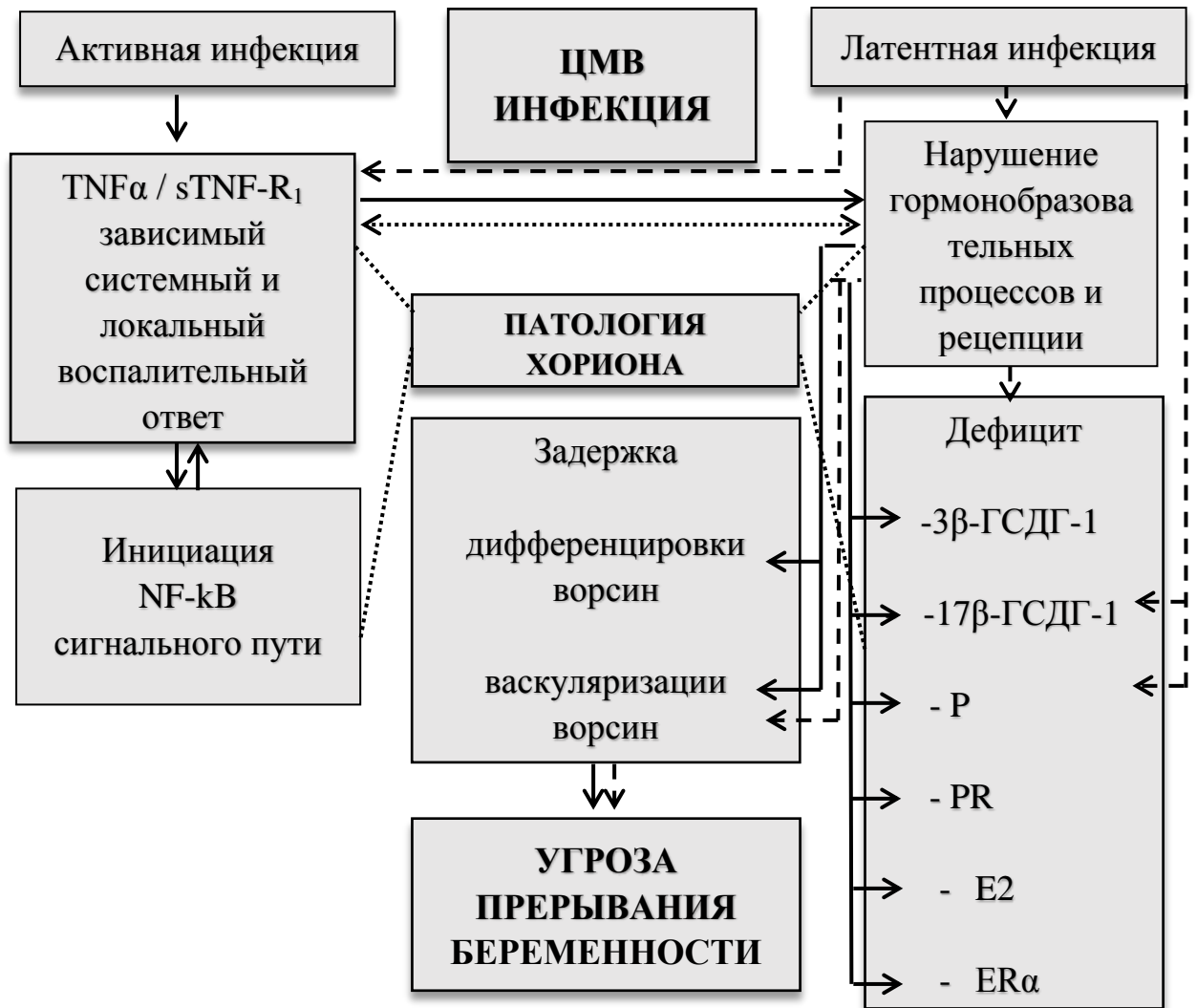


Рисунок 34. Патогенетическая модель развития угрозы прерывания беременности при различном течении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

Таким образом, согласно полученным результатам исследования, основными патогенетическими моментами угрозы прерывания беременности для беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией являются:

- высокий риск инфицирования ворсинчатого хориона (гематогенный или восходящий путь);
- TNF-зависимый системный и локальный воспалительный ответ;
- дефицит P и E2, обусловленный недостаточностью активности 3 β -ГСДГ-1 и 17 β -ГСДГ-1;

- патология формирования хориона (задержка дифференцировки и васкуляризации ворсин), ограничивающая эмбрио-хориальный кровоток.

Для беременных женщин с латентным течением инфекции характерными признаками являются:

- увеличение циркуляции и локального уровня $TNF\alpha$;
- уменьшение циркуляции и локальной продукции P;
- задержка васкуляризации ворсин хориона.

Правильная и своевременная оценка иммуно-гормональных нарушений и особенностей формирования ворсинчатого хориона при ультразвуковом исследовании беременных женщин с ЦМВ инфекцией может уменьшить риск самопроизвольного прерывания беременности, а при сохранении беременности – риск развития плацентарной недостаточности во втором триместре беременности.

ВЫВОДЫ

1. Высокий уровень серопозитивности к ЦМВ у беременных женщин первого триместра с активной инфекцией, подтверждаемый наличием прямых маркеров репликации ЦМВ (антитела Ig M к ЦМВ в периферической крови, ДНК ЦМВ в содержимом цервикального канала или моче), увеличивает риск инфицирования хориона и развития TNF-зависимого воспалительного повреждения, поддерживаемого на системном и локальном уровнях увеличением показателей ядерного транскрипционного фактора NF- κ B, провоспалительного TNF α и его растворимого рецептора sTNF-R1. Латентное течение инфекции характеризуется менее значимым увеличением системного и локального уровня TNF α .

2. Причиной эндокринных расстройств у беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией в первом триместре является уменьшение интенсивности хориальной 3β -ГСДГ-1 и 17β -ГСДГ-1, системного и локального уровня P, E2 и их рецепторов (PR, ER α). У беременных женщин с латентным течением заболевания отмечено уменьшение уровня хориальной 17β -ГСДГ-1, системного и локального уровня P.

3. Морфологические особенности инфицированного ЦМВ хориона у женщин с активной ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности определяются развитием патологий, обусловленных воспалением и характеризующихся задержкой дифференцировки и васкуляризации ворсин. У женщин с латентным течением заболевания отмечаются признаки задержки васкуляризации ворсин хориона.

4. Факторами риска угрозы прерывания беременности являются: наличие активной формы ЦМВ инфекции в первом триместре беременности, развитие клинических симптомов (боли и мажущие кровянистые выделения из половых путей) и ультразвуковые (ретрохориальная гематома) признаки патологии хориона.

5. В результате прогнозных расчетов, выполненных с использованием многофакторного дискриминантного анализа и имеющих высокий уровень предсказательной значимости, основными предикторами угрозы прерывания беременности у женщин с активной ЦМВ инфекцией в первом триместре, являются значимо высокий уровень TNF α и его рецептора sTNF-R1, при латентном течении инфекции – увеличение показателей TNF α и уменьшение P в периферической крови. Наибольший вклад в развитие патологии хориона у беременных женщин с активной ЦМВ инфекцией вносят высокий локальный уровень TNF α и низкие показатели 3 β -ГСДГ-1, при латентном течении инфекции – повышение уровня TNF α и уменьшение показателей P.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Разработанные дискриминантные уравнения могут быть включены в алгоритм диагностики групп женщин высокого риска по развитию угрозы прерывания беременности с целью оказания своевременных лечебных мероприятий.

