

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

На правах рукописи

Приходько Николай Геннадьевич

**МОЛЕКУЛЯРНО-КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ
ИНВАЗИИ ЦИТОТРОФОБЛАСТА ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ
ИНФЕКЦИИ В ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ**

3.3.3. Патологическая физиология (медицинские науки)

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор РАН

Ирина Анатольевна Андриевская

Научный консультант:
доктор медицинских наук, доцент
Ирина Валентиновна Жуковец

Благовещенск, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ПРОЦЕСС ИНВАЗИИ ТРОФОБЛАСТА И АССОЦИАЦИЯ НАРУШЕНИЙ С ПАТОЛОГИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	
1.1. Цитомегаловирусная инфекция и беременность: современное состояние вопроса	14
1.2. Процесс инвазии трофобласта (имплантация, первая волна инвазии трофобласта и формирование плаценты)	21
1.2.1. Первая волна инвазии трофобласта	21
1.2.2. Роль апоптоза при инвазии бластоцисты и трофобласта в стенку матки	27
1.3. Роль гормонов, факторов роста, матриксных металлопротеиназ и ингибиторов иммунных факторов, цитокинов в процессах инвазии трофобласта и их ассоциация с нарушением течения беременности	28
1.3.1. Влияние гормонов на инвазию трофобласта и рост плаценты	28
1.3.2. Роль факторов роста в процессах инвазии трофобласта и их ассоциация с патологическим течением беременности	30
1.3.3. Матриксные металлопротеиназы, ингибиторы иммунных комплексов и их роль в развитии плаценты при физиологической и патологической беременности	37
1.3.4. Влияние цитокинов на функциональное состояние трофобласта. Цитокины при физиологической и патологической беременности	39
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	
2.1. Характеристика базы и объект исследования	45
2.1.1. Характеристика базы исследования	45
2.1.2. Объект исследования	46

2.2.	Методы исследования	53
2.3.	Объем исследований	57
2.4.	Статистическая обработка полученных результатов	58
ГЛАВА 3. БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА ЦИТОТРОФОБЛАСТИЧЕСКОЙ ИНВАЗИИ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ		
3.1.	Особенности изменения цитокинового профиля при ЦМВ инфекции в первом триместре беременности	60
3.2.	Особенности продукции половых гормонов у женщин при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности	63
3.3.	Характер изменений про-/антиангиогенных факторов роста при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности	71
3.4.	Оценка инвазивной способности трофобласта при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности	74
3.5.	Клинико-морфологические особенности самопроизвольного выкидыша, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией	77
ГЛАВА 4. ПРОГНОСТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ И ФАКТОРЫ РИСКА САМОПРОИЗВОЛЬНОГО ВЫКИДЫША ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ		
4.1.	Прогностические модели в оценке развития самопроизвольного выкидыша у женщин с ЦМВ инфекцией	85
4.2.	Факторы риска осложнённого течения беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции	91
ОБСУЖДЕНИЕ		93
ВЫВОДЫ		110
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ		112
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ		113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Цитомегаловирус (ЦМВ) является ведущей инфекционной патологией, которая ассоциирована с угрозой самопроизвольного выкидыша с частотой встречаемости в диапазоне от 18% до 25% беременностей. Серопревалентность ЦМВ среди женщин детородного возраста в развитых странах колеблется от 50 до 85%, в развивающихся странах серопревалентность приближается к 100% [177, 222], тогда как в России серопревалентность обнаруживается у беременных женщин в диапазоне от 90 до 100% [53, 121, 122]. Маркеры острой ЦМВ инфекции в различные периоды гестации выявляются примерно у 30-45% беременных [6, 92, 123]. При этом маркеры ее реактивации часто обнаруживаются в родовых путях, что увеличивает риск инфицирования плаценты и околоплодных вод [220, 221].

В отличие от других инфекций группы TORCH (Тохопlasma (токсоплазменная инфекция) - Rubella (краснуха) - Cytomegalovirus (цитомегаловирус) - Herpes (герпес)) ЦМВ инфекция приводит к развитию повреждений плода в любом триместре беременности [140], но наиболее значимые – при инфицировании в первой ее половине [70, 225, 294].

Независимо от пути инфицирования ЦМВ проникает в кровь, что приводит к развитию кратковременной виремии с внедрением в лейкоциты и мононуклеарные фагоциты, где происходит репликация вируса и его распространение [318]. Инфицирование эндотелиальных клеток микроциркуляторной системы матки ЦМВ вызывает повреждение и нарушение дифференцировки трофобласта [206]. В экспериментальных исследованиях показано снижение инвазии и миграции цитотрофобласта под действием ЦМВ [233]. Однако молекулярная сигнализация, лежащая в основе наблюдаемого ЦМВ-индуцированного повреждения плаценты, до сих пор не раскрыта, а клеточные механизмы, участвующие в инвазии трофобласта, требуют дальнейших исследований.

Считается, что процесс инвазии цитотрофобласта контролируется рядом факторов, включая систему матриксных металлопротеиназ (ММР) [35, 238, 275]. Показано подавляющее влияние ММР на инвазивные процессы [252].

Одним из ферментов, экспрессируемым в трофобласте, является ММР-9 [333]. Гестагены, факторы роста и провоспалительные цитокины прямо или опосредованно через тканевой ингибитор металлопротеиназ (TIMP) выступают в роли регуляторов, лимитирующих инвазию [44, 292]. Имеются сведения о стимулирующем влиянии прогестерона на интенсивность изменений внеклеточного матрикса под действием ММР-9 [302], хотя специфические эффекты стероида, через которые осуществляются метаболические пути регуляции действия провоспалительных цитокинов на процессы инвазии цитотрофобласта, остаются до конца не выясненными.

Не достаточно изучен механизм ингибирующего действия фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) и растворимой его формы рецептора (sTNF-R1) на экспрессию ММР-9 в трофобласте. На примере интерлейкина 1 бета (IL-1 β) и IL-10 показано их опосредованное влияние на ММР [161]. Предполагается, что повышение уровня IL-1 β стимулирует выработку ММР трофобластом, а IL-10 выступает в роли иммуносупрессора, что обеспечивает иммунологическую толерантность эмбриона организмом матери. Также показана способность ММР высвобождать сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF), участвующий в процессе ремоделирования маточных сосудов, васкулогенезе и инвазии трофобласта. Вместе с тем, нарушение регуляции инвазивных процессов и формирование эмбриохориальной недостаточности на любом уровне приводит к дисбалансу активности и ингибированию продукции ММР [233]. Ранние потери беременности могут быть связаны с низким уровнем ММР-9 [161]. Также отмечено влияние провоспалительных факторов на адаптивные свойства клеток врожденного иммунитета [66], что приводит к изменению экспрессии поверхностных рецепторов для цитокинов и сигнализации в трофобласте на этапе формирования эмбриохориального комплекса.

Таким образом, комплексное исследование системы цитокинов, половых гормонов, факторов роста, протеолитических ферментов, участвующих в деградации внеклеточного матрикса, и их ингибиторов расширит понимание закономерностей нарушения инвазии цитотрофобласта при обострении ЦМВ инфекции.

Полученные теоретические данные могут иметь большое практическое значение и быть использованы в прогностическом мониторинге беременных по развитию самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

Степень разработанности темы исследования

Основанием для проведения диссертационного исследования послужила актуальность и значимость ЦМВ инфекции в развитии самопроизвольного выкидыша.

Проведен глубокий анализ отечественной и зарубежной литературы по проблеме влияния ЦМВ инфекции на инвазию цитотрофобласта и формирование эмбриохориального комплекса.

В течение последних десятилетий отечественными исследователями проводилось изучение закономерностей нарушения формирования трофобласта: исследовалась роль ММР и их ингибиторов, различных сигнальных молекул, свободной эмбриональной ДНК, ростовых факторов, провоспалительных и регуляторных цитокинов [143, 172, 233], но эти данные не достаточны для полного раскрытия процессов инвазии при ЦМВ инфекции.

Зарубежными авторами получено большое количество экспериментальных данных. Показано влияние репликации ЦМВ в клетках-предшественниках трофобластов на экспрессию и субклеточную локализацию белков, необходимых для развития клеточного цикла, плюрипотентности и ранней дифференцировки, препятствующих нормальному делению и развитию зрелых плацентарных клеток [195].

Согласно другим исследованиям, изменение содержания ММР-9 в сыворотке крови и в децидуальной ткани при высокой экспрессии

провоспалительных цитокинов может быть причиной раннего самопроизвольного выкидыша [252]. Однако сведений, отражающих влияние обострения ЦМВ инфекции на изменение протеолитических свойств фермента в трофобласте, нет. Также отсутствуют сведения о нарушениях процессов инвазии с определением их роли в развитии самопроизвольного выкидыша у женщин с обострением ЦМВ инфекции.

В связи с этим, решение вопросов, связанных с изучением молекулярно-клеточных механизмов нарушения инвазии цитотрофобласта при обострении ЦМВ инфекции, имеет важное теоретическое и практическое значение, что определило выбор темы и цели исследования.

Цель исследования

Выявление механизмов нарушения цитотрофобластической инвазии для поиска биохимических предикторов самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

Задачи исследования

1. Оценить особенности функционирования и определить связь показателей про-/противовоспалительных цитокинов ($TNF-\alpha$, $sTNF-R1$, $IL-1\beta$, $IL-10$), ядерного транскрипционного фактора $NF-\kappa B$ и трофобластических гормонов (прогестерон, эстрадиол) на системном (периферическая кровь) и локальном (ворсинчатый хорион) уровнях при обострении ЦМВ инфекции и латентном течении заболевания у женщин в первом триместре беременности.

2. Провести анализ и сопоставить изменения в процессах, характеризующих состояние маточно-плацентарного ангиогенеза (плацентарный фактор роста (PlGF), $VEGF-A$, fms -подобной тирозинкиназы ($sFlt-1$)) и инвазивной способности цитотрофобласта (MMP-9, TIMP-1) на системном и локальном уровнях при обострении ЦМВ инфекции и латентном течении заболевания у женщин в первом триместре беременности.

3. Дать гистологическую и иммуногистохимическую оценку состояния эмбриохориального комплекса, учитывающую процессы гравидарной трансформации децидуальной ткани и ремоделирования маточных сосудов, инвазирующей способности цитотрофобласта при обострении ЦМВ инфекции.

4. Определить факторы риска потери беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре.

5. Выявить биохимические предикторы и разработать прогностическую модель механизмов развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

Научная новизна

Получены новые теоретические данные, расширяющие представление о механизмах самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

Доказано, что выраженность изменений цитокинового (TNF- α , sTNF-R1, IL-1 β , IL-10) и гормонального (прогестерон, эстрадиол) дисбаланса, а также активности транскрипционного ядерного фактора NF- κ B на системном и локальном уровнях зависит от формы ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. Выявлен значимый вклад высокого уровня TNF- α , а также низких уровней IL-10 и эстрадиола в развитие осложнений первого триместра беременности, вызванных обострением ЦМВ инфекцией.

Впервые показано, что у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности, в отличие от латентного течения заболевания, усиление провоспалительного действия TNF- α и IL-1 β приводит к формированию недостаточности ангиогенной регуляции эмбриохориального комплекса, характеризующейся одновременным увеличением содержания sFlt-1 и снижением факторов роста VEGF-A и PlGF в экстрактах ворсинчатого хориона. Выявлена связь обострения ЦМВ инфекции с изменчивостью

показателей про-/антиангиогенных факторов в периферической крови у женщин в первом триместре беременности.

Впервые выявлена связь обострения ЦМВ инфекции в первом триместре беременности с уменьшением содержания в экстрактах ворсинчатого хориона ММР-9 и повышением уровня тканевого ингибитора ТИМР-1, вызывающих нарушение инвазии цитотрофобласта. Латентное течение заболевания характеризуется компенсаторным повышением уровня ММР-9 в экстрактах ворсинчатого хориона при отсутствии изменений ТИМР-1, определяющих активность инвазии цитотрофобласта и формирование эмбриохориального комплекса.

Морфологическими критериями самопроизвольного выкидыша, ассоциированным с обострением ЦМВ инфекцией, являются признаки локальной воспалительной реакции (инфильтрация, отек, фибриноидный некроз), определяющие задержку ремоделирования сосудов матки, инвазии цитотрофобласта, формирования и дифференцировки ворсин хориона. Выявлена связь низкой активности цитокератина 8 и нарушения инвазивной способности цитотрофобласта у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

В результате проведенного исследования с использованием многофакторного пошагового дискриминантного анализа продемонстрирована возможность использования определения $TNF-\alpha$, $NF-\kappa B$ и $sFlt-1$ в комплексном диагностическом мониторинге беременных с обострением ЦМВ инфекции для выделения групп риска по развитию самопроизвольного выкидыша.

Научная новизна диссертационного исследования подтверждена патентами на изобретения РФ (№ 2751965, № 2762485, № 2782111).

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в том, что получены новые данные, расширяющие представления о роли обострения ЦМВ

инфекции в первом триместре беременности в нарушении инвазии цитотрофобласта и формировании эмбриохориального комплекса, определяющим гибель эмбриона и развитие самопроизвольного выкидыша.

Практическую значимость имеют разработанные способ прогнозирования угрозы прерывания беременности (патент РФ № 2751965), способ прогнозирования угрозы выкидыша (патент РФ № 2762485) и способ оценки нарушения инвазии трофобласта (патент РФ №2782111).

Материалы диссертационного исследования внедрены в практику работы научных подразделений и отделений клиники Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» (акт внедрения от 27 апреля 2023 г.), в учебный процесс Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Минздрава России: в лекционный курс и практические занятия на кафедрах физиологии и патофизиологии (акт внедрения от 28 апреля 2023 г.), акушерства и гинекологии (акт внедрения от 28 апреля 2023 г.).

Методология и методы работы

В период с 2018 по 2020 годы проведено исследование «Случай-контроль» 193 женщин в первом триместре беременности.

Диссертационное исследование включало оформление и анализ тематических карт, современные биохимические, гистологические, гистохимические и иммуногистохимические методы исследования цитокинов, гормональных, ростовых и транскрипционных факторов и их сигнальных путей, протеолитических и инвазивных процессов.

В настоящей работе использованы методы статистического анализа значимости различий исследуемых показателей, их множественных корреляций, многофакторный дискриминантный анализ, ROC-анализ, расчет относительных рисков.

Положения, выносимые на защиту

1. Дисбаланс продукции про-/противовоспалительных цитокинов и половых гормонов, индукция провоспалительного сигналинга у женщин с ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности, вызывают развитие воспаления и эмбриохориальной недостаточности.
2. Развитие локального воспалительного ответа у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности приводит к нарушению ангиогенной регуляции и инвазивной способности цитотрофобласта.
3. Разработаны биохимические предикторы нарушения формирования эмбриохориального комплекса и их пороговые значения, вошедшие в прогностическую модель развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

Степень достоверности и апробация результатов

Объективность и достоверность полученных результатов исследования обеспечена достаточным количеством исследуемого материала, однородностью выборки и адекватностью выбора современных биохимических, гистологических, гистохимических и иммуногистохимических и статистических методов анализа.

Основные материалы и положения работы были представлены на Международной научной конференции «Системный анализ в медицине» (Благовещенск, 2018; 2020; 2021); научной конференции «Молодые ученые – науке» (Благовещенск, 2019, 2020); VIII Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 2019); IX Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 2021); VIII межрегиональной научной конференции «Дискуссионные вопросы акушерства и гинекологии», (Благовещенск, 2021 г.), X Съезде врачей-пульмонологов Сибири и Дальнего Востока (Благовещенск, 2023).

Внедрение

Результаты диссертационного исследования 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 и патофизиологии, а также акушерства и гинекологии.

На основании результатов исследования были разработаны и внедрены в клиническую практику способы прогнозирования угрозы прерывания беременности (патент РФ №2751965), способ прогнозирования угрозы выкидыша (патент РФ №2762485) и способ оценки нарушения инвазии трофобласта (патент РФ №2782111).

Личное участие автора

Личный вклад соискателя заключается в выполнении основного объема теоретических данных (подбор и анализ научной литературы), участии в сборе, обработке и интерпретации полученных данных, оформлении результатов исследования в виде публикаций, презентации данных на конференциях, оформлении текста диссертации.