Может быть рекомендован для внедрения в профильные медицинские учреждения способы прогнозирования угрозы прерывания беременности при цитомегаловирусной инфекции (патент РФ № 2664446) и плацентарной недостаточности во второй половине беременности у ЦМВ-серопозитивных женщин с угрозой невынашивания ранних сроков (патент РФ № 2724395).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВУИ – внутриутробная инфекция

ВПГ – вирус простого герпеса

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ДИ – доверительный интервал

ДГЭА - дегидроэпиандростерон

ДГЭАС - дегидроэпиандростерон-сульфат

16 α -ОН-ДГЭА - 16 α -гидрокси- дегидроэпиандростерон

16 α -ОН-ДГЭАС - 16 α -гидрокси- дегидроэпиандростерон-сульфат

ИМТ – индекс массы тела

ИФА – иммуноферментный анализ

КТР – копчико-теменной размер эмбриона

ОР - относительный риск

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ЦМВ – цитомегаловирус

ЧСС – частота сердечных сокращений

E2 – 17 β -эстрадиол

ER α – рецепторы эстрогена альфа

IL – интерлейкин

IFN γ – интерферон гамма

Ig G – иммуноглобулины класса G

Ig M – иммуноглобулины класса M

NF-kB – транскрипционный ядерный фактор

NK клетки – естественные клетки-киллеры

P - прогестерон

PR – рецепторы прогестерона

PIBF - прогестероиндуцируемый блокирующий фактор

PlGF – плацентарный фактор роста

sTNF-R1 – растворимый рецептор TNF α

TNF α – фактор некроза опухолей альфа

Th-1 – Т-хелперы I класса

Th-2 – Т-хелперы II класса

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

3 β -ГСДГ-1 – 3 β -гидроксистероиддегидрогеназа I типа

17 β -ГСДГ-1 – 17 β -гидроксистероиддегидрогеназа I типа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айрапетов, Д.Ю. Этиологические факторы привычного выкидыша / Д.Ю. Айрапетов //Акушерство и гинекология. – 2011. – №8. – С. 102-106.
2. Андриевская, И.А. Нарушение преобразования андростендиола в плаценте при беременности, осложненной реактивацией цитомегаловирусной инфекции в первом триместре / И.А. Андриевская, Л.Ф. Шолохов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – № 61. – С. 80-83.
3. Арестова, И.М. Особенности ведения беременности при угрозе прерывания беременности, ассоциированной с ретрохориальной гематомой / И.М. Арестова, Н.П. Жукова, Н.И. Киселева, Н.С. Дейкало // В кн.: Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации. Материалы 71-ой научной сессии сотрудников университета, Витебский государственный медицинский университет, 2016. Витебск, 2016. – С. 166-168.
4. Арестова, И.М. Диагностика, лечение и профилактика некоторых инфекций, специфичных для перинатального периода. Особенности подготовки к беременности / И.М. Арестова, Н.И. Киселева, Н.П. Жукова, Н.С. Дейкало // Охрана материнства и детства – 2015. – №1 (25). – С. 41-51.
5. Бабенко, О.П. Морфофункциональная характеристика плаценты при активации цитомегаловирусной инфекции на ранних этапах гестации / О.П. Бабенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 47. – С. 72–76.
6. Бабенко, О.П. Течение беременности у женщин при обострении хронической цитомегаловирусной и герпесвирусной инфекции / О.П. Бабенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. - № 47. – С. 82-86.

7. Беляева, Н.Р. Цитомегаловирусная инфекция и репродуктивное здоровье женщин / Н.Р. Беляева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – Т.65, №4. – С. 24-33.
8. Боровкова, Л.В. Современный взгляд на проблему невынашивания беременности инфекционного генеза / Л.В. Боровкова, С.О. Колобова // Ремедиум Приволжье. – 2016. - №3 (143). – С. 19-24.
9. Быстрицкая, Т.С. Беременность, состояние плода и новорожденного у матерей с рецидивом хронической цитомегаловирусной инфекции / Т.С. Быстрицкая, О.П. Бабенко // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – №1. – С. 56-59.
10. Ведищев, С.И. Современные представления о причинах невынашивания беременности / С.И. Ведищев, А.Ю. Прокопов, У.В. Жабина, Э.М. Османов // Вестник ТГУ. – 2013. – Т.18, №4. – С. 1309-1312.
11. Влияние вирусных инфекций на цитокиновый профиль у беременных женщин с отягощенным акушерским анамнезом и иммунокорригирующая терапия интерфероном альфа2b человека / Р.Р. Климова, В.В. Малиновская, О.В. Паршина [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2013. – Т.58, №1. – С. 18-23.
12. Волков, В.Г. Факторы риска ранних потерь беременности / В.Г. Волков, З.С. Ахильгова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2020. – №14 (1). – С. 66-72.
13. Волчок, Н.В. Ультразвуковая диагностика угрозы прерывания беременности с позиции причин ее возникновения / Н.В. Волчок, О.Г. Дражина // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2014. – №6 (36). – С. 59-73.
14. Воскресенский, С.Л. Содержание прогестерона в крови беременных в I и во II триместрах гестации при неблагоприятном завершении беременности / С.Л. Воскресенский, В.Л. Тришина // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т.66, №4. – С. 32-39.

15. Выявление маркеров вируса простого герпеса и цитомегаловируса в материалах аутопсии плодов и умерших новорожденных / А.А. Адиева, Л.Л. Нисевич, З.С. Гаджиева [и др.] // Детские инфекции. – 2009. – Т.8, №3. – С. 16-22.

16. Гориков, И.Н. Изменение кровотока в маточных артериях и эхоструктуры хориона при хронической цитомегаловирусной инфекции у женщин в I триместре беременности / И.Н. Гориков // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 47. – С. 77-81.

17. Гунько, В.О. Участие фактора NF-K β и его регуляторных белков в развитии осложненной беременности / В.О. Гунько, Т.В. Погорелова, В.А. Линде, Т.Н. Погорелова // Проблемы репродукции. – 2013. – Т.19, №2. – С. 87-90.

18. Довжикова, И.В. Прогестерон в плаценте при беременности, осложненной обострением герпес-вирусной инфекции / И.В. Довжикова // Фундаментальные исследования. – 2010. – №4. – С. 44-49.

19. Довжикова, И.В. Влияние активации персистирующей вирусной инфекции в ранние сроки беременности на продукцию эстрогенов в плаценте / И.В. Довжикова // В кн.: Системный анализ в медицине (САМ 2014). Материалы VIII международной научной конференции. Благовещенск, 2014. Благовещенск: Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания СО РАМН, 2014. – С. 105-109.

20. Довжикова, И.В. Синтез половых стероидных гормонов в плаценте (обзор литературы) / И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. – № 41. – С. 85-88.

21. Довжикова, И.В. Современные представления о роли эстрогенов во время беременности (обзор литературы) / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – № 61. – С. 120-127.