Автор выражает глубокую признательность Довжиковой Инне Викторовне, доктору биологических наук, ведущему научному сотруднику лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких, Кутеповой Ольге Леонидовне, кандидату медицинских наук, младшему научному сотруднику лаборатории молекулярных и трансляционных исследований Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» за помощь в проведении гистологических и иммуногистохимических исследований.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликовано 17 печатных работ, в числе которых 3 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, 5 публикаций в журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science. Соавтор монографии, 3 патентов РФ на изобретение, методического пособия.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 155 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, 4 глав собственных исследований, главы обсуждение, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы, включающего 339 источников, из них 151 – зарубежных.

ГЛАВА 1. ПРОЦЕСС ИНВАЗИИ ТРОФОБЛАСТА И АССОЦИАЦИЯ НАРУШЕНИЙ С ПАТОЛОГИЧЕСКИМ ТЕЧЕНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Цитомегаловирусная инфекция и беременность: современное состояние вопроса

Среди современных проблем, вызывающих тревогу общественности, остается проблема высокой распространенности ЦМВ инфекции, как среди населения в целом, так и среди самых незащищенных его слоев – у беременных женщин и новорожденных детей [6, 185, 219, 203].

Согласно результатам эпидемиологических исследований, в мире около 90% женщин детородного возраста и 0,5-2,5% детей раннего возраста страдают ЦМВ инфекцией [53, 121, 222, 234]. Примерно 87% беременных женщин в России [13, 178, 182] и более 80% в США являются серопозитивными в отношении ЦМВ [13, 230]. Частота обнаружения антител к ЦМВ варьирует от 40% до 90% [38]. Первичная или активная латентная ЦМВ инфекция в период беременности повышает потенциальную опасность трансплацентарной трансмиссии. Решающим фактором для этого является выраженная и длительная вирусемия, которая возникает в условиях снижения иммунореактивности организма [117, 189, 268, 300].

На основании научных исследований установлено, что ЦМВ инфекция – это заболевание, которое вызывает ДНК-содержащий антропонозный вирус *Cytomegalovirus hominis* семейства *Herpesviridae*. Она относится к числу оппортунистических инфекций. У иммунокомпетентных лиц данное заболевание протекает без клинических проявлений. Среди причин так называемой иммунодепрессии, способствующих реактивации и распространению ЦМВ инфекции, беременность занимает главенствующее место, что и предопределяет особый интерес к проблеме ЦМВ инфекции в период гестации [121, 122].

Следовательно, беременность способствует повышению риска заражения и реактивации ЦМВ. Аналогичная ситуация может быть у внутриутробного плода и новорожденного. В связи с несовершенством иммунитета возможна передача ЦМВ от инфицированной матери и длительная его присутствие в организме.

Цитомегаловирус, проникая в организм, проявляет широкий клеточный тропизм к большинству тканей и органов, в которых вирус вызывает заболевание [13].

В подавляющем большинстве случаев ЦМВ инфекция протекает бессимптомно, однако иногда у женщин возможно появления клинических симптомов острого респираторного заболевания, часто наблюдается клиника сходная с инфекционным мононуклеозом: слабость, утомляемость, субфебрильная температура, боль в горле, увеличение миндалин, лимфаденопатия, воспаление глотки и небные петехии [96, 111, 121, 122].

Согласно результатам исследований, ЦМВ инфекция в период гестации может наблюдаться как в латентной, так и в бессимптомной формах [76]. При этом необходим серологический скрининг на основе тестов IgM, IgG и авидности для женщин из групп риска, так как первичная инфекция или ее реактивация сопровождается трансплацентарной передачей ЦМВ от инфицированной матери к развивающемуся плоду с дальнейшими негативными исходами беременности, включая самопроизвольный аборт, внутриутробную гибель плода, нарушения роста, преждевременные роды, изменение объема амниотической жидкости, врожденную инфекцию и различные осложнения у выживших новорожденных [123, 201, 212, 312].

Как и другие герпесвирусы, ЦМВ переходит в латентное состояние после острой инфекции и впоследствии может реактивироваться. При первичном инфицировании матери риск передачи инфекции плоду составляет около 40%. Напротив, риск передачи плоду после реактивации составляет <0,05%, но вызывает большинство клинических проявлений заболевания.

Во многих исследованиях изучалась роль адаптивной и врожденной иммунной системы при ЦМВ инфекции. Исследования, изучающие роль Т-клеток при вирусной инфекции на границе между матерью и плодом, демонстрировали более низкое количество Т-клеток и более низкий ответ у матерей, которые вертикально передали ЦМВ своему потомству, по сравнению с инфицированными матерями, которые не передавали данную инфекцию, что потенциально предполагает активную роль Т-клеток при вертикальной передаче ЦМВ [49].

Цитомегаловирус способен преодолевать плацентарный барьер и поражать плод в различные сроки беременности [88, 254, 294]. Существует определенная зависимость между степенью неблагоприятного воздействия ЦМВ на плод и сроком беременности. Так, например, при инфицировании плода на ранних сроках, существует большая вероятность самопроизвольного выкидыша или аномалий развития ребенка [124, 142, 244, 279], тогда как при инфицировании в более поздние сроки, пороков развития плода не наблюдается, но довольно часто возникает многоводие, отмечаются преждевременные роды [198, 202] и так называемая «врожденная цитомегалия» новорожденного [148, 149, 228].

Врожденная ЦМВ инфекция является наиболее распространенной негенетической причиной потери слуха у детей. Для раннего периода инфицирования характерно поражение нервной системы [176, 225, 293], желудочно-кишечного тракта [139] и органов дыхания новорожденных детей [129]. Интерстициальную пневмонию относят к редким проявлениям врожденной ЦМВ инфекция. Ее наличие у младенца свидетельствует о тяжелом течении заболевания и неблагоприятном прогнозе для жизни новорожденного. Поражение органов дыхания при ЦМВ инфекции более вероятно у детей старше одного месяца, которые инфицируются во время родов или в раннем постнатальном периоде [183, 200, 204].

Внутриутробное инфицирование плода и новорожденного ЦМВ происходит во время беременности или в родах, и его источником является

мать. При этом риск передачи ЦМВ от матери к ребенку варьирует в широком диапазоне [94, 178, 226, 281].

Механизмы вертикальной передачи ЦМВ могут быть либо трансплацентарными во время беременности, либо трансвагинальными во время родов; кроме того, есть доказательства передачи инфекции через грудное молоко [13, 93, 96]. Трансплацентарная передача ЦМВ инфекции во время беременности составляет около 20–70% при первичных материнских инфекциях, в то время как риск передачи/заболевания ниже 1–1,5% при рецидивирующей инфекции. Передача может происходить на протяжении всего периода беременности, но в основном в первом триместре, вступая в контакт с биологическими жидкостями (такими как слюна, моча, кровь и выделения из половых органов) инфицированного человека. Следует указать о том, что 50% внутриутробного инфицирования приходится на трансплацентарную передачу, либо путем восходящей инфекции из шейки матки [96, 228, 271].

Передача ЦМВ через грудное молоко, безусловно, является наиболее распространенным способом передачи инфекции от матери ребенку [13, 96]. 75% новорожденных инфицируются через грудное молоко, причиной этого является высокая частота реактивации ЦМВ инфекция в период лактации [250, 330].

На основании научных исследований установлено, что в первом триместре беременности риск передачи ЦМВ плоду оценивается примерно в 35%, тогда как к концу третьего триместра этот показатель может варьировать примерно от 40% до 75%. При этом частота и тяжесть клинических осложнений у младенцев диагностируются в большей степени при выявлении активной ЦМВ инфекции у матери на ранних сроках, по отношению с обнаружением инфекции на более поздних сроках: во втором и третьем триместрах, соответственно: 32% и 15% [196, 215].

Наибольший риск для формирования тяжелых форм заболевания и внутриутробного инфицирования плода представляет первичная инфекция на

ранних сроках беременности. Первичной считается ЦМВ инфекция, если инфицирование ЦМВ и развитие инфекционного процесса наблюдается у ранее серонегативных пациентов [24, 322].

Последствия инфекций во время беременности включают тератогенные эффекты, вызывающие врожденные аномалии; задержку роста, мертворождение, выкидыш и неонатальную смерть; недоношенность; материнскую заболеваемость [157, 190, 192, 211].

Первичное инфицирование и вертикальная передача ЦМВ является одной из ведущих причин врожденной сенсоневральной тугоухости с частотой встречаемости 24% в первом триместре и 2,5% во второй половине беременности [64, 76, 216, 217].

Помимо этого, внутриутробная ЦМВ инфекция плода в первом или втором триместре может вызывать сложные постэнцефалитные нарушения головного мозга новорожденного ребенка [64, 80, 96, 150], которые в дальнейшем могут стать причиной моторной и умственной отсталости [55, 339], развитием церебрального паралича и эпилепсии [73, 96, 120, 288], дефектов сетчатки и прогрессирующей потере слуха [186, 299, 253, 337]. Поражение головного мозга, вызванное врожденной ЦМВ инфекцией, может быть результатом неконтролируемой репликации вируса, иммуноопосредованного повреждения цитотоксическими CD8(+) Т-лимфоцитами, а при наличии плацентарной недостаточности – гипоксией плода [96, 104, 339].

Летальный исход младенцев при тяжелой форме врожденной ЦМВ инфекции отмечается в 20-30%. При рождении у 13% новорожденных с ЦМВ симптомы проявляются в основном задержкой роста, микроцефалией, вентрикуломегалией, хориоретинитом, анемией, гепатитом, тромбоцитопенией и пурпурной кожной сыпью [24, 72].

Основным механизмом данных патологий является патогенное влияние ЦМВ на систему «мать-плацента-плод».

Вирус реплицируется в децидуальной оболочке, инвазивных цитотрофобластах, нарушает сосудистую сеть матки и цитотрофобласты ворсинок, лежащие в основе синцитиотрофобластов, затем достигает кровеносных сосудов в ядре ворсинок. Репликация вируса, фиброз и отек приводят к гипоксии внутриутробной среды и высвобождению цитокинов. Очаговая инфекция сосудов матки может нарушить ремоделирование цитотрофобластами артериол и уменьшить приток материнской крови к развивающейся плаценте, способствуя развитию гипоксии [121, 174, 246].

Ранние сообщения о ЦМВ инфицированных плацентах описывают сосуды в ворсинах хориона, которые демонстрируют уменьшение размера просвета, потерю клеточных элементов, фиброз и кальцификацию [31, 103, 105, 274]. Поражение эндотелиоцитов ЦМВ является причиной разрушения сосудов плода. Ворсинки становятся бессосудистыми и фиброзными [11, 83, 98]. Плацентарная патология возникает преимущественно при первичной материнской инфекции с передачей вируса и включает, кроме бессосудистых ворсин, образование синтициальных узелков на поверхности синцитиотрофобласта и отек [85, 123].

Следует указать о том, что на фоне развившегося васкулита и тромбозов при ЦМВ инфекции, в плаценте выявляются нарушения кровотока, а также различные иммунопатологические процессы с образованием циркулирующих иммунных комплексов [10, 32, 33, 105]. Наблюдается дифференцировка эндотелиальных клеток в маточных сосудах, повышается сопротивление в артерии пуповины, способствуя нарушению кровотока и оксигенации плода, а, следовательно, развитию внутриутробной гипоксии, фетоплацентарной недостаточности, преэклампсии [7, 15, 122, 147].

Заслуживают внимания исследования плаценты, при которых в условиях ЦМВ инфекции наблюдалась реакция продуктивного воспаления в ее материнском и фетальном компонентах. Высокая экспрессия ЦМВ выявлялась в амниоцитах, синтициальных трофобластах и сосудистом эндотелии. В

базальной мембране отмечалось наличие большого количества мононуклеаров с гиперхромными ядрами с базофильными включениями [256].

Цитомегаловирус особенно поражает амниотические мембраны [210], нарушает цитотрофобласт-индуцированный лимфогенез и ремоделирование сосудов в плаценте, препятствует правильному развитию клеток-предшественников трофобласта, тем самым нарушает ранние стадии развития ворсинок плаценты, что является причиной развития гипоксии и задержки роста плода [75, 233, 289].

Угрозу развития внутриутробной гипоксии плода в условиях обострения ЦМВ инфекции авторы связывают с супрессией ферментов энергетического обмена [85], высокой апоптотической гибелью клеток синцитиотрофобласта, где происходит синтез стероидных гормонов [84]. Отмечается нарушения гормонального баланса (снижение эстриола, эстрадиола, прогестерона, плацентарного лактогена) коррелирующего с уменьшением содержания холестерина, который является неотъемлемым компонентом клеточных мембран, предшественником синтеза гормонов [23, 127, 133]. Наблюдаются нарушения липидного метаболизма, фосфолипидов, являющихся субстратом синтеза холестерина, уменьшение которого служит фактором нарушения стероидогенеза и способствует развитию гормонального дисбаланса [60].

В научной литературе приводятся сведения о том, что при ЦМВ инфекции наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) с накоплением вторичных продуктов (малоновый диальдегид) [5, 20, 58, 59], оказывающих негативное действие на ферментативные системы, морфологические изменения эритроцитов [22, 56], инициацию процесса запрограммированной гибели клеток в плаценте [19]. Негативное влияние активных форм кислорода проявляется в увеличение содержания TNF- α в организме беременной, результатом чего являются деструктивные и воспалительные процессы в тканях, вплоть до развития эндогенной интоксикации [43]. Высокая активность процессов ПОЛ ассоциирована с нарушением стабильности мембраны эритроцита за счет активации ферментов

фосфолипазы A_2 и циклооксигеназы, высокой концентрации медиаторов воспаления, арахидоновой кислоты и ее производных, способствующих повреждению эндотелия сосудов пуповины [43, 57, 59].

Таким образом, резюмируя вышеизложенное, необходимо отметить, что осложнение беременности ЦМВ инфекцией отрицательно влияет на течение гестационного периода, родов, а также на перинатальный исход, при этом вид осложнений и их частота зависит от формы, стадии ЦМВ инфекции.

1.2. Процесс инвазии трофобласта (имплантация, первая волна инвазии трофобласта и формирования плаценты)

1.2.1. Первая волна инвазии трофобласта

Имплантация представляет собой сложный процесс развития, который включает тесные «перекрестные контакты» между эмбрионом и маткой [259, 287, 316]. Синхронное развитие эмбриона до стадии бластоцисты и дифференцировка матки до рецептивного состояния имеют важное значение для этого процесса. Успешное выполнение мероприятий по имплантации предполагает участие стероидных гормонов, факторов роста, цитокинов, факторов транскрипции, липидных медиаторов, а также регуляцию различными межмолекулярно-межклеточными взаимодействиями. Успех имплантации во многом зависит от готовности эндометрия (слизистой матки) к имплантации и качества самого эмбриона. Причем наиболее важная роль в наступлении беременности отводится эндометрию [155,184, 235, 265].

По результатам научных исследований установлено, что после оплодотворения и формирования зиготы в периоде бластогенеза в ходе дробления бластомеров образуется морула. Ориентировочно на стадии 58 бластомеров внутри морулы появляется жидкость, образуется полость (бластоцель) и зародыш превращается в бластоцисту, в которой различают наружный слой клеток: трофобласт, дающий начало плаценте и оболочкам

зародыша, и внутреннюю массу клеток: эмбриобласт, из которого в дальнейшем образуется плод. Формирование бластоцисты зависит от клеточных свойств, которые могут изменять архитектуру ткани. Это включает в себя рост, деление и смерть клеток; клеточные деформации и перестройки в результате клеточной адгезии, сокращений, выпячиваний и перекачивания жидкости [3, 68].

Процесс имплантации начинается к концу первой недели [259] и состоит из двух последовательных этапов: адгезии и инвазии. Адгезия цитотрофобласта к клеткам эндометрия осуществляется с помощью адгезивных молекул (фибронектин, интегрины, ламинин). Бластоциста прикрепляется ближе ко дню матки эмбриональным полюсом. По данным морфологических исследований с 16-18 дня после имплантации плодного яйца наблюдается процесс цитотрофобластической инвазии, который наиболее выражен с появлением клеток внутрисосудистого цитотрофобласта в просвете спиральных артерий на 5-6 неделе, так называемая первая волна инвазии трофобласта [99, 100, 118, 119].