22. Довжикова, И.В. Нарушение активности 20 α -гидроксистероиддегидрогеназы в синцитиотрофобласте ворсинчатого хориона при обострении цитомегаловирусной инфекции во время беременности / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко, К.К. Петрова, Л.Ф. Шолохов // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – № 65. – С. 50-53.

23. Довжикова, И.В. Нарушение преобразования андрогенов при беременности, осложненной реактивацией цитомегаловирусной инфекции в первом триместре / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко // Сибирский медицинский журнал. – 2017. – Т. 148, № 1. – С. 17-19.

24. Довжикова, И.В. Метаболизм прогестерона в плаценте (обзор литературы) / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – № 64. – С. 101-107.

25. Довжикова, И.В. Эстрогены при осложненной герпетической инфекцией беременности ранних сроков / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко, И.А. Андриевская // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – №2 (84), Часть 2. – С. 22-25.

26. Довжикова, И.В. Нарушение преобразования дегидроэпиандростерона в плаценте при беременности, осложненной реактивацией цитомегаловирусной инфекции / И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – № 57. – С. 97-99.

27. Довжикова, И.В. Характер изменений процессов стероидогенеза в плаценте при обострении герпетической инфекции / И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2008. – № 30. – С. 17-21.

28. Довжикова, И.В. Дегидроэпиандростерон и кортизол в плаценте при обострении герпетической инфекции / И.В. Довжикова // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – №1. – С. 52-54.

29. Довжикова, И.В. Нарушение содержания эстрадиола в плаценте ранних сроков беременности при реактивации

цитомегаловирусной инфекции / И.В. Довжикова, М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, Л.Ф. Шолохов // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – №5-4 (36). – С. 62-64.

30. Дорофиенко, Н.Н. Провоспалительные цитокины и состояние эндотелия сосудов пуповины при цитомегаловирусной инфекции / Н.Н. Дорофиенко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина // Сибирский медицинский журнал. – 2015. – Т.132, №1. – С. 58-61.

31. Дьячук, Е.В. Роль активной цитомегаловирусной инфекции в формировании акушерской патологии и поражении плода / Е.В. Дьячук, Н.И. Фадеева, В.М. Гранитов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2011. – №4 (20). – С. 44-51.

32. Инфицирование плаценты при невынашивании беременности / Н.М. Ивахнишина, О.В. Кожарская, О.В. Островская [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – № 56. – С. 88-93.

33. Камилова, М.Я. Изменения плацентарных гормонов и маркеров апоптоза у женщин с угрозой прерывания беременности и отягощенным невынашиванием беременности / М.Я. Камилова, Д.М. Рахматуллоева, С.У. Арабова // Sciences of Europe. – 2017. – №14-1 (14). – С. 45–48.

34. Киселев, О.И. Иммуносупрессия при беременности и риски при вирусных инфекциях / О.И. Киселев // Украинский биохимический журнал. – 2013. – Т. 85, №6. – С. 53-74.

35. Кистенева, Л.Б. Цитомегаловирусная инфекция и беременность: патогенез, диагностика, трактовка результатов обследования, лечение и профилактика / Л.Б. Кистенева, С.Г. Чешик // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2017. – № 3 (20). – С. 70-76.

36. Колпакова, А.Ф. Транскрипционный фактор NF-кВ играет ключевую роль в регуляции генов, участвующих в воспалительных и иммунных реакциях / А.Ф. Колпакова, Р.Н. Шарипов, Ф.А. Колпаков // Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – №3. – С. 7-12.
37. Кочкина, С.С. Особенности цитомегаловирусной инфекции: обзор литературы / С.С. Кочкина, Е.П. Ситникова // Педиатрия. – 2016. – №6 (123). – С. 62–67.
38. Луценко, М.Т. Роль эстрадиола в поддержании фетоплацентарной системы / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – № 61. – С. 75-79.
39. Луценко, М.Т. Цитомегаловирусная инфекция / М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2012. – № 44. – С. 131-136.
40. Луценко, М.Т. Морфофункциональная характеристика формирования связи эмбриона с плацентой при обострении у беременной цитомегаловирусной инфекции / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2013. – № 50. – С. 68-73.
41. Луценко, М.Т. Строение плаценты при физиологически протекающей беременности (обзор литературы) / М.Т. Луценко, И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2009. – № 32. – С. 30-39.
42. Луценко, М.Т. Механизмы формирования гипоксии в период беременности и нарушение кровоснабжения плода при цитомегаловирусной инфекции / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина, А.Г. Мироненко // Вестник РАМН. – 2015. – Т.70, № 1. – С. 106-112.
43. Луценко, М.Т. Энергетический обмен в плаценте и роль нарушений в развитии плацентарной недостаточности при обострении

цитомегаловирусной инфекции / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова // Вестник РАМН. – 2016. – Т.71, №3. – С. 177-182.

44. Луценко, М.Т. Нарушение образования гестагенов и эстрогенов в плаценте при реактивации цитомегаловирусной инфекции / М.Т. Луценко, И.В. Довжикова // В кн.: Актуальные вопросы медицины в современных условиях. Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 2015. Санкт-Петербург: Инновационный центр развития образования и науки, 2015. – С. 21-24.

45. Луценко, М.Т. Гормональная функция плаценты при обострении цитомегаловирусной инфекции в период гестации / М.Т. Луценко, И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2014. – №52. – С.62-67.

46. Мангушева, Я.Р. Цитомегаловирусная инфекция у детей / Я.Р. Мангушева, И.М. Хаертынова, Л.И. Мальцева // Практическая медицина. – 2014. – №7 (83). – С. 11-16.

47. Милованов, А.П. Морфогенез плаценты человека в I триместре беременности / А.П. Милованов, Л.М. Ерофеева, И.А. Золотухина, Н.В. Александрович // Морфология. – 2011. – Т.139, №2. – С. 72–76.

48. Никулин, Л.А. Эхографические маркеры внутриутробной инфекции / Л.А. Никулин, Н.В. Бойко, А.В. Поморцев, М.Г. Кулагина // Успехи современного естествознания. – 2008. – №7. – С. 34-44.

49. Особенности инфицирования плаценты цитомегаловирусом и вирусом простого герпеса второго типа при доношенной беременности / А.П. Надеев, М.А. Травин, А.Н. Дробинская [и др.] // Медицина и образование в Сибири. – 2015. – №3. – С. 83.

50. Петров, Ю.А. Риски для беременной и плода при цитомегаловирусной инфекции / Ю.А. Петров, А.Е. Блесманович, А.Г. Алехина // Главный врач. – 2019. – №1 (65). – С. 15-18.

51. Перетятко, Л.П. Васкуляризация ворсин хориона в первом триместре беременности при физиологическом течении и привычном невынашивании на фоне хронического эндометрита / Л.П. Перетятко, Н.В. Фатеева, Р.А. Кузнецова, А.И. Малышкина // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2017. – Т.25, №4. – С. 612-620.

52. Потапов, В.П. Факторы риска и цитоморфологическая характеристика хориона в генезе самопроизвольного прерывания беременности в первом триместре / В.П. Потапов, О.Г. Пекарев, А.П. Надеев // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2012. – №3. – С. 39-44.

53. Послова, Л.Ю. Клинико-эпидемиологическая и этиологическая характеристика внутриутробных инфекций / Л.Ю. Послова // Медицинский альманах. – 2016. – №3 (43). – С. 26-31.