На начальных этапах процесса инвазии клетки трофобласта приобретают инвазивный фенотип, происходит подавление интегрин $\alpha 6 \beta 4$ и повышение регуляции интегрин $\alpha 5$ и $\beta 1$ [14, 109].

Инвазивная способность трофобласта требует экспрессии и активности различных внеклеточных протеаз как в децидуальной ткани, так и ткани синцитиотрофобласта. Инвазивные клетки трофобласта и децидуальной оболочки широко экспрессируют медиаторы протеолиза такие как: ММР, А-дезинтегрин и катепсины [4, 214]. Кроме медиаторов протеолиза большое значение в процессе инвазии трофобласта имеют TIMPs, ингибирующие активность ММР во внеклеточном пространстве. Так же установлена роль хемокинов и цитокинов в процессе инвазии трофобласта, опосредующих молекулярно-клеточную взаимосвязь между децидуальной оболочкой и развивающимся плодом [100, 321]. Более подробно о данных регуляторах процесса инвазии будет рассмотрено ниже.

Следовательно, дальнейшая инвазия происходит за счет протеолитических и гидролитических процессов. Последовательно лизируется эпителий, собственная пластинка. Следует отметить, что в разрушении эпителия участвуют также собственные лизосомы, которые помимо внедрения зародыша, перестраивают кровеносную систему матери так, чтобы она омывала кровеносную систему плода. Имплантация занимает около 40 часов. За этот период зародыш полностью погружается в слизистую оболочку матки. К 8-9 дню после оплодотворения образуются лакуны – будущее межворсинчатое пространство. Участки с лизированным и частично деформированным эпителием закупориваются смесью, состоящей из крови, фибрина и остатков ткани. Данная структура получила название имплантационный коагулянт [173].

Примерно на 10-12 день после зачатия начинается развитие и морфогенез плацентарных ворсинок. Плацентарные ворсинчатые деревья представляют собой основные функциональные единицы плаценты, поэтому их адекватное формирование имеет решающее значение для развития здорового плода. Ранняя фаза формирования ворсинок начинается через 12–18 дней после зачатия и продолжается до 28 дня, после чего следует фаза ворсинок, которая длится до конца беременности. При раннем формировании плацентарных ворсин, т.е. в лакунарной фазе развития плаценты, в результате дифференцировки ворсинчатого трофобласта образуются два слоя, состоящие из наружного ворсинчатого синцитиотрофобласта и нижележащих, пролиферирующих ворсинчатых цитотрофобластов. Примерно на 14-й день клетки экстраэмбриональной мезодермы, происходящие от эмбриона, образуют дополнительный клеточный слой под примитивным цитотрофобластом, который позже разовьется во внутреннее стромальное ядро ворсинок плаценты. При этом цитотрофобласты начинают внедряться в синцитиальные трабекулы, образуя пальцевидные выросты, заполненные мононуклеарными цитотрофобластами, окруженными слоем многоядерных синцитиотрофобластов. Это образование также известно, как прорастание

трофобласта, и структура представляет собой первичные ворсинки, состоящие только из ворсинчатого трофобласта. Впоследствии внезародышевая мезодерма следует за цитотрофобластами и проникает в первичные ворсинки. Мезенхимальные клетки вытесняют ядро цитотрофобласта, превращая их во вторичные ворсинки. Вторичные ворсинки состоят из двух слоев трофобласта (внешний синцитиотрофобласт, внутренний цитотрофобласт), заполненных мезенхимальным ядром [51, 99, 146, 158].

Далее из ворсинчатого хориона формируется плодная часть плаценты: хориальная пластинка и ворсинки. На остальной площади ворсинки редуцируются, хорион становится гладким, однако на его отдельных участках можно наблюдать остатки редуцированных ворсинчатых образований [68].

С третьей недели внутриутробного развития последовательно наблюдается два важных процесса в развитии плаценты: васкулогенез и ангиогенез [319, 324]. В начале на 17-19 день трофобласт достигает материнских эндометриальных артерий, а именно, их спиральных артерий. С их разрушением и вскрытием устанавливается маточно-плацентарное кровообращение. Васкулогенез посредством образования кровеносных сосудов в мезенхиме вторичных ворсинок начинается на 18-20 день, что ремоделирует их в третичные ворсинки. Эта ранняя фаза васкулогенеза происходит независимо от развития сосудов и клеток крови у эмбриона. В основном все третичные ворсинки будут васкуляризированы к концу первого триместра. Формирование новых ворсин и, следовательно, непрерывный рост ворсинчатого дерева продолжается до конца беременности [4, 97, 153, 159].

Третичная ворсина – праматерь всех последующих генераций ворсин хориона. По мере роста и удлинения третичные ворсины проходят процесс дифференцировки вначале в незрелые промежуточные, далее в стволовые ворсинки. На поверхности мезенхимальных и незрелых ворсин образуются трофобластические почки, которые дают начало новым генерациям отростков и ветвей ворсин. Деление ворсин хориона происходит дихотомически [68].

Следовательно, к концу третьей, началу четвертой недели гестации большинство ворсин содержат кровеносные сосуды; сформировано ворсинчатое дерево, представленное стволовыми, промежуточными незрелыми и мезенхимальными ворсинами; мезенхима стромы ворсинок дифференцирована с образованием ретикулярных волокон, фибробластических клеток и клеток Кащенко-Гоуфбауэра [9, 26, 68, 187].

Четвертая неделя эмбриогенеза напрямую связана с притоком материнской крови к развивающемуся плоду, за счет активности вневорсинчатого цитотрофобласта. Благодаря якорным ворсинам трофобласт закрепляется на эндометрии. Трофобластические клетки пролиферируют, осуществляют выработку ферментов и разрушают ткани эндометрия. В результате чего наблюдается вскрытие спиральных артерий эндометрия, устанавливается маточно-плацентарный кровоток. Данный процесс осуществляется в два периода: с четвертую по шестую недели, и с восьмой по двенадцатую недели внутриутробного развития.

По окончании четвертой недели гестации синцитиотрофобласт замещает цитотрофобласт. Благодаря субмикроскопическим пространствам между синцитием и клеточным трофобластом осуществляется обмен питательными веществами и гормонами между клетками цитотрофобласта и средой. На момент шестой недели беременности синцитиотрофобласт должен занимать $\frac{2}{3}$ эпителиального пласта ворсинок [3, 173, 181].

Как показывают исследования, инициация, созревание и поддержание плацентарной сосудистой сети в достаточной мере зависит от адекватного функционирования факторов, обеспечивающих пролиферацию клеток эндотелия и их жизнеспособность. Тогда как, с другой стороны, апоптоз (запрограммированная гибель клеток), является важным признаком нормального развития сосудистой сети путем секреции ангиогенных факторов и ремоделирования материнских спиральных артерий [9, 26, 52, 324].

Кровеносные сосуды снабжают все клетки и ткани кислородом, который необходим для их функционирования, процессов развития и гомеостаза.

Быстро делящиеся клетки увеличивают потребность в кислороде из-за усиленного метаболизма, что приводит к локальной гипоксии, которая является основным регулятором неоангиогенеза за счет активации HIF-1 α , высококонсервативного фактора транскрипции, регулирующего ряд проангиогенных генов, включая VEGF, ангиопоэтин-1, -2, тромбоцитарный фактор роста, основной фактор роста фибробластов и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1. Стимуляция HIF-пути индуцирует локальный ангиогенез, обеспечивая тем самым как кратковременную, так и долговременную адаптацию к гипоксии [308].

Различные стадии морфогенеза сосудистой сети регулируются разнообразными ростовыми факторами. Наиболее важными факторами, индуцирующими ангиогенез, являются VEGF и основной фактор роста фибробластов [249, 258, 261]. Сосудистый эндотелиальный фактор роста индуцирует оксид азота и увеличивает проницаемость ранее существовавших сосудов, вызывая вазодилатацию. Помимо этого, VEGF также стимулирует подвижность и пролиферацию эндотелиальных клеток, тем самым иницируя процесс прорастания капилляров. Эндотелиальные клетки после миграции в места повреждения тканей начинают пролиферировать. На следующем этапе ингибируется пролиферация эндотелиальных клеток и начинается формирование капилляров. Наконец, ангиогенез заканчивается рекрутированием периэндотелиальных клеток для построения зрелых сосудов – перicyтов для мелких капилляров и гладкомышечных клеток для крупных судов [165, 306].

Исследования, проведенные зарубежными авторами, показали, что высокая концентрация VEGF-A, ангиопоэтина-1 и -2 в тканях плаценты прямо коррелирует с переходом процесса васкулогенеза к разветвляющемуся ангиогенезу, а затем и к незарветвляющемуся ангиогенезу [308].

Первая волна инвазии цитотрофобласта способствует расширению и вскрытию спиральных артерий в межворсинчатое пространство, что обеспечивает начало и прирост маточно-плацентарного кровотока. К исходу

десятой недели на всей площади decidua basalis образуется система зияющих маточно-плацентарных артерий с широким просветом и постоянным кровотоком. Первая волна инвазии трофобласта заканчивается в течение 11-14 недель [3, 173].

1.2.2. Роль апоптоза при инвазии бластоцисты и трофобласта в стенку матки

Важную роль в процессах развития плаценты играет апоптоз [130, 152]. Апоптоз изучался в плаценте человека как в нормальных физиологических, так и в патологических условиях. Однако динамика апоптотических событий в развитии плаценты на разных стадиях остается дискуссионной. По мнению нескольких исследователей, скорость апоптоза прогрессивно увеличивается во время нормальной беременности. Так, показано, что уровень апоптоза в ворсинах плаценты изменяется в течение нормальной беременности, будучи самым низким в первом триместре, увеличиваясь в третьем и заметно ускоряясь после 40 недель беременности [231, 266, 282, 331]. Напротив, другие исследователи показали, что апоптоз преобладает на ранних сроках беременности, но резко снижается после второго триместра, затем вновь увеличивается к моменту родов [8, 17]. Инициацию процесса апоптоза в плацентарной ткани связывают, главным образом, с высокой экспрессией различных проангиогенных факторов [305] и формированием сосудистого дерева [152].

Внедрение эмбриона в эндометрий – это процесс, который требует таких важных событий как: первичный контакт, адгезия/прикрепление, инвазия и иммунная регуляция, каждое из которых сопряжено с процессом апоптоза.

Изучение молекулярных механизмов программируемой гибели клеток эндометрия в экспериментальных условиях показало влияние отдельных бластоцист человека на регуляцию апоптоза в культивируемых эпителиальных клетках эндометрия человека как в фазах сближения и первичного контакта,

так и в фазах адгезии имплантации. Авторы сообщают о скоординированной эмбриональной регуляции апоптоза в эпителиальных клетках эндометрия. В фазе сближения и первичного контакта присутствие бластоцисты спасает эпителиальные клетки эндометрия от апоптотической гибели. В тоже время, когда бластоциста прикрепляется к монослою эпителиальных клеток эндометрия, она индуцирует паракринную апоптотическую реакцию, способствуя процессу инвазии. Инициация апоптоза в эндометрии на стадии прилипания бластоцисты происходит по механизму Fas/FasL взаимодействия, вследствие высокой экспрессии Fas в эндометрии и соответственно FasL в трофобласте [266, 309].

Таким образом, в процессах имплантации и развития плодного яйца важную роль играет апоптоз. Данные литературы свидетельствуют о непосредственном участии процесса апоптоза в регуляции роста и инвазии вневорсинчатого трофобласта, а также в процессах дифференцировки эпителия ворсин и обновлении ворсинчатого трофобласта [155].

1.3. Роль гормонов, факторов роста, матриксных металлопротеиназ и ингибиторов иммунных факторов, цитокинов в процессах инвазии трофобласта и их ассоциация с нарушением течения беременности

1.3.1. Влияние гормонов на инвазию трофобласта и рост плаценты

Миграция и инвазия трофобластов в спиральные артерии и в ткани матки являются ключевыми событиями в плацентации. Обычно эти события контролируются ферментами деградации внеклеточного матрикса, ангиогенными факторами, молекулами клеточной адгезии и интегринами, цитокинами, гормонами, интерферонами, факторами транскрипции. Активно участвуют в данных процессах рецепторы тирозиназы, которые синтезируются в больших количествах плацентой [36, 131, 136, 240].

На данный момент активно исследуется роль гормонов в поддержании репродуктивного процесса. В первом триместре гестации важную роль играют гормоны фетоплацентарного комплекса (хорионический гонадотропин человека – ХГЧ, прогестерон, эстрадиол), участвующие в имплантации эмбриона [48, 114] и инвазии трофобласта [102, 237, 270].

В настоящее время широко признано, что в течение первого триместра плацента развивается при низких концентрациях кислорода при отсутствии значительного материнского кровообращения, условиях, которые, как ожидается, будут поддерживать васкулогенез и ангиогенез [195]. На начальных этапах гестации цитотрофобласт синтезирует ХГЧ, который, как показывают исследования, способствует ангиогенезу путем экспрессии VEGF-A, стимулируя дифференциацию трофобласта. Далее, уровень экспрессии ХГЧ уменьшается и остается неизменным вплоть до 34 недели беременности [145, 323]. Хорионический гонадотропин влияет на имплантацию эмбриона с помощью MMP-2, MMP-9 и TIMP-1 через экспрессию β -1,4-галактозилтрансферазу I [251].

В своей работе Газиева И.А. соавт. установили, что прерывание беременности в первом триместре ассоциировано со сниженной продукцией β -субъединицы ХГЧ и белков, опосредующих иммуномодулирующие, толерогенные и ангиогенные эффекты: протеина А и трофобластического β -гликопротеина на фоне повышения проангиогенного VEGF и фактора роста тромбоцитов (PDGF), при снижении продукции антиангиогенного рецептора васкулоэндотелиального фактора 1 (*s*VEGFR1), белок 1, связывающий инсулиноподобный фактор роста (IGF-*BP*1) и плацентарный фактор роста (PIGF) [29].

Прогестерон является еще одним гормоном, контролирующим инвазивность трофобластических клеток за счет снижения секреции MMP-9 трофобластов, хотя данный эффект зависит от периода гестации.

Прогестерон способствует инвазии вневорсинчатого трофобласта в децидуальные клетки [45, 334], ингибируя апоптоз [301], подавляя активность

каспазы-3, а также экспрессии поли(ADP-рибозы), полимеразы (PARP), экспрессируя большое количество Bcl-2 в этих клетках [41, 229]. С другой стороны, прогестерон способен активировать в эндометрии синтез большого количества цитокинов (IL-4, IL-5, IL-10, IL-17, лейкемия-ингибирующий фактор (LIF), рекомбинантный белок человека (M-CSF)), регулирующих процессы инвазии трофобласта [165], а также такого аминокислоты, как кассептин, kisspeptin (KISS1) [30, 164].

По данным Лысовой А.Н. угроза прерывания беременности и произошедший выкидыш ассоциировался с уменьшением в сыворотке крови таких гормонов как: эстрадиол, прогестерон, пролактин на фоне низкого уровня KISS1, по сравнению с аналогичными показателями здоровых беременных женщин. Автор делает заключение об участии KISS1 в патогенезе невынашивания беременности [86]. Также отмечалось снижение концентрации прогестерона и эстрадиола в крови женщин с замершей беременностью, самопроизвольным абортom [28], в плаценте при ЦМВ инфекции [23, 82, 107, 108].

1.3.2. Роль факторов роста в процессах инвазии трофобласта и их ассоциация с патологическим течением беременности

Гармоничное развитие плаценты зависит также от содружественного взаимодействия сосудистых факторов роста и их рецепторов. Данные белковые соединения, представлены VEGF, PlGF и их рецепторами (VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3) [1, 16, 36, 240]. При физиологической беременности VEGF, PlGF и их рецепторы осуществляют контроль выработки большого количества белков и гормонов в трофобласте [47, 136], активацию ангиогенеза в органах репродуктивной системы женщины [126], стимулируют пролиферацию трофобласта и повышают его устойчивость к цитотоксичности NK-клеток [27, 46]. Однако плацента продуцирует в норме большее количество PlGF, чем VEGF [36]. Наличие данных двух аналогичных

молекулярных форм предполагает различную физиологическую роль в развитии и дифференцировке плаценты. Растворимые изоформы VEGFR1, VEGFR2 могут осуществлять регуляцию активности PlGF и VEGF, что подтверждает факт вовлечения сосудистых факторов роста и их рецепторов в патогенез развития патологии прикрепления плаценты [36], угрозы выкидыша [137, 264], синдром задержки роста плода [39], сердечно-сосудистой патологии [62].