54. Рюмин, А.М. Цитомегаловирус как возбудитель внутриутробной инфекции / А.М. Рюмин, О.Л. Соболевская, Д.М. Собчак // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. – 2017. – №33. – С. 89-94.

55. Сабыр кызы, А. Оценка факторов риска врожденных пороков развития при внутриутробной инфекции у детей / А. Сабыр кызы, Т.М. Бектурсунов // Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева. – 2016. – №4. – С. 94-100.

56. Салтыганов, И.Ж. Гистологическое исследование соскобов полости матки при самопроизвольных выкидышах / И.Ж. Салтыганов, С.Т. Осмоналиева // Медицина Кыргызстана. – 2018. – №2. – С. 55-58.

57. Сидельникова, В.М. Невынашивание беременности – современный взгляд на проблему / В.М. Сидельникова // Акушерство и гинекология. – 2007. – №5. – С.24-27.

58. Смирнова, А.И. Роль цитомегаловирусной инфекции в акушерской патологии и неонатологии / А.И. Смирнова, Е.В. Россихина, Н.С. Дюпина // Вятский медицинский вестник. – 2010. – №4. – С. 41-47.
59. Смирнова, Т.Л. Плацента. Этапы развития / Т. Л. Смирнова // Вестник Чувашского университета. – 2009. – №2. – С. 73-79.
60. Татарова, Н.А. Роль прогестерона в имплантации и ранней беременности / Н.А. Татарова, М.С. Айрапетян // Гинекология. – 2014. – Т.16, №1. – С. 66-68.
61. Тебелев, Б.Г. Основные причины и способы профилактики ранних репродуктивных потерь / Б.Г. Тебелев, И.Е. Рогожина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2011. – №3. – С. 593-598.
62. Халецкая, О.В. Состояние здоровья детей первого года жизни в зависимости от срока инфицирования цитомегаловирусом / О.В. Халецкая, М.А. Сулова, А.С. Погодина, Е.Е. Яцышина // Медицинский альманах. – 2018. – №3 (54). – С. 84-89.
63. Чехонацкая, М.Л. Ультразвуковая диагностика самопроизвольного выкидыша в первом триместре беременности / М.Л. Чехонацкая, Л.К. Василевич, Е.А. Колесникова, Н.О. Петросян // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2013. – №4. – С. 652-656.
64. Чешик, С.Г. Цитомегаловирусная инфекция и спонтанные аборт у женщин в I и II триместрах беременности / С.Г. Чешик, Л.Б. Кистенева // Вопросы вирусологии. – 2016. – №61 (2). – С. 74–78.
65. Шиканова, С.Ю. Морфофункциональные изменения плаценты при цитомегаловирусной инфекции / С.Ю. Шиканова // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2015. – №2 (46). – С. 158-160.
66. Щербак, В.А. Цитомегаловирусная инфекция у новорожденных: необходимость смены устоявшихся представлений / В.А. Щербак, Н.Г. Попова, Н.Н. Степанова // Вопросы практической педиатрии. – 2015. – Т.10, №1. – С. 45-53.

67. Abdullahi Nasir, I. Clinical significance of Ig G avidity testing and other considerations in the diagnosis of congenital cytomegalovirus infection: a review update / I. Abdullahi Nasir, A. Babayo, M.S. Shehu // *Med Sci (Basel)*. – 2016. – Vol. 4, №1. – P. 5.
68. Abu-Raya, B. Maternal immunological adaptation during normal pregnancy / B. Abu-Raya, C. Michalski, M. Sadarangani, P.M. Lavoie // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P. 575197.
69. Adams Waldorf, K.M. Influence of infection during pregnancy on fetal development / K.M. Adams Waldorf, R.M. McAdams // *Reproduction*. – 2013. – Vol. 146, №5. – P. R151-R162.
70. Alcendor, D. J. Human vascular pericytes and cytomegalovirus pathobiology / D.J. Alcendor // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, №6. – P. 1456.
71. An immune clock of human pregnancy / N.Aghaeepour, E.A. Ganio, D. Mcilwain [et al.] // *Sci. Immunol.* – 2017. – Vol. 2, №15. – P. 2946.
72. Angelova, M. Cytomegalovirus infection during pregnancy and its impact on the uterine fetal development – case report / M. Angelova, E. Kovachev, N. Todorov // *Open Access Maced J. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 4, №3. – P. 449-452.
73. A Placental pericytes and cytomegalovirus infectivity: Implications for HCMV placental pathology and congenital disease / D.M. Aronoff, H. Correa, L.M. Rogers [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2017. – Vol. 78, №3. – P. 1111-12728.
74. APOBEC3A is upregulated by human cytomegalovirus (HCMV) in the maternal-fetal interface, acting as an innate anti-HCMV effector / Y. Weisblum, E. Oiknine-Djian, Z. Zakay-Rones [et al.] // *J. Virol.* – 2017. – Vol. 91, №23. – P. 01296-17.
75. Arora, N. Microbial vertical transmission during human pregnancy / N. Arora, Y. Sadovsky, T.S. Dermody, C.B. Coyne // *Cell. Host. Microbe*. – 2017. – Vol. 21, №5. – P. 561-567.

76. Association of TNF α genetic polymorphisms with recurrent pregnancy loss risk: a systematic review and meta-analysis / H.H. Li, X.H. Xu, J. [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 14. – P. 6.
77. Association of late second trimester miscarriages with placental histology and autopsy findings / H. Odendaal, C. Wright, L. Brink [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2019. – Vol. 243. – P. 32-35.
78. Azizieh, F.Y. Tumor necrosis factor- α and pregnancy complications: a prospective study / F.Y. Azizieh, R.G. Raghupathy // *Med. Princ. Pract.* – 2015. – Vol. 24, №2. – P. 165-170.
79. Biosensors for detection of human placental pathologies: a review of emerging technologies and current trends / J. Liu, B. Mosavati, A.V. Oleinikov, E. Du // *Transl. Res.* – 2019. – Vol. 213. – P. 23-49.
80. Bommer, I. Progesterone and estradiol exert an inhibitory effect on the production of anti-inflammatory cytokine IL-10 by activated MZ B cells / I. Bommer, D.O. Muzzio, M. Zygmunt, F. Jensen // *J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 116. – P. 113-116.
81. Buxmann, H. Primary human cytomegalovirus (HCMV) infection in pregnancy / H. Buxmann, K. Hamprecht, M. Meyer-Wittkopf, K. Friese // *Dtsch. Arztebl. Int.* – 2017. – Vol. 114, №4. – P. 45-52.
82. Can membrane progesterone receptor α on T regulatory cells explain the ensuing human labour? / A. Areia, S. Vale-Pereira, V. Alves [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 113. – P. 22-26.
83. Cappelletti, M. Immunobiology of Acute Chorioamnionitis / M. Cappelletti, P. Presicce, S.G. Kallapur // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11. – P.649.
84. Chatuphonprasert, W. Physiology and Pathophysiology of Steroid Biosynthesis, Transport and Metabolism in the Human Placenta / W. Chatuphonprasert, K. Jarukamjorn, I. Ellinger // *Front. Pharmacol.* – 2018. – Vol.9. – Article 1027.

85. Chew, L.C. Fetal Growth Restriction /L.C. Chew, R.P. Verma // In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020, Jan. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562268/>
86. Chiuppesi, F. Vaccine-derived neutralizing antibodies to the human cytomegalovirus gH/gL pentamer potently block primary cytotrophoblast infection / F. Chiuppesi, F. Wussow, E. Johnson [et al.] // J. Virol. – 2015. – Vol. 89, №23. – P. 11884-11898.
87. Clinical factor associated with congenital cytomegalovirus infection in pregnant women with non-primary infection / H. Yamada, K. Tanimura, S. Tairaku [et al.] // J. Infect. Chemother. – 2018. – Vol. 24, №9. – P. 702-706.
88. Cohort study on maternal cytomegalovirus seroprevalence and prevalence and clinical manifestations of congenital infection in China / S. Wang, T. Wang, W. Zhang [et al.] // Medicine (Baltimore). – 2017. – Vol. 96, №5. – P. e6007.
89. Collins-McMillen, D. HCMV infection and apoptosis: how do monocytes survive HCMV Infection? / D. Collins-McMillen, L. Chesnokova, B.J. Lee [et al.] // Viruses. – 2018. – Vol. 10, №10. – P. 533.
90. Congenital cytomegalovirus infection: contribution and best timing of prenatal MR imaging / M.M. Cannie, R. Devlieger, M. Leyder [et al.] // Eur. Radiol. – 2016. – Vol. 26, №10. – P. 3760-3769.
91. Congenital cytomegalovirus infection: clinical presentation, epidemiology, diagnosis and prevention / W. van Zuylen, S. Hamilton, Z. Naing [et al.] // Obstet. Med. – 2014. – Vol. 7, №4. – P. 140–146.
92. Congenital cytomegalovirus infection: patterns of fetal brain damage / L. Gabrielli, M.P. Bonasoni, D. Santini [et al.] // Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol. 18, №10. – P. E419-E427.
93. Congenital cytomegalovirus—time to diagnosis, management and clinical sequelae in Australia: opportunities for earlier identification / B.J.

McMullan, P. Palasanthiran, C.A. Jones [et al.] // *Med. J. Aust.* – 2011. – Vol. 194, №12. – P. 625–629.

94. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy: a review of prevalence, clinical features, diagnosis and prevention / Z.W. Naing, G.M. Scott, A. Shand [et al.] // *Aust. N.Z.J. Obstet. Gynaecol.* – 2016. – Vol. 56, №1. – P. 9-18.

95. Crespo, Â.C. Expression of KIR2DS1 by decidual natural killer cells increases their ability to control placental HCMV infection / Â.C. Crespo, J.L. Strominger, T. Tilburgs // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2016. – Vol. 113, №52. – P. 15072-15077.

96. Cytotoxic potential of decidual NK cells and CD8+ T cells awakened by infections / Â.C. Crespo, A. van der Zwan, J. Ramalho-Santos [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2017. – Vol. 119. – P. 85-90.

97. Cytomegalovirus impairs cytotrophoblast-induced lymphangiogenesis and vascular remodeling in an in vivo human placentation model / T. Tabata, M. Petitt, J. Fang-Hoover [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2012 – Vol. 181, №5. – P. 1540-1559.

98. Cytomegalovirus infection elicits a conserved chemokine response from human and guinea pig amnion cells / D.S. Putri, Z.W. Berkebile, H.J. Mustafa [et al.] // *Virology.* – 2020. – Vol. 548. – P. 93-100.

99. Cytomegalovirus infection during pregnancy with maternofetal transmission induces a proinflammatory cytokine bias in placenta and amniotic fluid / G.M. Scott, S.S. Chow, M.E. Craig [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2012. – Vol. 205, №8. – P. 1305-10.

100. Cytomegalovirus infection in pregnancy: review of the literature / S. Bonalumi, A. Trapanese, A. Santamaria [et al.] // *J. Prenat. Med.* – 2011. – Vol. 5, №1. - P. 1-8.

101. Cytomegalovirus infection in pregnancy - our experiences / H. Porobic-Jahic, F. Skokic, S. Ahmetagic [et al.] // *Med. Arch.* – 2019. – Vol. 73, №3. – P. 149-153.

102. Cytomegalovirus infection triggers the secretion of the PPAR γ agonists 15-hydroxyeicosatetraenoic acid (15-HETE) and 13-hydroxyoctadecadienoic acid (13-HODE) in human cytotrophoblasts and placental cultures / K. Leghmar, N. Cenac, M. Rolland [et al.] - PLoS One. - 2015. - Vol. 10, №7. - P. 0132627.
103. Davis, N.L. Cytomegalovirus infection in pregnancy / N.L. Davis, C.C. King, A.P. Kourtis // Birth Defects Res. – 2017. – Vol. 109, №5. – P. 336-346.
104. Dydrogesterone: pharmacological profile and mechanism of action as luteal phase support in assisted reproduction / G. Griesinger, H. Tournaye, N. Macklon [et al.] // Reprod. Biomed. Online. – 2019. – Vol. 38, №2. – P. 249-259.
105. de Vries, L.S. Viral infections and the neonatal brain / L.S. de Vries // Semin. Pediatr. Neurol. – 2019. – Vol. 32. – P. 100769.
106. Effects of cytomegalovirus infection on extravillous trophoblast cells invasion and immune function of NK cells at the maternal-fetal interface / X. Lin, Y. Chen, Z. Fang [et al.] // J. Cell. Mol. Med. – 2020. – Vol. 24, №19. – P. 11170-11176.
107. Emery, V.C. Cytomegalovirus in pregnancy and the neonate / V.C. Emery, T. Lazzarotto // F1000Res. – 2017. – Vol. 6. – P. 138.
108. ER β -dependent direct suppression of human and murine Th17 cells and treatment of established central nervous system autoimmunity by a neurosteroid / M. Aggelakopoulou, E. Kourepini, N. Paschalidis [et al.] // J. Immunol. – 2016. – Vol. 197, №7. – P. 2598-2609.
109. Escobar, J.C. The protein kinase a pathway regulates CYP17 expression and androgen production in the human placenta / J.C. Escobar, B.R. Carr // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. – Vol. 96, №9. – P. 2869-2883.
110. Estradiol inhibits Th17 cell differentiation through inhibition of ROR γ T transcription by recruiting the ER α /REA complex to estrogen

response elements of the ROR γ T promoter / R.Y. Chen, Y.M. Fan, Q. Zhang [et al.] // *J. Immunol.* – 2015. – Vol. 194, №8. – P. 4019-4028.

111. Estrogen receptor- β mediates estradiol-induced pregnancy-specific uterine artery endothelial cell angiotensin type-2 receptor expression / J.S. Mishra, G.M. Te Riele, Q.R. Qi [et al.] // *Hypertension.* – 2019. – Vol. 74, №4. – P. 967-974.

112. Expression of steroidogenic enzymes in human placenta according to the gestational age / S.H. Hong, S.C. Kim, M.N. Park [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2019 – Vol. 19, №5. – P. 3903-3911.

113. Gao, Y. L. Infection status of human parvovirus B19, cytomegalovirus and herpes simplex Virus-1/2 in women with first-trimester spontaneous abortions in Chongqing, China / Y. L. Gao, Z. Gao, M. He, P. Liao // *Virology journal.* – 2018. – Vol. 15, №1. – P.74.