Как отмечает Chau K. активность рецепторов к PlGF и VEGFR-1 увеличивается под воздействием аутокринной регуляции в ишемизированных участках плаценты, тогда как активность рецепторов VEGFR-1, VEGFR-2 в сосудах ворсинчатого трофобласта увеличивается под контролем паракринной регуляции [207].

Плацентарный фактор роста способствует развитию и созреванию плацентарной сосудистой системы, влияет на дифференцировку естественных клеток-киллеров матки, которые, в свою очередь, опосредуют инвазию трофобласта в децидуальные клетки [207]. Помимо этого, PlGF увеличивает пролиферацию клеток трофобласта и уменьшает апоптоз, обладает иммуномодулирующим эффектом [298].

Концентрация PlGF в первом триместре неосложненной беременности низкая и возрастает, начиная с 11-12 недель, при этом пик подъема наблюдается на 30 недели, далее концентрация данного фактора уменьшается [54, 114, 207]. Отмечено, что уровень PlGF снижается в сыворотке крови у женщин с синдромом задержки роста плода [29], с преждевременными родами и плацентарной недостаточностью [25, 160, 296], а также в крови и моче у женщин с преэклампсией, что вероятно, обусловлено сочетанием сниженной экспрессии PlGF [297] и низкого уровня свободного PlGF из-за связывания с растворимой fms-подобной тирозиназой (sFlt-1), уровень которой повышен у женщин данной патологии. Низкий уровень циркулирующего PlGF является показателем аномальной плацентации [187, 193, 291, 326].

Данные относительно экспрессии PIGF в плацентарной ткани противоречивы. Постулируется, что экспрессия снижается из-за постоянной плацентарной гипоксии, вызванной недоразвитым маточно-плацентарным кровообращением. Тем не менее, исследования также показали увеличение [295] или отсутствие изменений экспрессии PIGF в ткани плаценты женщин с преэклампсией [207].

Таким образом, VEGF и PIGF являются стимуляторами ангиогенеза и увеличивают проницаемость стенки сосудов внутри плацентарного русла, за счет аутокринного механизма регулируют дифференцировку, метаболическую активность и инвазию трофобласта при плацентации [21, 114, 180].

Уже на стадии четырех бластомеров показано присутствие TGFA и внутриклеточного домена к рецептору эпидермального фактора роста (EGF). Определенную роль в подготовке эмбриона и эндометрия к имплантации путем прямого контакта трансмембранной формы TGFA на клетках эндометрия и рецептором эпидермального фактора роста эмбриона или эндотелиальных клеток играет эндометриальный TGF-A [69, 90].

Трансформирующий ростовой фактор вовлечен в инвазию, пролиферацию и дифференцировку клеток трофобласта, стимулирует рост новых сосудов [329]. Трансформирующий ростовой фактор секретируется клетками бластоцисты и действует через транскрипционные факторы Smad для регуляции пролиферации, дифференцировки, миграции и апоптоза клеток. Smad 7 экспрессируется в цитотрофобласте и ворсинчатом хорионе синцитиотрофобласта и противодействует передаче сигналов TGF- β /Smad, в которой он является нижестоящим геном-мишенью, и его экспрессия указывает на активацию пути передачи сигналов TGF- β /Smad [311]. При физиологическом течении беременности TGF- β способствует децидуализации эндометрия, ингибирует пролиферацию, миграцию и инвазию клеток трофобласта, стимулирует клетки к образованию многоядерных клеток и регулируют образование и функцию плаценты [291]. На ранних сроках беременности низкая экспрессия TGF- β 1 приводит к недостаточной иммунной

толерантности у матери и нарушениям эмбриональной имплантации, тогда как высокая экспрессия $TGF-\beta 1$ способствует нормальной инвазии клеток трофобласта в ткань эндометрия, что также инициирует нарушения эмбриональной имплантации. Пик экспрессии $TGF-\beta 1$ достигает максимума на 17 и 34 неделях беременности, что совпадает с завершением инвазии цитотрофобласта в децидуальную и плацентарную сферы через 18 недель и завершением роста плода на 35 недели беременности [40, 132, 311, 328].

В процессе имплантации, модулировании сосудистых реакций, регулировании роста миометрия ведущую роль играют протеины инсулиноподобных факторов роста. Плацентой продуцируется инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), который осуществляет регуляцию трансплацентарного переноса питательных субстратов к плоду и тем самым обеспечивает рост и развитие плода [145], в эпителиальной ткани матки экспрессируются IGF1 и IGF2. Инсулиноподобный фактор роста 1 в плаценте обладает двойственной активностью: рост-стимулирующей и инсулиноподобной, ускоряет процессы синтеза протеинов и замедляет их разрушение [87, 158]. Цитокины колония стимулирующий фактор1 (CSF1) и $TGF-\beta$, необходимые для роста и развития трофобласта, пролиферации и дифференцировки, продуцируют децидуальные стромальные клетки и НК-клетки [145].

В работах ряда исследователей установлено возрастание содержания IGF1 при нормальном течении беременности с увеличением срока гестации, тогда как при плацентарной недостаточности и преэклампсии содержание данного показателя было сниженным [106]. Также отмечена положительная корреляция IGF1 с размерами плода при рождении [87]. Авторы указывают, что низкое содержание IGF1 сопряжено с прогрессированием степени задержки роста плода, отмечают на особую роль данного фактора в формировании размеров плода.

Максимальные уровни $TGF-\beta$, EGF и IGF в плаценте характерны к концу первого триместра, снижаясь во втором триместре [101], что сочетается с

активацией оксидативного стресса. Период с 9 по 23 недели характеризуется расширением капиллярного слоя плода со значительной экспрессией VEGF-A и умеренной PlGF. После 25 недели гестации содержания VEGF-A резко уменьшается [159, 166]. Процесс ангиогенеза длится вплоть до созревания кровеносных сосудов и сложной сосудистой сети, обеспечивающих рост плода [195]. При этом в синцитиотрофобласте развивается окислительный стресс [338]. Наблюдается увеличение экспрессии PlGF более чем на 25% в два периода физиологической беременности: от начала беременности до конца второго триместра [67], далее на 25 недели происходит уменьшение экспрессии данного гена [166].

Важно отметить, что VEGF-R2 играет значимую роль в развитии плода, его инактивация способствует ранней эмбриональной смертности у экспериментальных животных [91]. Рецептор фактора роста эндотелия сосудов 2 необходим для дифференцировки, пролиферации и проницаемости клеток эндотелия, способствуя миграции эндотелиоцитов через альтернативный путь PI3K (фосфатидилинозитол-3-киназа)/Akt (протеинкиназа В альфа) [285].

Сосудистый эндотелиальный фактор роста считается наиболее важным фактором, способствующим дифференцировке мезенхимальных клеток ядра ворсинок в гемангиобластные стволовые клетки [50]. Его экспрессию индуцирует TGF- β 1 [91, 171].

Крукиер И.И. и др., исследовав содержание VEGF-A и TGF- β в биоптате плацент у пациентов с плацентарной недостаточностью, установили влияние продукции данных факторов на формирование перинатального поражения ЦНС у новорожденных с задержкой внутриутробного роста плода, что позволило рекомендовать их в качестве информативных тестов ранней диагностики синдрома задержки роста плода [134].

Полиморфизм TGF- β Arg25Pro связан с патологическим течением беременности [89, 245]. Передача сигналов рецептора TGF- β 1 регулирует развитие, дифференцировку и эффекторную функцию Т-клеток. Экспрессия

иммуноассоциированной изоформы $TGF-\beta 1$ абсолютно необходима иммунной толерантности клеток трофобласта к отцовским антигенам плода. Следовательно, $TGF-\beta 1$ играет важное значение в процессе гестации.

При замершей беременности по данным [36] в ворсинах трофобласта выявлялась сниженная иммунореактивность VEGF-A и VEGF-R2 в трофобласте и VEGF-R1 в синцитии, тогда как Траль Т.Г., Толибова Г.Х. отмечали повышение экспрессии VEGF-A в ворсинках хориона и децидуальной ткани при данной патологии у женщин на сроке 5-8 недель [164].

Помимо этого, показана повышенная активность VEGF-A, VEGF-R1 и сниженная активность PlGF в плацентарной ткани женщин с такими осложнениями гестационного периода, как угрозой невынашивания беременности, синдромом задержки внутриутробного роста плода и преэклампсия [167-169, 232].

Повышение уровня VEGF-A в плазме крови женщин ассоциировано с плацентарной недостаточностью [25, 115], а также с преждевременной отслойкой плаценты [118]. В других исследованиях показано увеличение синтеза и экспрессии рецепторов VEGF-A в условиях гипоксии [166, 170]. Однако исследованиями Калиматовой Д.М., Шатуновой Е.П. (2014) у беременных женщин, перенесших грипп H1N1 во время беременности, установлено снижение концентрации VEGF в плазме периферической крови на фоне повышенного содержания эндотелиального рецептора для протеина C и концентрацией эндотелина-1. При этом отмечалось выраженность дисбаланса данных факторов с прогрессированием тяжести гриппа [63].

Снижение экспрессии VEGF в эндотелиоцитах и клетках стромы терминальных ворсин плаценты и связанное с этим уменьшение количества капилляров в ворсинках было выявлено в плаценте при тромбофилии [116].

В исследованиях Андриевской И.А. и соавт. установлено, что ингибирование секреции протеина PlGF клетками трофобласта при ЦМВ

инфекции на ранних сроках гестации является одним из патогенетических механизмов развития невынашивания беременности [124, 157].

В работе Орлова А.В. и соавт. показано, что снижение экспрессии VEGF связано со спонтанным выкидышем, вероятно, из-за дефекта фетального и плацентарного ангиогенеза. Сообщалось о нескольких полиморфизмах гена VEGF-A, в том числе -2578C/A и -1154G/A (промоторная область), -583T/C (интрон 6), 5'-нетранслируемая область -634G/C и +963C/T 5'-нетранслируемая область, связанных с измененной секрецией VEGF-A [113].

В нескольких отчетах исследовалась ассоциация вариантов гена VEGF-A с измененной секрецией VEGF и риском потерей беременности, но с неубедительными результатами [197], в том числе отсутствие ассоциации -634G/C полиморфизма у женщин в первом триместре с невынашиванием беременности [89].

Зарубежные авторы исследовали однонуклеотидный полиморфизм гена VEGFA: -2578C/A, -460T/C, -1154G/A, -634G/C, 398G/A, 497G/A, -583T/C, и 936C/T и сообщили о связи VEGFA-583T/C с повышенным риском спонтанного выкидыша [197]. Низкую ассоциацию полиморфизма гена -2578C/A с потерей беременности в первом триместре установили и отечественные исследователи [89]. Этот однонуклеотидный полиморфизм располагается в промоторной области, аллель -2578A связывают с низким уровнем экспрессии гена VEGF-A [197].

Таким образом, факторы роста необходимы на всех этапах развития беременности от имплантации до родов и являются ключевыми участниками в молекулярной регуляции процессов, связанных с формированием системы «мать-плацента-плод». Нарушения функционирования белкового продукта генов факторов роста становится причиной различных осложнений беременности.

1.3.3. Матриксные металлопротеиназы, ингибиторы иммунных комплексов и их роль в развитии плаценты при физиологической и патологической беременности

Семейство внеклеточных протеиназ составляют ММР, которые получили свое название за способность специфически осуществлять гидролиз основных белков внеклеточного матрикса. Матриксные металлопротеиназы представляют собой цинкзависимые протеазы, которые играют важную роль в ремоделировании тканей. ММР включают коллагеназы (ММР-1, ММР -8, ММР -13), желатиназы (ММР-2, ММР-9), стромелизины (ММР-3, ММР -7, ММР-10–12), матрилизины, ММР мембранного типа (ММР-14–17) и другие ММР с различной тканевой экспрессией, распределением и субстратной специфичностью [45, 141, 333].

Клетками цитотрофобласта экспрессируются различные виды ММР. Центральное место в деградации составных компонентов базальной мембраны и матрикса занимают ММР-2 и ММР-9 [44, 333]. При этом ММР-2 и ММР-9 и их ингибиторы: TIMP-1 и TIMP-2 определяют ход имплантации, плацентации и инвазивную способность трофобласта в эндометрии [35, 275, 238].

Металлопротеиназы тесно связаны с имплантацией бластоцисты, образованием плаценты и ремоделированием сосудов. Матриксная металлопротеиназа 2 и ММР-9 ограничивают скорость ферментов, которые опосредуют инвазию цитотрофобласта и образование плаценты. Различные гормоны, факторы роста, цитокины, вырабатываемые плацентой прямо или косвенно, влияют на систему MMPs/TIMPs, регулирующую инвазию цитотрофобласта [44, 292]. Трансформирующий ростовой фактор β индуцирует фибронектин, ингибитор активатора плазминогена и экспрессию TIMP-1 для ингибирования активации MMPs [208].

В физиологических условиях ММР, TIMP и TGF- β регулируют синтез и деградацию коллагена IV в цитотрофобласте. Дисрегуляция MMPs/TIMPs и аномальная инвазия цитотрофобласта вызывают выкидыш, ограничение

внутриутробного развития, гипертонические расстройства во время беременности [90, 144, 161]. Секреция MMP клетками трофобласта отрицательно коррелирует с экзогенным уровнем *TGF-β1*.

Следует указать о MMP-12, которая секретируется трофобластом и способствует процессам деградации эластина стенок спиралевидных маточных артерий [262]. Снижение экспрессии мРНК MMP-12 обнаружено у женщин с преэклампсией в первом триместре беременности [151].

На первых этапах процесса инвазии в цитотрофобласте неинвазивный фенотип интегринов изменяется на инвазивный. Наблюдается высокая экспрессия E-кадгерина, VCAM, ICAM, β1-β3-интегринов, PECAM-1. Далее наблюдается обратное явление, способствующее прекращению цитотрофобласта «заякориваться» и мигрировать в децидуальную оболочку. Данное явление может быть неблагоприятным фактором, вызывающим различные осложнения гестационного процесса [44].

Снижение уровня MMP-2 и MMP-9 установлено в ранние сроки беременности, осложненной преэклампсией [2], гипертензией [283], при невынашивании беременности инфекционно-воспалительного генеза [61]. Также отмечается, что генетический полиморфизм -1612 5A/6A MMP-2 ассоциирован с развитием преэклампсии легкой и средней тяжести [112].

Как показывают исследования Liu T. et al. (2015) уровень экспрессии MMP-2 и MMP-9 снижается в плаценте при ЦМВ инфекции, при одновременном усилении экспрессии *TGF-β1*. Помимо этого ЦМВ ингибирует экспрессию Smad7, что приводит к увеличению *TGF-β1*, который связывается с рецепторами клеток трофобласта и осуществляет ингибирование секреции MMP-2 и MMP-9. Следовательно, аномальная экспрессия *TGF-β1* нарушает баланс между ингибированием и стимуляцией дифференцировки и инвазии клеток трофобласта, что приводит к чрезмерному подавлению инвазии и дифференцировки клеток трофобласта, а, следовательно, к поверхностной имплантации цитотрофобласта, предотвращая образование эндотелиальных клеток спиральной артерии матки. ЦМВ действует на нескольких этапах

сигнального пути $TGF-\beta 1/Smad$, препятствуя пролиферации и инвазии цитотрофобласта, способствуя образованию узких спиральных артерий, высокому сопротивлению крови, снижению перфузии плацентарной крови и обмену веществ, что является причиной неблагоприятного исхода беременности [311].

Следовательно, влияние протеолитических энзимов наиболее существенно в период имплантации, который является ключевым и обуславливает последующее течение беременности.

1.3.4. Влияние цитокинов на функциональное состояние трофобласта. Цитокины при физиологической и патологической беременности

На основании научных исследований установлено, что успешная беременность требует тщательно скоординированного взаимодействия между матерью и плодом. Иммунные клетки и сигнальные пути цитокинов участвуют в качестве медиаторов этих коммуникаций, способствуя здоровой беременности. Тогда как, многие инфекции или воспалительные состояния у беременных женщин вызывают тяжелые заболевания и пагубно влияют на развивающийся плод.