114. Gibson, D.A. Regulation of androgen action during establishment of pregnancy / D.A. Gibson, I. Simitsidellis, P.T. Saunders // *J. Mol. Endocrinol.* – 2016 – Vol. 57, №1. – P. R35–R47.

115. Grossi, E. Maternal estradiol and progesterone concentrations among singleton spontaneous pregnancies during the first trimester // E. Grossi, F. Parisi, P. Duca, V.M. Savasi // *J. Endocrinol. Invest.* – 2019. – Vol. 42, №6. – P. 633-638.

116. Griffiths, P. The pathogenesis of human cytomegalovirus / P. Griffiths, I. Baraniak, M. Reeves // *J. Pathol.* – 2015. – Vol. 235, №2. – P. 288-97.

117. Hamilton, K.J. Estrogen hormone biology / K.J. Hamilton, S.C. Hewitt, Y. Arao, K.S. Korach // *Curr. Top. Dev. Biol.* – 2017. – Vol. 125. – P. 109-146.

118. Hancock, M.H. Human cytomegalovirus MicroRNAs miR-US5-1 and miR-UL112-3p block proinflammatory cytokine production in response to NF- κ B-activating factors through direct downregulation of IKK α

and IKK β / M.H. Hancock, L.M. Hook, J. Mitchell, J.A. Nelson // *mBio*. - 2017. – Vol. 8, №2. – P. e00109-e00117.

119. Hendriks, E. First Trimester Bleeding: Evaluation and Management / E. Hendriks, H. MacNaughton, M.C. MacKenzie // *Am. Fam. Physician*. – 2019. – Vol. 99, №3. – P. 166-174.

120. Hoo, R. Innate immune mechanisms to protect against infection at the human decidual-placental interface / R. Hoo, A. Nakimuli, R. Vento-Tormo // *Front. Immunol*. – 2020. – Vol. 11. – P. 2070.

121. Hormone concentrations throughout uncomplicated pregnancies: a longitudinal study / H. Schock, A. Zeleniuch-Jacquotte, E. Lundin [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth*. – 2016 – Vol. 16, №1. – P. 146.

122. Hu, X.Q. Angiogenesis during pregnancy: all routes lead to MAPKs / X.Q. Hu, L. Zhang // *J. Physiol*. – 2017. – Vol. 595, №14. – P. 4571-4572.

123. Human cytomegalovirus infection induces leukotriene B4 and 5-lipoxygenase expression in human placentae and umbilical vein endothelial cells / M. Benard, K. Straat, S. Omarsdottir [et al.] // *Placenta*. – 2014. – Vol. 35, №6. – P. 345-350.

124. Human cytomegalovirus induces a distinct innate immune response in the maternal-fetal interface / Y. Weisblum, A. Panet, Z. Zakay-Rones [et al.] // *Virology*. – 2015. – Vol. 485. – P. 289-296.

125. Human cytomegalovirus infection interferes with the maintenance and differentiation of trophoblast progenitor cells of the human placenta / T. Tabata, M. Petitt, M. Zydek [et al.] - *J. Virol*. – 2015. - Vol. 89, №9. – P. 5134-5147.

126. Human cytomegalovirus-induces cytokine changes in the placenta with implications for adverse pregnancy outcomes / S.T. Hamilton, G. Scott, Z. Naing [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7, №12. – P. e52899.

127. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems / M. Knöfler, S. Haider, L. Saleh [et al.] // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2019. – Vol. 76, №18. – P. 3479-3496.
128. Human term pregnancy decidual NK cells generate distinct cytotoxic responses / R. de Mendonça Vieira, A. Meagher, Â.C. Crespo [et al.] // *J. Immunol.* – 2020. – Vol. 204, №12. – P. 3149-3159.
129. Huynh, K.T. Selective modulation of Wnt-binding receptor tyrosine kinase ROR2 expression by human cytomegalovirus regulates trophoblast migration / K.T. Huynh, W.J. van Zuylen, C.E. Ford, W.D. Rawlinson // *J. Gen. Virol.* – 2019. – Vol. 100, №1. – P. 99-104.
130. IFPA Meeting 2010 Workshops Report II: Placental pathology; trophoblast invasion; fetal sex; parasites and the placenta; decidua and embryonic or fetal loss; trophoblast differentiation and syncytialisation / A. Al-Khan, I.L. Aye, I. Barsoum [et al.] // *Placenta.* – 2011. – Vol. 32, №2. – P. S90-S99.
131. Itell, H.L. Maternal immune correlates of protection against placental transmission of cytomegalovirus / H.L. Itell, C.S. Nelson, D.R. Martinez, S.R. Permar // *Placenta.* – 2017. – Vol. 60, №1. – P. S73-S79.
132. Jabrane-Ferrat, N. Features of human decidual NK cells in healthy pregnancy and during viral infection / N. Jabrane-Ferrat // *Front. Immunol.* - 2019. – Vol. 10. – P. 1397.
133. Jedlińska-Pijanowska, D. Association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of IL1, IL12, IL28 and TLR4 and symptoms of congenital cytomegalovirus infection / D. Jedlińska-Pijanowska, B. Kasztelewicz, J. Czech-Kowalska // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, №5. – P. e0233096.
134. Kagan, K.O. Cytomegalovirus infection in pregnancy / K.O. Kagan, K. Hamprecht // *Arch. Gynecol. Obstet.* – 2017. – Vol. 296, №1. – P. 15-26.

135. Leruez-Ville, M. Cytomegalovirus infection during pregnancy: state of the science / M. Leruez-Ville, I. Foulon, R. Pass, Y. Ville // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2020. – Vol. 223, №3. – P. 330-349.
136. Levkova, M. Association between polymorphic markers human leucocyte antigen-G and tumour necrosis factor alpha and susceptibility to recurrent miscarriages among Bulgarian women / M. Levkova, T. Chervenkov, M. Hachmeriyan, L. Angelova // *Turk. J. Obstet. Gynecol.* – 2020. – Vol. 17, №1. – P. 34-39.
137. Lindholm, K. Placental cytomegalovirus infection / K. Lindholm, M. O'Keefe // *Arch. Pathol. Lab. Med.* – 2019. – Vol. 143, №5. – P. 639-642.
138. Magnetic nanoparticles interact and pass an in vitro co-culture blood-placenta barrier model / E.K. Müller, C. Gräfe, F. Wiekhorst [et al.] // *Nanomaterials.* – 2018. – Vol. 8. – P. 108.
139. Mayrink, J. Preeclampsia in 2018: revisiting concepts, physiopathology, and prediction / J. Mayrink, M.L. Costa, J.G. Cecatti // *ScientificWorldJournal.* – 2018. – Vol. 2018. – P. 6268276.
140. Marsico, C. Congenital cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment / C. Marsico, D.W. Kimberlin // *Ital. J. Pediatr.* – 2017. – Vol. 43, №1. – P. 38.
141. Muin, D.A. cCMV - can we do better in predicting fetal outcome? / D.A. Muin, // *BJOG.* – 2020. – Vol. 127, №3. – P. 363.
142. Multiomic immune clockworks of pregnancy / L.S. Peterson, I.A. Stelzer, A.S. Tsai [et al.] // *Semin. Immunopathol.* – 2020. – Vol. 42, №4. – P. 397-412.
143. Nair, R.R. Immune-endocrine crosstalk during pregnancy / R.R. Nair, P. Verma, K. Singh // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2017. – Vol. 242. – P. 18-23.
144. Napso, T. The Role of Placental Hormones in Mediating Maternal Adaptations to Support Pregnancy and Lactation / T. Napso, H.E.J.