При физиологической беременности цитокиновый состав смещается в сторону иммуносупрессорных Th-2 цитокинов: $IL-2$, $IL-10$, $TGF-\beta$ [154]. Известно, что $TNF-\alpha$, $IL-6$, $IL-1$ экспрессируются в эндотелиальных клетках сосудов и обладают активностью в отношении их. Имеются данные о негативном влиянии $IL-1\beta$ на продолжительность жизни эндотелиальных клеток и стимуляции процессов ангиогенеза $TNF-\alpha$ при кратковременном воздействии и в минимальных концентрациях. Однако более длительное воздействие и/или высокая экспрессия $TNF-\alpha$ способствует торможению процессов пролиферации и инициирует апоптотическую гибель эндотелиоцитов с развитием нарушений в микроциркуляторном русле

плаценты [110]. Во время беременности TNF- α влияет на синтез гормонов, архитектуру плаценты и эмбриональное развитие [325]. Зарубежные исследователи, обобщив данные по изучению функции TNF- α , подчеркивают его влияние на ингибирование развития эмбриона и плода, регуляцию продукции VEGF в первом триместре беременности и косвенную модуляцию проницаемости сосудов плаценты и ангиогенного процесса [290, 324].

Другими провоспалительными цитокинами, которые были изучены *in vitro* и отмечены как участвующие в регуляции ангиогенеза, но в отрицательном смысле, являются интерферон γ (IFN- γ) и IL-12. Интерферон γ , подавляет рост эпителиальных клеток и образование капилляров. Интерлейкин 12 проявляет антиангиогенные свойства, тем самым подавляя продукцию VEGF. Интерферон γ и IL-12 являются жизненно важными медиаторами uNK-клеток, активируя и стимулируя их модулирующую функцию, участвующую в формировании материнских спиральных артерий во время беременности. Цитокины IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и IL-13 связаны с высвобождением плацентарного лактогена и хорионического гонадотропина из трофобласта. При этом показано, что IL-6 обладает проангиогенным действием, тогда как IL-4 может влиять на функцию эндотелиальных клеток, как в положительном, так и в негативном смысле [324]. Интерлейкин 1β участвует в процессе имплантации эмбриона и развитии плаценты, путем усиления адгезивности эндометрия и стимуляции экспрессии интегрина $\beta 3$ [65, 78].

Другим не менее значимым цитокином на этапе имплантации, инвазии и при децидуализации эндометрия является LIF, который регулирует действие подавляющего большинства иммунных клеток, присутствующих в эндометрии во время имплантации, а также контролирует взаимодействие между децидуальными иммунными клетками и клетками трофобласта. Как правило, молекулярные действия LIF важны для нескольких биологических процессов, происходящих во время имплантации, включая рекрутирование эндометриальных лейкоцитов, децидуализацию и трансформацию матки в

рецептивное микроокружение, а также для взаимодействия эмбриона и эндометрия, и инвазии трофобласта.

Максимальная экспрессия LIF в эпителии эндометрия приходится на период имплантационного окна. Ингибирующий лейкемию фактор и его рецептор также экспрессируются в преимплантационных эмбрионах и в цитотрофобластах. Помимо всего прочего, LIF ингибирует активность желатиназы в цитотрофобластах, тем самым влияя на клеточную инвазивность [248].

На миграцию клеток трофобласта инициирующее действие оказывают: EGF, LIF, IL-11 [286], а также семейство IL-1 β и стромальный клеточный фактор роста, тогда как TNF- α , TGF- β , INF- γ способствуют ингибированию миграции клеток трофобласта [252]. Стимулирующее действие на процессы пролиферации клеток трофобласта выявлено в отношении VEGF, EGF, PlGF [284], а также GM-CSF, LIF [65].

Контроль секреторной активности клеток трофобласта может обеспечиваться различными цитокинами. Интерлейкин 6 модулирует экспрессию и ферментативную активность MMP-2 и MMP-9, обеспечивает дозозависимую стимуляцию секреции лептина в клетках трофобласта. Фактор некроза опухолей α индуцирует выработку трофобластом коллагеназ и регулирует продукцию VEGF в трофобласте на ранних сроках гестации. Также сообщалось, что LIF увеличивает секрецию TIMP-1 и TIMP-2 и снижает активность желатиназы клетками трофобласта первого триместра, что свидетельствует об общем ингибирующем эффекте на инвазию трофобласта [284].

В модели на крысах TNF- α причинно связан с недостаточной инвазией трофобластов и ремоделированием спиральных артерий, что приводит к развитию преэклампсии и задержки роста плода [267]. Эти результаты показывают сложность регуляции инвазии трофобластов провоспалительными цитокинами. Хотя механизмы, лежащие в основе этих противоположных ролей, неизвестны, концентрация цитокинов, их пространственные и

временные профили, их источники или происхождение (иммунные клетки или клетки эндометрия) и их взаимодействия с другими цитокинами могут объяснить различия. Изменения профилей провоспалительных цитокинов могут также нарушать взаимодействия между децидуальными естественными клетками-киллерами и клетками трофобласта, тем самым модулируя процесс инвазии [310].

Формирование провоспалительной реакции путем увеличения экспрессии таких цитокинов, как: IL-1, IL-6, TNF- α считается предпосылкой для успешной имплантации оплодотворенной яйцеклетки в матку. Тем не менее, повышенная инфильтрация лейкоцитов и высокая экспрессия провоспалительных цитокинов может быть основной причиной осложнений и неудач во время беременности, связанных с усилением воспалительного Th1-ответа, что в конечном итоге будет способствовать повреждению тканей и гибели эмбриона [18, 156, 162, 276]. Повышение уровня IL-6 установлено в сыворотке крови женщин, беременность которых осложнялась преэклампсией, угрозой преждевременных родов, ожирением I степени [77, 95, 278].

Следует указать о том, что биологические функции TNF- α зависят от его связывания с рецепторами TNF-R1 и TNF-R2. Растворимые формы данных мембранных рецепторов связываются с TNF- α с высоким сродством и могут нейтрализовать функцию TNF- α [191]. Yu et al., используя проточно-цитометрическое и иммуногистохимическое измерение TNF-R1 в децидуальной оболочке и определение уровней растворимого TNF-R1 в сыворотке с помощью иммуноферментных анализов, обнаружили связь между сверхэкспрессией TNF-R1 и привычным невынашиванием беременности на ранних сроках [332]. В исследовании Calleja-Agius J. установлена секреция ворсинками растворимого TNF-R1 в культуральной среде и содержание растворимого TNF-R2 в ворсинчатом гомогенате были значительно выше в случаях с аномальным кариотипом [205].

Нормальное течение процессов имплантации, роста и развития эмбриона возможно только при преобладании в децидуальной ткани и сыворотке крови

противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10), тогда как при патологическом течении беременности на фоне урогенитальной инфекции, преэклампсии, хронической фетоплацентарной недостаточности [18, 37, 125, 199], самопроизвольного выкидыша и спонтанных преждевременных родов выявляется увеличение уровня IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , INF- γ [74, 81, 135, 175].

Интерлейкин 4 продуцируются как в ворсинах плаценты, так и в амниохориальной и децидуальной тканях. Его концентрация повышается при физиологическом течении беременности. Выработку IL-4 стимулирует прогестерон. В содружестве эти два фактора ингибируют реакции Th1 при беременности [12, 93].

На сегодняшний день некоторые авторы сообщают о значительно более низких уровнях IL-4 и IL-10 при спонтанных или привычных выкидышах [327]. Аналогичные результаты были получены при исследовании концентрации IL-4 и IL-10 у беременных женщин с ЦМВ инфекцией и вирусом простого герпеса [42].

Следовательно, противовоспалительные цитокины являются ключевыми медиаторами иммунологических сигнальных путей, участвующие в плацентарной инвазии, пролиферации и ангиогенезе, а также в ингибировании провоспалительных цитокинов.

Основываясь на данных литературы, можно заключить, что процесс имплантации (инвазии трофобласта) является сложным механизмом работы огромного числа регуляторных частиц. В условиях физиологической беременности преобладают ангиогенные факторы роста над антиангиогенными, что соответствует полноценному развитию плаценты.

Нарушение молекулярно-клеточных взаимодействий, баланса и регуляции ангиогенных/антиангиогенных факторов, цитокинов, ферментов деградации внеклеточного матрикса, гормонов, контролирующих дифференцировку и инвазию трофобласта, имеет решающее значение для

раннего развития эмбриона и последующей имплантации, и лежит в основе различных патологических состояний во время беременности.

На сегодняшний день роль ЦМВ инфекции в нарушении инвазии цитотрофобласта и последующее влияние на угрожающее течение беременности и развитие самопроизвольного выкидыша, не вызывает сомнений. Однако причины нарушения инвазии цитотрофобласта при ЦМВ инфекции остаются недостаточно изученными.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Характеристика базы и объект исследования

2.1.1. Характеристика базы исследования

Представленное диссертационное исследование было проведено в период с 2018 по 2020 годы. Клинической базой для исследований было выбрано гинекологическое отделение Государственного автономного учреждения здравоохранения Амурской области «Благовещенская городская клиническая больница» (г. Благовещенск) (куратор городской службы по акушерству и гинекологии – И.В. Жуковец, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Амурская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, д.м.н., доцент), лабораторные исследования проводились 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» (ДНЦ ФПД) (заведующий лабораторией – И.А. Андриевская, д.б.н., профессор РАН).

Исследование соответствует стандартам надлежащей клинической практики в РФ (Приказ Министерства Здравоохранения РФ № 200н от 01.04.2016) и положениям Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013 г.). Протокол исследования одобрен Комитетом по биомедицинской этике при ДНЦ ФПД (протокол № 150-Д от 15.11.2018). Все обследуемые женщины проинформированы о целях исследования. Подписано информированное согласие на проведение исследований.

2.1.2. Объект исследования

Для достижения поставленной цели и решения задач, было проведено когортное исследование по типу «случай-контроль» со 193 беременными женщинами на сроке беременности 7-10 недель.

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1. Дизайн исследования.

Основная группа представлена 150 женщинами с подтвержденным серологическими и молекулярно-генетическими методами диагнозом хроническая ЦМВ инфекция, из них 57 с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности (подгруппа 1) и 93 – с латентным течением ЦМВ инфекции (подгруппа 2). Контрольную группу составили 43 серонегативные по ЦМВ беременные женщины.

Критерии включения в основную группу:

- возраст женщины от 20 до 28 лет;

- наличие подписанной формы информированного согласия на участие в исследовании;

- первый триместр беременности;

- латентное течение или обострение ЦМВ инфекции;

- стойкая клиническая ремиссия воспалительных заболеваний экстрагенитальной локализации и инфекций, передающихся половым путем;

- случаи самопроизвольного прерывания беременности.

Критерии включения в контрольную группу беременных:

- возраст женщины от 20 до 28 лет;

- наличие подписанной формы информированного согласия на участие в исследовании;

- отсутствие прямых маркеров ЦМВ инфекции;

- стойкая клиническая ремиссия воспалительных заболеваний экстрагенитальной локализации и инфекций, передающихся половым путем.

Критериями исключения из обеих групп были:

- возраст женщины старше 28 лет;

- первичная герпесвирусная, вызванная вирусом простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типов, или ЦМВ инфекции;

- наличие острых воспалительных заболеваний экстрагенитальной локализации и хронической соматической патологии в стадии декомпенсации;

- аномалии развития внутренних половых органов;

- привычное невынашивание беременности.

Диагноз – первичная ЦМВ инфекция – ставился на основании обнаружения антител IgM и низкоавидных антител IgG к ЦМВ с авидностью менее 50% в сыворотке крови и выявлении ДНК ЦМВ в образцах крови и мочи. Хроническую ЦМВ инфекцию, в период обострения, диагностировали, основываясь на выявлении в сыворотке крови антител IgM и обнаружении высокоавидных антител IgG к ЦМВ с авидностью 65% и более, наличия ДНК ЦМВ в образцах мочи, крови, отделяемом влагалища и цервикального канала, буккальном эпителии.

Латентное течение инфекции диагностировали на основании выявления в сыворотке крови высокоавидных антител IgG к ЦМВ с авидностью 65% и более, ДНК ЦМВ – в отделяемом влагалища и цервикального канала, буккальном эпителии.

В основной группе средний возраст беременных женщин составил 24,6 (1,3) года, а в контрольной группе – 24,8 (1,6) ($p>0,05$). У женщин основной группы индекс массы тела (ИМТ) входил в диапазон нормальной массы тела (18,0-24,9 кг/м²) и составил 23,4 (1,08) кг/м², у женщин контрольной группы индекс массы тела составил 23,1 (1,16) кг/м² и не имел достоверных отличий от основной группы ($p>0,05$). При этом у 14 (9,3%) женщин основной группы и у 5 (11,6%) контрольной ($p>0,05$) выявлена избыточная масса тела (диапазон 25,0-29,9 кг/м²). В подгруппах значимых различий в ИМТ выявлено не было, ИМТ составил 23,5 (1,15) кг/м² и 23,2 (1,02) кг/м² соответственно ($p>0,05$), с контрольной группой ИМТ также не имел различий ($p>0,05$).

Следовательно, основная и контрольная группы были сопоставимы по возрасту и индексу массы тела.

Структура соматических заболеваний у женщин исследуемых групп представлена в таблице 1. Согласно таблице 1, у женщин в подгруппах 1 и 2 с высокой частотой были диагностированы: диффузный (эндемический) зоб (E01.0) соответственно у 19,2% и у 19,4%, ($p>0,05$); хронический тонзилит (J35.0) – соответственно у 17,5% и у 16,1% ($p>0,05$). При сравнении вышеуказанных показателей с показателями в контрольные группы значимых различий выявлено не было ($p>0,05$). Хронический гастрит (K29.5) и хронический пиелонефрит (N11) с одинаковой частотой определялись в подгруппах 1 и 2 и контрольной группе ($p>0,05$).

У женщин исследуемых групп проведена оценка менструальной функции и изучен гинекологический анамнез. Возраст начала менархе в подгруппе 1 составил 11,72 (0,81) года, в подгруппе 2 – 11,69 (0,91) года ($p>0,05$). В контрольной группе возраст менархе составил 11,68 (0,94) года и не отличался от аналогичных показателей в подгруппах основной группы ($p>0,05$).

Таблица 1 – Структура соматической патологии в исследуемых группах

Соматическая патология	Код МКБ-10	Подгруппа 1		Подгруппа 2		Контрольная группа		p_{1-2}
		n=57		n=93		n=43		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Хронический тонзилит	J35.0	10	17,5	15	16,1	4	9,3	>0,05
Хронический гастрит	K29.5	6	10,5	8	8,6	3	6,9	
Пролапс митрального клапана	I34.1	2	3,5	4	4,3	0	0	
Хронический пиелонефрит	N11	4	7,0	6	6,5	3	6,9	
Диффузный (эндемический) зоб	E01.0	11	19,2	18	19,4	7	16,3	
Миопия	H52.1	3	5,2	5	5,3	1	2,3	

Примечание: p_{1-2} – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и 2 с контрольной группой.

У женщин исследуемых групп проведена оценка менструальной функции и изучен гинекологический анамнез. Возраст начала менархе в подгруппе 1 составил 11,72 (0,81) года, в подгруппе 2 – 11,69 (0,91) года ($p>0,05$). В контрольной группе возраст менархе составил 11,68 (0,94) года и не отличался от аналогичных показателей в подгруппах основной группы ($p>0,05$).

Регулярный менструальный цикл (менструального кровотечения продолжительностью от 3 до 7 дней, менструации с интервалом между – 21-35 днями) в анамнезе был у 54 (94,7%) женщин в подгруппе 1 и у 89 (96,6%) в подгруппе 2 ($p>0,05$). В контрольной группе регулярный менструальный цикл в анамнезе отмечен у всех женщин – 43 (100%). Гинекологический анамнез был осложнен олигоменореей (N91.3, N91.4) у 3 (5,2%) и у 4 (4,3%) женщин в подгруппах основной группы ($p>0,05$).

Медицинский аборт (O04) осложнял гинекологический анамнез у 4 (7,0%) женщин в подгруппе 1 и у 11 (11,8%) в подгруппе 2 ($p>0,05$). Самопроизвольный выкидыш (O03) в анамнезе был у 1 (1,8%) женщины в подгруппе 1 и у 8 (8,6%) в подгруппе 2 ($p <0,05$). В контрольной группе медицинских абортов и самопроизвольных выкидышей, согласно собранному анамнезу, у исследуемых женщин не было. Роды (O80) были у 2 (3,5%) женщин в подгруппе 1 и у 6 (6,5%) в подгруппе 2 ($p>0,05$). В контрольной группе роды в анамнезе были у 2 (4,7%) женщин, что не значимо по сравнению с аналогичными показателями в подгруппе 1 и 2 ($p>0,05$).

Согласно данным гинекологического анамнеза можно заключить, что в подгруппе 1 – 7 (12,3%) женщин имели беременность в анамнезе, во в подгруппе 2 значимо больше – 25 (26,9%) женщин ($p<0,05$).

У женщин основной и контрольной групп настоящая беременность наступила самостоятельно, без вспомогательных репродуктивных технологий. Прегравидарную подготовку проходили 4 (7,0%) женщины в подгруппе 1, в контрольной группе в 2 раза чаще, но достоверных различий не выявлено – 6 (14%) ($p>0,05$). В подгруппе 2 женщины не планировали беременность и не проходили прегравидарную подготовку.

Осложнения беременности в первом триместре беременности у женщин исследуемых групп представлена в таблице 2.

Беременность осложнилась угрожающим выкидышем (O20.0) у 16 (28,1%, 95% ДИ: 16,0-40,0) женщин в подгруппе 1, что было в 3 раза чаще ($p<0,01$), чем в контрольной группе – 4 (9,3%, 95% ДИ:1,0-18,0). Самопроизвольный выкидыш произошел у 12 (21,1%, 95% ДИ: 10,0-32,0) женщин, что в 4,5 раза чаще ($p<0,01$), чем в контрольной группе – 2 (4,4%). В подгруппе 2 все беременности закончились медицинским абортom по желанию женщины.

Таблица 2 – Осложнения первого триместра беременности у женщин исследуемых групп

Осложнения беременности	Код МКБ-10	Подгруппа 1		Подгруппа 2		Контрольная группа		p_{1-2}
		n=57		n=93		n=43		
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Угрожающий выкидыш	O20.0	16	28,1	0	0	4	9,3	<0,01
Самопроизвольный выкидыш	O03	12	21,1	0	0	2	4,7	<0,01
Неспецифический вагинит	N76.0	2	3,5	4	4,3	1	2,3	>0,05
Рвота беременных	O21.0	4	7,0	6	6,4	3	7,0	>0,05
Анемия беременных	O99.0	11	19,3	7	7,5	1	2,3	<0,01

Примечание: p_{1-2} – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и 2 с контрольной группой.

Неспецифический вагинит (N.76.0), легкая и умеренная рвота беременных (O21.0) были диагностированы с одинаковой частотой во всех подгруппах и группах ($p>0,05$). Анемия, осложняющая беременность, деторождение и послеродовой период (O99.0) была выявлена у 11 (19,3%, 95% ДИ: 9,0 – 29,1) женщин в подгруппе 1 и у 1 (2,3%) женщины в контрольной группе ($p<0,01$). Важно, что у женщин, беременность которых осложнилась угрожающим выкидышем, анемия диагностирована у 3 (18,8%) из 16, а у женщин, беременность которых закончилась самопроизвольным выкидышем, у 7 (58,3%) из 12 исследуемых ($p<0,05$). Также выявлены достоверные отличия в частоте анемии у женщин исследуемых подгрупп ($p<0,05$).

У 18 (31,6%) из 57 женщин в подгруппе 1 (срок 7-10 недель беременности) наблюдались клинические проявления острой респираторной инфекции (ОРИ), которые представлены на рисунке 2. Клиническими проявлениями ЦМВ инфекции в первом триместре были: насморк – у 12 (66,7%), першение в горле – у 18 (100%), кашель – у 7 (38,9%). У 10 (55,6%) из

18 женщин с клиническими проявлениями ЦМВ инфекции произошел самопроизвольный выкидыш, у 2 (5,1%) – клинических проявлений инфекции не было ($p<0,01$).

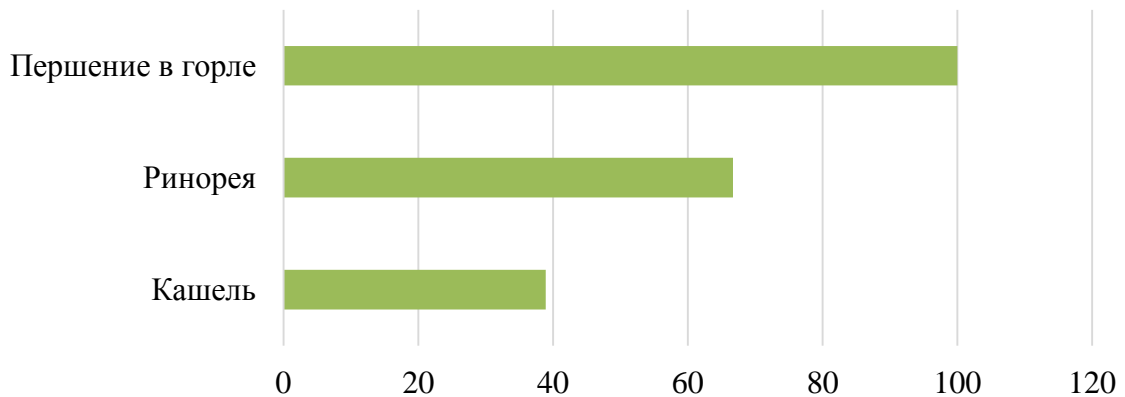


Рисунок 2. Клинические проявления острой респираторной инфекции.

Также отсутствовали различия в структуре соматической патологии. Средний возраст начала менархе в подгруппах 1 и 2 составил 11,72 (0,81) года и 11,69 (0,91) года соответственно и не отличался от контрольной группы ($p>0,05$). Олигоменорея (шифр по МКБ-10: N91.3, N91.4) в анамнезе отмечалась с одинаковой частотой у 5,2% и у 4,3% женщин в подгруппах 1 и 2 ($p>0,05$). У 26,9% исследуемых в подгруппе 2 в анамнезе была беременность, что было значимо чаще, чем в подгруппе 1 – у 12,3% ($p<0,05$). Значимых различий в исходах беременности между подгруппами выявлено не было ($p>0,05$).

У 28,1% женщин в подгруппе 1, беременность осложнилась угрожающим выкидышем (шифр по МКБ-10: O20.0), что в 3 раза чаще, чем у женщин контрольной группы (9,3%) ($p<0,01$). У 21,1% женщин произошел самопроизвольный выкидыш, что в 4,5 раза чаще, чем в контрольной группе (4,4%) ($p<0,01$).

Анемия, осложняющая беременность, деторождение и послеродовой период (шифр по МКБ-10: O99.0) была диагностирована чаще в подгруппе 1 – 19,3% женщин ($p<0,05$). Только 31,6% женщин в подгруппе 1 имели

клинические проявления ЦМВ инфекции в виде ринореи (66,7%), першения в горле (100%) и кашля (38,9%). У 55,6% женщин произошел самопроизвольный выкидыш.

2.2. Методы исследования

Забор образцов крови осуществлялся в момент госпитализации методом венопункции в пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА), и без коагулянта. Сыворотку крови получали методом центрифугирования: время составляло 20 минут, а скорость 1000g.

Пробы мочи получали методом центрифугирования: время составляло 10 минут, а скорость 1000g, с последующим ресуспендированием осадка в стерильной среде (0,218М сахараза (Реахим, Россия), 0,0038М KH_2PO_4 (Реахим, Россия), 0,0072М K_2HPO_4 (Реахим, Россия), 1% бычий сывороточный альбумин (БСА) (Sigma, Япония)).

Получение материала буккального эпителия проводилось стерильными одноразовыми зондами (Zhenjiang Gongdong Medical Technology Co. Ltd., КНР), которые помещали в транспортную среду (стерильный раствор хлорида натрия 0,9%) и хранили в холодильнике (температура хранения $+2^\circ - +5^\circ\text{C}$, срок хранения – не более 7 суток).

Получение материала отделяемого влагалища и цервикального канала проводился с помощью стерильных одноразовых урогенитальных зондов (Unicorn Med., КНР), с последующим внесением в пробирку с транспортной средой (стерильный раствор хлорида натрия 0,9%). Хранили в холодильнике (температура хранения $+2^\circ - +5^\circ\text{C}$, срок хранения - не более 7 суток).

Биологический материал ворсинчатого хориона забирался непосредственно после инструментальной ревизии полости матки при случаях самопроизвольного выкидыша, а также после проведения медицинского аборта при сознательном прерывании беременности на сроке 7-10 недель. Перед использованием материал 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 методом центрифугирования гомогената (время – 15 минут, скорость – 3000g, температура – +4 °С), полученного вышеописанным способом.

Все полученные образцы биологического материала подвергались глубокой заморозке до проведения соответствующих анализов (температура хранения -70 °С).

Биохимические исследования

Иммуноферментным методом анализа (ИФА) определяли:

1. антитела класса IgM (качественно) и IgG (количественно) к ВПГ-1,2 и ЦМВ, авидность IgG к ВПГ-1,2 и ЦМВ (количественно) (тест системы «ЦМВ-IgM-стрип», «ЦМВ-IgG-стрип», «ВПГ-1,2-IgM-стрип», «ВПГ-1,2-IgG-стрип», «ВектоЦМВ-IgG-авидность», «ВектоВПГ-1,2-IgG-авидность» (ЗАО ВекторБест, Россия));
2. прогестерон (Прогестерон-ИФА-Бест, ЗАО Вектор-Бест, Россия), эстрадиол (ESTRADIOL, ООО ХЕМА, Россия);
3. фактор некроза опухоли альфа (TNF- α) (альфа-ФНО-ИФА-Бест, ЗАО Вектор-Бест, Россия), растворимый рецептор к TNF- α (sTNF-R1) (Human sTNF-R1 (60kDa) ELISA, Bender Medsystems, Австрия), интерлейкин 1 бета (IL-1 β) (Интерлейкин-1 бета-ИФА-БЕСТ, ЗАО Вектор-Бест, Россия); IL-10 (Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ, ЗАО Вектор-Бест, Россия);
4. сосудисто-эндотелиальный фактор роста (VEGF) (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay kit for VEGF-A, Cloud-Clone Corp., США), растворимый рецептор к VEGF (sVEGF-R1 / *sfms*-подобная тирозинкиназа) (Enzyme-Linked

Immunosorbent Assay kit for VEGF-R1, Cloud-Clone Corp., США), плацентарный фактор роста (PLGF) (Human PlGF Quantikine ELISA Kit, RnD Systems, США));

5. ядерный транскрипционный фактор каппа В (NF- κ B (p65)) (NF- κ B (p65) Transcription Factor Assay Kit Cayman Chemical, США));

6. матриксная металлопротеиназа 9 (MMP-9) (Human MMP-9 Quantikine ELISA Kit, RnD Systems, USA), тканевой ингибитор металлопротеиназы 1 (TIMP-1) (Human TIMP-1 Quantikine ELISA Kit, RnD Systems, США).

Исследования проводились в сыворотке крови, согласно протоколам, для постановки ИФА от фирмы-производителя.

Регистрацию результатов ИФА проводили на планшетном фотометре «StatFax-2100» (производитель «Awareness Technology», США) при длинах волн 450 нм (основная) и 620 нм (дополнительная). Интенсивность окраски реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации определяемых веществ в образцах биологического материала.

Молекулярно-биологические исследования

Для обнаружения ЦМВ в образцах биологического материала использовали методы молекулярно-биологического исследования – детекцию ДНК ЦМВ в полученных образцах. Определяли ДНК ЦМВ в образцах мочи, в цельной периферической крови, в содержимом цервикального канала, в буккальном эпителии, методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real-time PCR) на анализаторе ДТ-96 (DT-Prime) (ООО «НПО ДНК-технология», Россия), который позволяет рассчитывать содержание ДНК в образцах, в динамическом диапазоне от 1 до 10^9 копий.

На первом этапе постановки ПЦР использовали «Комплект реагентов для выделения ДНК», а на следующем этапе «Комплект реагентов для ПЦР-амплификации ДНК ЦМВ» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия).

Реакционная смесь включала смесь для амплификации, Tag-полимеразу, минеральное масло и образец препарата ДНК. Все исследования и манипуляции проводились согласно инструкциям и рекомендациям фирмы-производителя к наборам реагентов и к прибору (амплификатору).

Гистологические исследования

Биопробы ворсинчатого хориона после фиксации в нейтральном 10% забуференном растворе формалина подвергали проводке, затем заливали в парафиновую среду по общепринятой методике.

Для микроскопии использовали срезы толщиной 3-5 мкм с применением обзорной окраски препаратов гематоксилином Бёмера и эозином, по Ван Гизону [79]. Микроскопия и получение снимков препаратов проводились на цифровом микроскопе «Meiji» (Япония).

Гистохимические исследования

Гистохимический метод анализа был использован для обнаружения прогестерондегидрогеназы (ПрДГ) и эстрадиолдегидрогеназы (ЭДГ) в образцах ворсинчатого хориона по методу З. Лойда (1982) в модификации М.Т. Луценко (2015) [108]. В качестве субстрата брали 0,1 М растворы прогестерона («Sigma», США) и эстрадиола («Sigma», США). Для определения локализации ПрДГ и ЭДГ в качестве акцептора водорода использовалась соль тетразолия (2,3,5-трифенилтетразолия хлористого) («ICN Biomedicals», США) в конечной концентрации 5мМ. В качестве кофактора применили НАДФ («Sigma», США) в конечной концентрации 1 мМ. Раствор для инкубации готовился на основе 0,1М фосфатного буфера рН 7,4. Длительность инкубации составляла 30 минут, при температуре 37°C. По окончании времени инкубации срезы промывали дистиллированной водой, далее фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, а затем заключали в глицерин-желатин. Чтобы исключить участие других факторов в восстановлении тетразолиевой соли проводили контрольные опыты. Далее, с

помощью программы компьютерной цитофотометрии, подсчитывали методом измерения на стандартную единицу площади 0,01 (зонд) в 100 различных точках объекта (пиксель/мкм²) количество образующихся продуктов реакции.

Иммуногистохимические исследования

При идентификации интерстициального цитотрофобласта на парафиновых срезах использовали иммуногистохимическую реакцию на цитокератин (СК8) по стандартному стрептавидин-биотин-пероксидазному методу с моноклональными антителами (Cytokeratin 8 Monoclonal Antibody (35bH11), Invitrogen, ThermoFisher Scientific, США). Исследование проводили с помощью двойных антител. Демаскировка антигенов осуществлялась в микроволновой печи. Хромогеном служил диаминобензидин. Срезы докрашивали гематоксилином-эозином.

2.3. Объем исследований

Количество исследований, в соответствии с основными разделами исследования, представлено в таблице 3.

Таблица 3 – Методы и объем исследования

Методы исследования	Количество исследований	
	Основная группа	Контрольная группа
Клинические исследования	150	43
Биохимические исследования		
- антитела IgM и IgG к ВПГ-1,2 и ЦМВ, авидность IgG к ВПГ-1,2 и ЦМВ	600	172
- прогестерон, эстрадиол, TNF- α , sTNF-R1, IL-1 β , IL-10, NF- κ B, VEGF-A, sFlt-1, PLGF, MMP-9, TIMP-1 в крови и в экстрактах ворсинчатого хориона	3600	1032
Молекулярно-биологические исследования		
- буккальный эпителий	150	43
- моча	150	43
- кровь	150	43
- отделяемое влагалища и цервикального канала	150	43

Гистологические исследования		
- ворсинчатый хорион от женщин с СА	27	25
- ворсинчатый хорион от женщин с МА	23	25
Гистохимические исследования		
- ворсинчатый хорион от женщин с СА	27	25
- ворсинчатый хорион от женщин с МА	23	25
Иммуногистохимические исследования		
- ворсинчатый хорион от женщин с СА	27	25
- ворсинчатый хорион от женщин с МА	23	25
Всего:	4950	1526

Примечание: СА – самопроизвольный аборт, МА – медицинский аборт.

2.4. Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 23 (США) при полном соблюдении общих правил для выполнения медико-биологических исследований.

Проверка статистических гипотез о законе распределения нормальной совокупности и параметров нормального распределения проводилась с применением специальных критериев – Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения признаков применяли параметрический критерий Стьюдента.