Yong, J. Lopez-Tello, A.N. Sferruzzi-Perri // *Front. Physiol* – 2018. – Vol. 9. – P. 1091.

145. Negative elongation factor is essential for endometrial function / S.C. Hewitt, R. Li, N. Adams [et al.] // *FASEB J.* – 2019. – Vol. 33, №2. – P. 3010-3023.

146. Neutrophils induce proangiogenic T cells with a regulatory phenotype in pregnancy / S. Nadkarni, J. Smith, A.N. Sferruzzi-Perri [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2016. – Vol. 113, №52. – P. E8415-E8424.

147. NK cell-derived IL-10 is critical for DC-NK cell dialogue at the maternal-fetal interface / S.M. Blois, N. Freitag, I. Tirado-González [et al.] // *Sci. Rep.* – 2017. – Vol. 7, №1. – P. 2189.

148. Novel heterozygous mutation in NFKB2 is associated with early onset CVID and a functional defect in NK cells complicated by disseminated CMV infection and severe nephrotic syndrome / A. Aird, M. Lagos, A. Vargas-Hernández [et al.] // *Front. Pediatr.* – 2019. – Vol. 7. – P. 303.

149. Parker, E.L. Viral-immune cell interactions at the maternal-fetal interface in human pregnancy / E.L. Parker, R.B. Silverstein, S. Verma, I.U. Mysorekar // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 1. – P. 522047.

150. Pass, R.F. Maternal and fetal cytomegalovirus infection: diagnosis, management, and prevention / R.F. Pass, R. Arav-Boger // *F1000Res.* – 2018. – Vol. 7. – P. 255.

151. Pereira, L. Cytomegalovirus infection and antibody protection of the developing placenta / L. Pereira, M. Petitt, T. Tabata // *Clin. Infect. Dis.* – 2013. – Vol. 57, Suppl. 4. – P. 174-177.

152. Pereira, L. Congenital cytomegalovirus infection undermines early development and functions of the human placenta / L. Pereira, T. Tabata, M. Petitt, J. Fang-Hoover // *Placenta.* – 2017. – Vol. 59, №1. – P. S8-S16.

153. Pereira, L. Congenital viral infection: traversing the uterine-placental interface / L. Pereira // *Annu. Rev. Virol.* – 2018. – Vol. 5, №1. – P. 273-299.
154. Persistent cytomegalovirus infection in amniotic membranes of the human placenta / T. Tabata, M. Petitt, J. Fang-Hoover [et al.] // *J. Am. J. Pathol.* – 2016. – Vol. 186, №11. – P. 2970-2986.
155. Placental expression of AChE, $\alpha 7nAChR$ and NF- κB in patients with preeclampsia / L. Zheng, L. Shi, Z. Zhou [et al.] // *Ginekol. Pol.* – 2018. – Vol. 89, №5. – P. 249-255.
156. Placental pathology, first-trimester biomarkers and adverse pregnancy outcomes / A.O. Odibo, K.R. Patel, A. Spitalnik [et al.] // *J. Perinatol.* – 2014. – Vol. 34, №3. – P. 186-191.
157. Predictors of steroid hormone concentrations in early pregnancy: results from a multi-center cohort / E.S. Barrett, O. Mbowe, S.W. Thurston [et al.] // *Matern. Child. Health J.* – 2019. – Vol. 23, №3. – P. 397-407.
158. Pregnancy-induced alterations in NK cell phenotype and function / M. Le Gars, C. Seiler, A.W. Kay [et al.] – *Front. Immunol.* – 2019. – Vol. 10. – P. 2469.
159. Pregnancy level of estradiol attenuated virus-specific humoral immune response in H5N1-infected female mice despite inducing anti-inflammatory protection / C.L. Finch, A. Zhang, M. Kosikova [et al.] // *Emerg. Microbes. Infect.* - 2019. – Vol. 8, №1. – P. 1146-1156.
160. Progesterone and HMOX-1 promote fetal growth by CD8+ T cell modulation / M.E. Solano, M.K. Kowal, G.E. O'Rourke [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2015. – Vol. 125, №4. – P. 1726-1738.
161. Qi, Q. Platelets induce increased estrogen production through NF- κB and TGF- $\beta 1$ signaling pathways in endometriotic stromal cells // Q. Qi, X. Liu, Q. Zhang, S.W. Guo // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 10, №1. – P. 1281.

162. Reyes, L. Hofbauer cells: placental macrophages of fetal origin / L. Reyes, B. Wolfe, T. Golos // *Results Probl. Cell. Differ.* – 2017. – Vol. 62. – P. 45-60.
163. Robertson, S.A. Regulatory T cells in embryo implantation and the immune response to pregnancy / S.A. Robertson, A.S. Care, L.M. Moldenhauer // *J. Clin. Invest.* – 2018. – 128, №10. – P. 4224-4235.
164. Role of OAT4 in uptake of estriol precursor 16 α -hydroxydehydroepiandrosterone sulfate into human placental syncytiotrophoblasts from fetus / M. Tomi, H. Eguchi, M. Ozaki [et al.] // *Endocrinology.* – 2015. – Vol. 156, №7. – P. 2704–2712.
165. Schleiss, M.R. Preventing congenital cytomegalovirus infection: protection to a “T” / M.R. Schleiss // *Trends in microbiology.* – 2016. – Vol. 24, №3. - P. 170-172.
166. Schleiss, M.R. Congenital cytomegalovirus infection: improved understanding of maternal immune responses that reduce the risk of transplacental transmission / M.R. Schleiss // *Clin. Infect. Dis.* – 2017. – Vol. 65, №10. – P. 1666-1669.
167. Schleiss M.R. The value of hyperimmune globulin in pregnancies complicated by cytomegalovirus infection: a continuing saga / M.R. Schleiss // *Clin. Infect. Dis.* – 2020. – Vol. 71, №6. – P. 1499-1501.
168. Schumacher, A. Endocrine factors modulating immune responses in pregnancy / A. Schumacher, S.D. Costa, A.C. Zenclussen // *Front. Immunol.* – 2014. – Vol. 5. - P. 196.
169. Sequelae of congenital cytomegalovirus following maternal primary infections are limited to those acquired in the first trimester of pregnancy / V. Faure-Bardon, J.F. Magny, M. Parodi M [et al.] // *Clin. Infect. Dis.* – 2019. – Vol. 69, №9. – P. 1526-1532.
170. Seroprevalence of human cytomegalovirus (HCMV) infection in pregnant women and outcomes of pregnancies with active infection / G.

Mujtaba, S. Shaukat, M. Angez [et al.] // J. Pak. Med. Assoc. – 2016. – Vol. 66, №8. – P. 1009-1014.

171. Shah, N.M. Progesterone-related immune modulation of pregnancy and labor / N.M. Shah, P.F. Lai, N. Imami, M.R. Johnson // Front. Endocrinol. (Lausanne). – 2019. – Vol. 10. – P. 198.

172. Sherkat, R. Seropositivity of cytomegalovirus in patients with recurrent pregnancy loss / R. Sherkat, M. Meidani, H. Zarabian // J. Res. Med. Sci. – 2014. – Vol. 19, №1. – P. S22-S25.