Для описания количественных данных использовались показатели среднего арифметического и стандартного отклонения в формате М (SD). Категориальные данные представлены в виде долей, частот и процентов.

Сравнение групп по качественному бинарному признаку проводилось с помощью критерия χ^2 Пирсона или точного теста Фишера, число степеней свободы (df) для критерия χ^2 и уровень статистической значимости различий (p).

Оценка зависимости и силы связи между количественными, а также количественными и категориальными признаками проводилась с использованием непараметрического коэффициента корреляции Спирмена (r).

Установление формы и изучение зависимости между переменными проводилось с использованием регрессионного анализа.

Влияние установленного фактора оценивали при $\geq 95\%$ доверительного интервала (ДИ) и согласно величинам относительного риска (ОР). Подсчет 95% ДИ для частот и долей производился с помощью онлайн-калькулятора (Sauro J., Lewis J.R., 2005) (<http://www.measuringu.com/wald#point>). Доверительный интервал не включал 1, при условии, если и нижняя и верхняя границы находились по одну сторону от 1, то делался вывод о статистической значимости установленной связи между фактором и исходом с вероятностью ошибки $p < 0,05$.

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

Для оценки качества построенных прогностических моделей был использован ROC-анализ, в ходе которого определяли площадь под кривой ROC AUC (Area under curve ROC), а также проводили расчет чувствительности и специфичности. При AUC, составляющем от 0,9 до 1 отмечали отличное качество модели, от 0,8 до 0,9 – очень хорошее, от 0,7 до 0,8 – хорошее, от 0,6 до 0,7 – среднее, от 0,5 до 0,6 – неудовлетворительное.

ГЛАВА 3. БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ И ОСОБЕННОСТИ МОРФОГЕНЕЗА ЦИТОТРОФОБЛАСТИЧЕСКОЙ ИНВАЗИИ ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

3.1. Особенности изменения цитокинового профиля при ЦМВ инфекции в первом триместре беременности

Согласно полученным результатам, изменение цитокинового профиля в основной группе характеризовалось преимущественным преобладанием факторов провоспалительного действия над противовоспалительными. При этом выраженность изменений исследуемых показателей про-/противовоспалительных цитокинов была выше в подгруппе 1, чем в подгруппе 2. Характер изменений представлен в таблице 4.

Сравнительный анализ показал, что в подгруппе 1 уровень провоспалительного цитокина TNF- α в подгруппе 1 был выше в сыворотке крови в 5,34 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 5,2 раза ($p < 0,001$), чем в контрольной группе, и выше в 2,32 раза ($p < 0,001$) и 2,17 раза ($p < 0,001$), чем в подгруппе 2. В подгруппе 2 показатели TNF- α были выше в сыворотке крови в 2,3 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 2,4 раза ($p < 0,001$), чем в контрольной группе.

Уровень растворимого рецептора sTNF-R1 в сыворотке крови в подгруппе 1 не изменялся ($p > 0,05$), тогда как в экстрактах ворсинчатого хориона отмечалось повышение показателей в 1,23 раза и в 1,21 раза ($p < 0,001$ соответственно) по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2. В подгруппе 2 показатели sTNF-R1 в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона не различались по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$ соответственно).

Расчет TNF- α /sTNF-R1 в подгруппе 1 показал, что коэффициент соотношения был выше в сыворотке крови в 5,1 раза и в 2,43 раза ($p < 0,001$

соответственно), чем в контрольной группе и в подгруппе 2. В экстрактах ворсинчатого хориона расчетные показатели были выше в 3,71 раза и в 1,24 раза ($p < 0,001$ соответственно), чем в контрольной группе и в подгруппе 2. В подгруппе 2 коэффициент соотношения был выше в сыворотке крови в 2,1 раза и в экстрактах ворсинчатого хориона в 3 раза ($p < 0,001$ соответственно), чем в контрольной группе.

Таблица 4 – Содержание про-/противовоспалительных цитокинов и их регуляторов в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
Сыворотка крови				
TNF- α , пг/мл	109,98 (3,35)	37,29 (2,25)	20,56 (1,24)	$p_{1-3} < 0,001$
sTNF-R1, пг/мл	2158 (41,24)	2205 (59,32)	2210 (29,74)	$p_{1-3} > 0,05$
TNF- α /sTNF-R1	0,051 (0,05)	0,021 (0,04)	0,010 (0,03)	$p_{1-3} < 0,001$
IL-1 β , пг/мл	183,24 (22,11)	44,47 (3,08)	27,12 (2,24)	
IL-10, пг/мл	6,71 (0,97)	9,63 (0,65)	12,10 (0,77)	
NF- κ B, пг/мл	11,78 (1,44)	7,06 (0,78)	5,41 (0,96)	$p_{1-2} < 0,001; p_3 > 0,05$
Экстракт ворсинчатого хориона				
TNF- α , пг/мл	123,71 (7,12)	54,32 (3,17)	22,64 (1,98)	$p_{1-3} < 0,001$
sTNF-R1, пг/мл	4780 (153,82)	3370 (71,13)	3436 (53,56)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 > 0,05$
TNF- α /sTNF-R1	0,026 (0,003)	0,021 (0,004)	0,007 (0,003)	$p_{1-3} < 0,001$
IL-1 β , пг/мл	210,94 (36,12)	47,57 (3,02)	30,11 (3,21)	
IL-10, пг/мл	5,93 (0,57)	8,97 (0,68)	12,96 (0,57)	
NF- κ B, пг/мл	13,08 (2,09)	8,38 (1,09)	7,05 (0,73)	$p_{1-2} < 0,001; p_3 > 0,05$
Примечание: p_{1-2} – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2 с контрольной группой; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2.				

Уровень другого провоспалительного цитокина IL-1 β в подгруппе 1 был выше в сыворотке крови в 6,76 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 7 раз ($p < 0,001$), чем в контрольной группе, и в 4,12 раза ($p < 0,001$) и в 4,43 раза ($p < 0,001$) по сравнению с подгруппой 2. В подгруппе 2 показатели IL-1 β были выше в сыворотке крови в 1,63 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,57 раза ($p < 0,001$), чем в контрольной группе.

Сравнение показателей противовоспалительного IL-10 в подгруппе 1 выявило снижение уровня в сыворотке крови в 1,8 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 2,18 ($p < 0,001$) раза по сравнению с контрольной группой, в 1,43 раза ($p < 0,001$) и в 1,51 раза ($p < 0,001$) по сравнению с подгруппой 2. В подгруппе 2 показатели IL-10 в сыворотке крови были выше в 1,26 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,44 раза ($p < 0,001$), чем в контрольной группе.

Показатели ядерного транскрипционного фактора NF- κ B в подгруппе 1 были выше в 2,18 раза ($p < 0,001$) в сыворотке крови и в 1,85 раза ($p < 0,001$) в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в контрольной группе, и в 1,67 раза ($p < 0,001$) и 1,56 раза ($p < 0,001$) выше, чем в подгруппе 2. В подгруппе 2 показатели NF- κ B в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона значимо не различались по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Сравнительный анализ системных и локальных показателей про-/противовоспалительных цитокинов в исследуемых группах выявил следующие закономерности. В подгруппе 1 показатели sTNF-R1 в экстрактах ворсинчатого хориона были в 2,21 раза ($p < 0,001$) выше, а коэффициент соотношения TNF- α /sTNF-R1, наоборот, был в 1,96 раза ($p < 0,001$) ниже, чем в сыворотке крови, что могло указывать на развитие локального воспалительного ответа, вызванного TNF- α . При этом показатели TNF- α , IL-1 β , IL-10 и NF- κ B в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона значимо не различались ($p > 0,05$ соответственно). В подгруппе 2 также отсутствовали значимые различия в показателях TNF- α , sTNF-R1, TNF-

α/s TNF-R1, IL-1 β в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p > 0,05$ соответственно).

Дальнейшие исследования, проведенные с использованием пошагового корреляционно-регрессионный анализа, выявили следующие ассоциации цитокинов с развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции: TNF- α ($r = -0,80, p < 0,05$), IL-10 ($r = 0,67, p < 0,05$), IL-1 β ($r = -0,64, p < 0,05$), и NF-kB ($r = -0,55, p < 0,05$). При этом наибольший вклад в развитие осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции вносили высокие показатели TNF- α ($\beta = -3,12, p < 0,05$) и низкие IL-10 ($\beta = -0,69, p < 0,05$).

Анализ стохастических связей в подгруппе 1 выявил корреляции между системными и локальными показателями TNF- α ($r = 0,85, p < 0,05$), s TNF-R1 ($r = 0,79, p < 0,05$), IL-1 β ($r = 0,77, p < 0,05$), IL-10 ($r = 0,78, p < 0,05$) и NF-kB ($r = 0,87, p < 0,05$).

В подгруппе 2 значимые корреляции были между системными и локальными показателями IL-1 β ($r = 0,81, p < 0,05$) и IL-10 ($r = 0,79, p < 0,05$).

Основываясь на полученных результатах, можно предположить, что напряженность цитокиновой регуляции в системе мать-хорион-эмбрион при обострении ЦМВ инфекции, в отличие от латентного течения заболевания, может служить триггером в формировании гормональных нарушений, определяющих развитие эмбриохориальной недостаточности.

3.2. Особенности продукции половых гормонов у женщин при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности

Основываясь на тесной взаимосвязи цитокиновой и гормональной систем в формировании эмбриохориального комплекса была проведена оценка уровня и соотношения прогестерона (P) и эстрадиола (E2) в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах. Результаты представлены в таблице 5.

В подгруппе 1 выявлено снижение уровня прогестерона в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,52 раза ($p<0,001$) и в 1,65 раза ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой и в 1,39 раза ($p<0,001$) и в 1,48 раза ($p<0,001$) по сравнению с подгруппой 2. В подгруппе 2 уровень гормона в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона был ниже в 1,13 раза ($p<0,05$) и в 1,17 раза ($p<0,05$), чем в контрольной группе.

Таблица 5 – Содержание прогестерона и эстрадиола в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
Сыворотка крови				
P, нмоль/л	46,27 (2,65)	62,29 (3,18)	70,39 (4,05)	$p_{1,3}<0,001; p_2<0,05$
E2, нмоль/л	12,45 (1,05)	14,63 (1,01)	15,72±1,09	$p_1<0,001; p_2>0,05;$
P/E2	3,71 (0,07)	4,40 (0,09)	4,61 (0,10)	$p_3<0,05$
Экстракт ворсинчатого хориона				
P, нмоль/л	43,13 (2,79)	60,79 (3,23)	71,24 (4,16)	$p_{1,3}<0,001$
E2, нмоль/л	11,70 (1,09)	15,21 (1,1)	16,33 (1,11)	$p_1<0,001; p_2>0,05;$
P/E2	3,69 (0,09)	4,43 (0,11)	4,36 (0,12)	$p_3<0,05$
Примечание: $p_{1,2}$ – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2 с контрольной группой; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2.				

Сравнительный анализ содержания эстрадиола в подгруппе 1 выявил снижение его показателей в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,23 раза ($p<0,001$) и в 1,39 раза ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой, в 1,17 раза ($p<0,05$) и в 1,23 раза ($p<0,05$) по сравнению с подгруппой 2. В подгруппе 2 в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона значимых различий по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p>0,05$).

Дополнительно был произведен расчет соотношения прогестерона к эстрадиолу (P/E2). В подгруппе 1 выявлено снижение коэффициента соотношения в сыворотке крови в 1,27 раза ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона и в 1,18 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой, и в 1,2 раза ($p < 0,05$ соответственно) по сравнению с подгруппой 2. В подгруппе 2 значимых различий по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p > 0,05$).

При сравнительном анализе системных и локальных показателей прогестерона и эстрадиола значимых различий в исследуемых подгруппах выявлено не было ($p > 0,05$).

В ходе дальнейших исследований, выполненных с использованием гистохимических маркеров оценки содержания прогестерона и эстрадиола, было подтверждено нарушение продукции хориальных гормонов в исследуемых подгруппах. На рисунке 3 (контрольная группа), рисунке 4 (подгруппа 1) и рисунке 5 (подгруппа 2) отражена интенсивность продуктов гистохимической реакции на прогестерон в цитотрофобласте ворсин хориона.

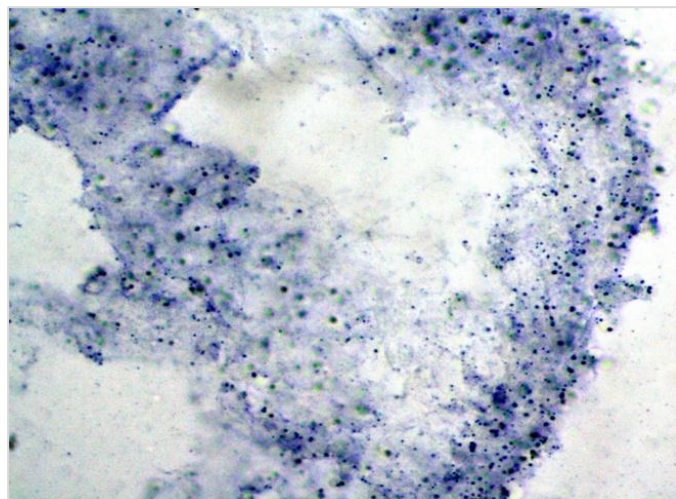


Рисунок 3. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Контрольная группа. Гистохимическая реакция на прогестерондегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

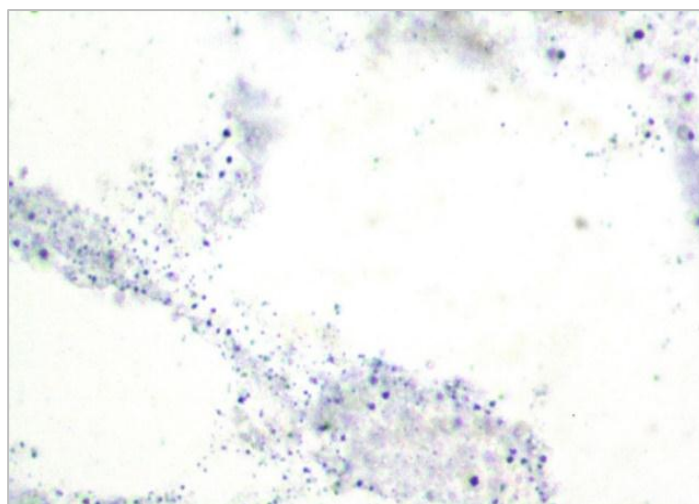


Рисунок 4. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный выкидыш. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. Гистохимическая реакция на прогестерондегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

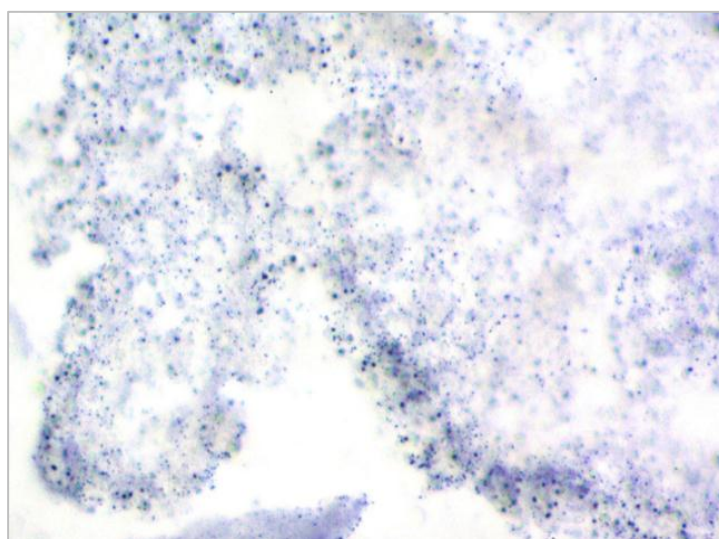


Рисунок 5. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентное течение ЦМВ инфекции. Гистохимическая реакция на прогестерондегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

Степень выраженности реакции находилась в обратной зависимости от формы ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

Цитофотометрические показатели представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Цитофотометрические показатели прогестерондегидрогеназы в ворсинчатом хорионе в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
ПрДГ, пиксель/мкм ²	23,81 (2,44)	33,15 (2,37)	38,74 (3,78)	$p_{1,3}<0,001; p_2<0,05$
Примечание: p_{1-2} – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2 с контрольной группой; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2.				