173. Solano, M.E. Steroids, pregnancy and fetal development / M.E. Solano, P.C. Arck // Front. Immunol. – 2020. – Vol. 10. – P. 3017.

174. Stanek, J. Placental infectious villitis versus villitis of unknown etiology / J. Stanek, // Pol. J. Pathol. – 2017. – Vol. 68, №1. – P. 55-65.

175. Study of human cytomegalovirus replication in body fluids, placental infection, and miscarriage during the first trimester of pregnancy / X.C. Yan, J.H. Wang, B. Wang [et al.] // J. Med. Virol. – 2015. – Vol. 87, №6. – P. 1046-1053.

176. Suppression of nuclear factor- κ B by glucocorticoid receptor blocks estrogen-induced apoptosis in estrogen-deprived breast cancer cells / P. Fan, D.R. Siwak, B. Abderrahman [et al.] // Mol. Cancer Ther. – 2019. – Vol. 18, №10. – P. 1684-1695.

177. Symptomatic congenital cytomegalovirus disease following non-primary maternal infection: a retrospective cohort study / E. Hadar, E. Dorfman, R. Bardin R [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2017. – Vol. 17, №1. – P. 31.

178. Symptomatic congenital cytomegalovirus infection in children of seropositive women / I. Mack, M.A. Burckhardt, U. Heininger [et al.] // Front. Pediatr. – 2017. – Vol. 5. – P. 134.

179. Szekeres-Bartho, J. The role of progesterone in feto-maternal immunological cross talk / J. Szekeres-Bartho, // Med. Princ. Pract. – 2018. – Vol. 27, №4. – P. 301-307.

180. Tabata, T. Survey of cellular immune responses to human cytomegalovirus infection in the microenvironment of the uterine-placental interface / T. Tabata, M. Pettitt, J. Fang-Hoover, L. Pereira // *Med. Microbiol. Immunol.* – 2019. – Vol. 208, №3-4. – P. 475-485.

181. Tao, L. In vitro study on human cytomegalovirus affecting early pregnancy villous EVT's invasion function / L. Tao, C. Suhua, C. Juanjuan // *Viol. J.* – 2011. – Vol. 8. – P. 114.

182. The risk of herpes simplex virus and human cytomegalovirus infection during pregnancy upon adverse pregnancy outcomes: A meta-analysis / T.L. Shi, L.J. Huang, Y.O. Xiong [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2018. – Vol. 104. – P. 48-55.

183. The role of infection in miscarriage / S. Giakoumelou, N. Wheelhouse, K. Cuschieri [et al.] // *Hum. Reprod. Update* – 2016. – Vol. 22, №1. – P. 116-133.

184. The role of decidual immune cells on human pregnancy / S. Liu, L. Diao, C. Huang [et al.] // *J. Reprod. Immunol.* – 2017. – Vol. 124. – P. 44-53.

185. The uterine immune profile may help women with repeated unexplained embryo implantation failure after in vitro fertilization / N. Lédée, M. Petitbarat, L. Chevrier L [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2016. – Vol. 75, №3. – P. 388-401.

186. Tilburgs, T. The HLA-G cycle provides for both NK tolerance and immunity at the maternal-fetal interface / T. Tilburgs, J.H. Evans, Â.C. Crespo, J.L. Strominger // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2015. – Vol. 112, №43. – P. 13312-13317.

187. TNF-R1 as a first trimester marker for prediction of pre-eclampsia / S.B. E Holanda Moura, F. Park, P. Murthi [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal Med.* – 2016. – Vol. 29, №6. – P. 897-903.

188. Toll-like receptors genes polymorphisms and the occurrence of HCMV infection among pregnant women / W. Wujcicka, E. Paradowska, M. Studzińska [et al.] // *Viol. J.* – 2017. – Vol. 14, №1. - P. 64.
189. ToRCH "co-infections" are associated with increased risk of abortion in pregnant women / S. Rasti, F.S. Ghasemi, A. Abdoli [et al.] // *Congenit. Anom. (Kyoto)*. – 2016. – Vol. 56, №2. – P. 73-78.
190. Transport of the placental estriol precursor 16α -hydroxydehydroepiandrosterone sulfate (16α -OH-DHEAS) by stably transfected OAT4-, SOAT-, and NTCP-HEK293 cells / H. Schweigmann, A. Sánchez-Guijo, B. Ugele [et al.] // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 143, №C. – P. 259–265.
191. Tumor necrosis factor-alpha and pregnancy: focus on biologics. An updated and comprehensive review / J. Alijotas-Reig, E. Esteve-Valverde, R. Ferrer-Oliveras [et al.] // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* – 2017. - Vol. 53, №1. – P.40-53.
192. Turco, M.Y. Development of the human placenta. / M.Y. Turco, A. Moffett // *Development*. – 2019. – Vol. 146, №22. – P. 163428.
193. Ultrasound indications for maternal STORCH testing in pregnancy / C.A. Voekt, T. Rinderknecht, H.H. Hirsch [et al.] // *Swiss Med. Wkly.* – 2017. – Vol. 147. – P. 14534.
194. Uterine natural killer cells: supervisors of vasculature construction in early decidua basalis / M.T. Rätsep, A.M. Felker, V.R. Kay [et al.] // *Reproduction*. – 2015. – Vol. 149, №2. – P. 91-102.
195. van Zuylen, W.J. Human cytomegalovirus modulates expression of noncanonical WNT receptor ROR2 to alter trophoblast migration / W.J. van Zuylen, C.E. Ford, D.D. Wong, W.D. Rawlinson // *J. Virol.* – 2015. – Vol. 90, №2. – P. 1108-1115.
196. Walker, S.P. Cytomegalovirus in pregnancy: to screen or not to screen / S.P. Walker, R. Palma-Dias, E.R. Wood, P. Shekleton, M.L. Giles // *BMC Pregnancy and Childbirth*. – 2013. – Vol.13. – P. 96.

197. Warner, J.A. Human cytomegalovirus infection inhibits CXCL12-mediated migration and invasion of human extravillous cytotrophoblasts / J.A. Warner, K.J. Zwezdaryk, B. Day // *Virol. J.* – 2012. – Vol. 9. – P. 255.

198. Warrington, J.P. Placental ischemia-induced increases in brain water content and cerebrovascular permeability: role of TNF α / J.P. Warrington, H.A. Drummond, J.P. Granger, M.J. Ryan // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2015. – Vol. 309, №11. – P. 1425-1431.

199. Whittaker, P.G. Gestational hormone trajectories and early pregnancy failure: a reassessment / P.G. Whittaker, C.A. Schreiber, M.D. Sammel // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 16, №1. – P. 95.

200. Yockey, L.J. Interferons and proinflammatory cytokines in pregnancy and fetal development / L.J. Yockey, A. Iwasaki // *Immunity.* – 2018. – Vol. 49, №3. – P. 397-412.

201. ZIKA virus reveals broad tissue and cell tropism during the first trimester of pregnancy / H. El Costa, J. Gouilly, J.M. Mansuy [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 35296.

202. Zulu, M.Z. The elusive role of placental macrophages: the Hofbauer cell / M.Z. Zulu, F.O. Martinez, S. Gordon, C.M. Gray // *J. Innate. Immun.* – 2019. – Vol. 11, №6. – P. 447-456.