В подгруппе 1 выявлено снижение показателей гистохимического маркера на прогестерон (прогестерондегидрогеназа, ПрДГ) в 1,63 раза ($p<0,001$) и в 1,43 раза ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2, что соотносилось с иммуноферментными показателями гормона, представленными в таблице 5. В подгруппе 2 показатели прогестерона были снижены в 1,17 раза по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$).

На рисунке 6 (контрольная группа), рисунке 7 (подгруппа 1) и рисунке 8 (подгруппа 2) отражена интенсивность продуктов гистохимической реакции на эстрадиол в цитотрофобласте ворсин хориона. Степень выраженности реакции также находилась в обратной зависимости от формы ЦМВ инфекции в первом триместре беременности.

Цитофотометрические показатели представлены в таблице 7. В подгруппе 1 выявлено снижение показателей гистохимического маркера на эстрадиол (эстрадиолдегидрогеназа, ЭДГ) в 1,39 раза ($p<0,001$) и в 1,29 раза ($p<0,001$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2, что соотносилось с иммуноферментными показателями гормона, представленными в таблице 5. В подгруппе 2 показатели эстрадиола значимо не изменялись по сравнению с контрольной группой ($p>0,05$).

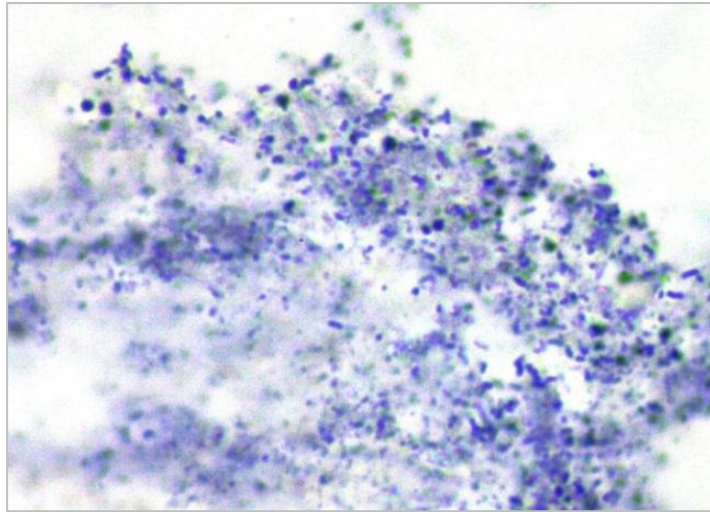


Рисунок 6. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Контрольная группа. Гистохимическая реакция на эстрадиолдегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

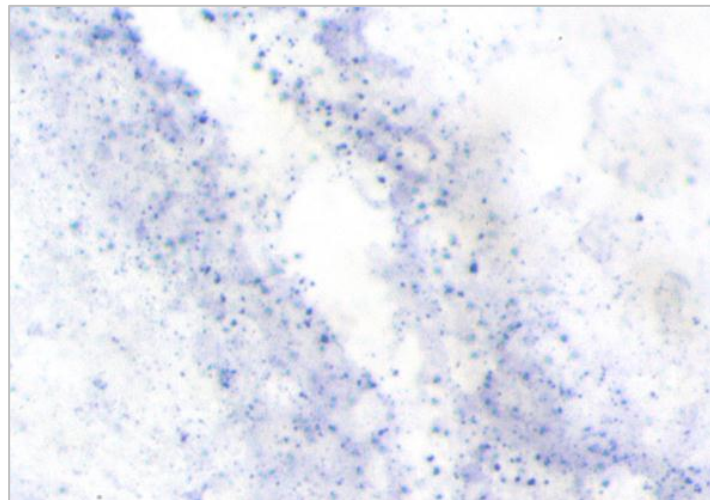


Рисунок 7. Ворсинчатый хорион. Самопроизвольный выкидыш. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности. Гистохимическая реакция на эстрадиолдегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

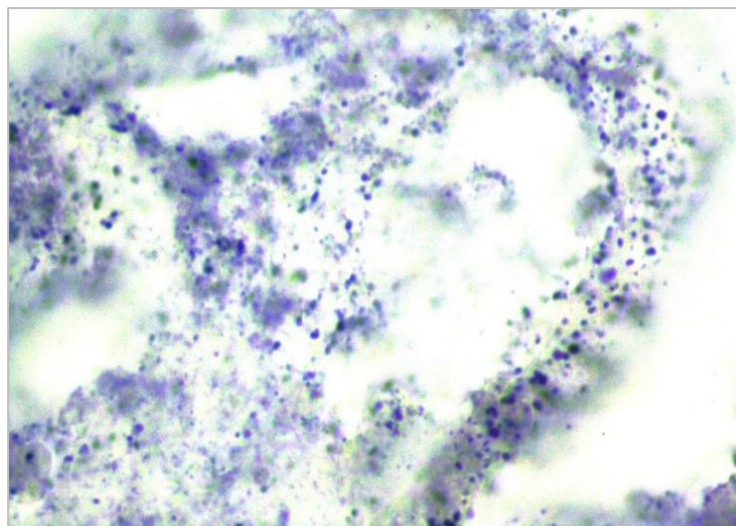


Рисунок 8. Ворсинчатый хорион. Медицинский аборт. 9 недель беременности. Латентное течение ЦМВ инфекции. Гистохимическая реакция на эстрадиолдегидрогеназу по З. Лойда. Ув. $\times 400$.

Таблица 7 – Цитофотометрические показатели эстрадиолдегидрогеназы в ворсинчатом хорионе в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
ЭДГ, пиксель/мкм ²	31,64 (1,87)	40,89 (3,55)	43,87 (1,97)	$p_{1,3} < 0,001$; $p_2 > 0,05$
Примечание: $p_{1,2}$ – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2 с контрольной группой; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении подгрупп 1 и 2.				

Дальнейший корреляционно-регрессионный анализ выявил ассоциацию ($r = 0,55$, $p < 0,05$) и вклад низких показателей эстрадиола в развитие осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции ($\beta = 0,25$, $p < 0,05$).

Анализ стохастических связей между системными и локальными параметрами в подгруппе 1 выявил корреляции между показателями

прогестерона ($r = 0,76, p < 0,05$) и эстрадиола ($r = 0,74, p < 0,05$). В подгруппе 2 значения (r) аналогичных корреляций соответственно составили $0,79 (p < 0,05)$ и $0,73 (p < 0,05)$.

Дополнительно был проведен анализ взаимосвязи и вклада исследуемых цитокинов в изменение показателей прогестерона и эстрадиола в подгруппах.

В подгруппе 1 выявлена корреляция прогестерона с TNF- α ($r = -0,78, p < 0,001$) и NF-kB ($r = -0,79, p < 0,001$). Значения стандартизованного коэффициента регрессии (β), отражающего вклад высоких показателей цитокинов и ядерного фактора транскрипции в снижение уровня прогестерона, составили: для TNF- α – $-0,38 (p < 0,01)$ и NF-kB – $-0,45 (p < 0,01)$. Показатели эстрадиола также коррелировали с TNF- α ($r = -0,85, p < 0,001$) и NF-kB ($r = -0,83, p < 0,001$). Значения β для TNF- α составили $-0,52 (p < 0,001)$, для NF-kB – $-0,37 (p < 0,01)$.

В подгруппе 2 выявлена значимая корреляция прогестерона с IL-1 β ($r = -0,67, p < 0,01$), значения коэффициента β составили $-0,67 (p < 0,01)$. Показатели эстрадиола также коррелировали с IL-1 β , значения коэффициентов r и β соответственно составили $-0,70 (p < 0,001)$.

Таким образом, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности может быть связано с запуском воспалительных реакций через активацию сигнального пути NF-kB и повышение уровня TNF- α , что нарушает состояние гормонообразовательных и соответственно инвазивных процессов.

В подгруппе с латентным течением ЦМВ инфекции связь IL-1 β , прогестерона и эстрадиола также может указывать на модулирующую роль изменений иммуно-гормональных отношений в регуляции процессов, контролируемых формированием эмбриохориального комплекса.

3.3. Характер изменений про-/антиангиогенных факторов роста при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности

Анализ показателей про-/антиангиогенных факторов роста, участвующих в формировании эмбриохориального комплекса, представлен в таблице 8.

В подгруппе 1 выявлено повышение в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона показателей антиангиогенного sFlt-1 в 1,75 раза ($p < 0,001$) и в 3,28 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой и в 1,39 раза ($p < 0,001$) и в 2,87 раза ($p < 0,001$) – по сравнению с подгруппой 2 соответственно. В подгруппе 2 показатели sFlt-1 значимо не изменялись по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Таблица 8 – Содержание про-/антиангиогенных факторов роста в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
Сыворотка крови				
sFlt-1, пг/мл	3,93 (0,77)	2,83 (0,56)	2,24 (0,20)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 > 0,05$
PlGF, пг/мл	53,33 (1,78)	78,23 (3,27)	69,75 (4,01)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 < 0,05$
VEGF-A, пг/мл	14,63 (1,11)	22,49 (1,17)	18,75 (1,21)	$p_{1,3} < 0,001$
Экстракт ворсинчатого хориона				
sFlt-1, пг/мл	12,19 (1,66)	4,25 (0,63)	3,72 (0,37)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 > 0,05$
PlGF, пг/мл	55,24 (2,33)	81,22 (3,58)	72,60 (3,41)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 < 0,05$
VEGF-A, пг/мл	17,41 (1,14)	43,37 (2,87)	37,52 (1,98)	
Примечание: p_{1-2} – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2 с контрольной группой; p_3 – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2.				

Сравнительный анализ показателей VEGF-A, обладающего проангиогенными свойствами, выявил снижение его уровня в сыворотке крови

и в экстрактах ворсинчатого хориона в подгруппе 1 в 1,28 раза ($p < 0,001$) и в 2,15 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, в 1,6 раза ($p < 0,001$) и в 2,55 раза ($p < 0,001$) по сравнению с подгруппой 2 соответственно. В подгруппе 2 показатели VEGF-А повышались в 1,25 раза ($p < 0,001$) и в 1,18 раза ($p < 0,05$) соответственно в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона.

Уровень PlGF в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в подгруппе 1 снижался в 1,31 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой, в 1,47 раза ($p < 0,001$) по сравнению с подгруппой 2 соответственно. В подгруппе 2 содержание PlGF в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона было выше в 1,12 раза ($p < 0,05$), чем в контрольной группе.

Сравнение системных и локальных показателей про-/антиангиогенных факторов роста в подгруппе 1, выявило, что уровень sFlt-1 и VEGF-А был выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в сыворотке крови, соответственно в 3,1 раза ($p < 0,001$) и в 1,19 раза ($p < 0,05$), а PlGF – значимо не изменялся ($p > 0,05$). Считаем, что повышение антиангиогенной активности трофобласта в подгруппе 1 могло свидетельствовать о подавляющем влиянии sFlt-1 на инвазию цитотрофобласта.

В подгруппе 2 уровень sFlt-1 и VEGF-А в экстрактах ворсинчатого хориона имел аналогичную направленность изменений – был выше в 1,5 раза ($p < 0,001$) и 1,93 раза ($p < 0,001$), а PlGF – значимо не изменялся ($p > 0,05$). Однако локальный уровень sFlt-1 был выше в подгруппе 1, чем в подгруппе 2, а VEGF-А, наоборот, выше в подгруппе 2, чем в подгруппе 1. Выявленные изменения, по-видимому, носили приспособительный характер, направленный на поддержание механизмов формирования эмбриохориального комплекса. В контрольной группе уровень sFlt-1 и VEGF-А в экстрактах ворсинчатого хориона был выше в 1,66 раза ($p < 0,001$) и 2 раза ($p < 0,001$), а PlGF – значимо не изменялся ($p > 0,05$).

Дальнейший корреляционно-регрессионный анализ, проведенный в основной группе, выявил ассоциации между VEGF-А ($r = 0,82$, $p < 0,05$), sFlt-1

($r = -0,60$, $p < 0,05$), PIGF ($r = 0,76$, $p < 0,05$) и развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции.

Анализ стохастических связей в подгруппе 1 выявил корреляции между системными и локальными показателями VEGF-*A* ($r = 0,79$, $p < 0,05$), sFlt-1 ($r = 0,76$, $p < 0,05$), PIGF ($r = 0,75$, $p < 0,05$). В подгруппе 2 значения (r) аналогичных корреляций составили 0,81 ($p < 0,05$), 0,72 ($p < 0,05$) и 0,76 ($p < 0,05$).

Дополнительно был проведен анализ взаимосвязи и вклада иммуногормональных показателей в изменение параметров про-/антиангиогенных факторов в подгруппах.

В подгруппе 1 выявлена значимая корреляция VEGF-*A* с TNF- α ($r = -0,82$, $p < 0,05$) и sTNF-R1 ($r = -0,61$, $p < 0,05$). Значения стандартизованного коэффициента регрессии (β), отражающего вклад высоких показателей TNF- α и sTNF-R1 в снижение уровня VEGF-*A*. Для TNF- α β составил -1,052 ($p < 0,05$), для sTNF-R1 – 0,28 ($p < 0,05$). Показатели sFlt-1 были связаны с TNF- α , значения коэффициентов r и β соответственно составили 0,51 ($p < 0,05$). Показатели PIGF также были связаны с TNF- α , значения коэффициентов r и β соответственно составили -0,72 ($p < 0,05$).

В подгруппе 2 выявлена значимая корреляция VEGF-*A* с прогестероном ($r = 0,57$, $p < 0,05$) и эстрадиолом ($r = 0,54$, $p < 0,05$), значения коэффициента β соответственно составили 0,37 ($p < 0,05$) и 0,28 ($p < 0,05$). Показатели PIGF были связаны с прогестероном, значения коэффициентов r и β соответственно составили 0,43 ($p < 0,05$).

Таким образом, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности ассоциировано с зависимым от уровня TNF- α и sTNF-R1 развитием дисбаланса про-/противоангиогенной регуляции, характеризующимся одновременным повышением уровня sFlt-1 и снижением VEGF-*A* и PIGF в ворсинчатом хорионе. Латентная форма инфекции связана с преимущественным влиянием прогестерона на процессы ангиогенной регуляции эмбриохориального комплекса.

3.4. Оценка инвазивной способности трофобласта при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре беременности

При оценке инвазивной способности трофобласта в исследуемых группах учитывались системные и локальные показатели MMP-9 и ее тканевого ингибитора TIMP-1. Результаты исследования представлены в таблице 9.

В подгруппе 1 в экстрактах ворсинчатого хориона выявлено снижение уровня MMP-9 в 1,72 раза ($p < 0,001$) и в 1,54 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2 соответственно. В сыворотке крови значимых различий по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2 выявлено не было ($p > 0,05$). В подгруппе 2 также отсутствовали значимые изменения в содержании энзима в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Таблица 9 – Содержание MMP-9 и тканевого ингибитора TIMP-1 в крови и в экстрактах ворсинчатого хориона в исследуемых группах, $M (SD)$

Показатели	Подгруппа 1	Подгруппа 2	Контрольная группа	p
Размер выборки	57	93	43	
Сыворотка крови				
MMP-9, нг/мл	8,14 (0,47)	9,23 (0,56)	8,39 (0,44)	$p_{1-3} > 0,05$
TIMP-1, нг/мл	5,41 (0,36)	5,17 (0,52)	5,23 (0,38)	$p_{1-3} > 0,05$
MMP-9/TIMP-1	1,50 (0,14)	1,78 (0,17)	1,60 (0,12)	$p_{1-3} > 0,05$
Экстракт ворсинчатого хориона				
MMP-9, нг/мл	12,02 (0,62)	21,11 (1,63)	20,64 (1,37)	$p_{1,3} < 0,001; p_2 > 0,05$
TIMP-1, нг/мл	7,68 (0,34)	6,03 (0,30)	5,96 (0,25)	
MMP-9/TIMP-1	1,57 (0,10)	3,06 (0,21)	3,46 (0,17)	
Примечание: p_{1-2} – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2 с контрольной группой; p_3 – значимость различий при сравнении подгруппы 1 и подгруппы 2.				

Анализ содержания тканевого ингибитора ТИМР-1 в подгруппе 1 выявил повышение показателей в экстрактах ворсинчатого хориона в 1,29 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой и в 1,27 раза ($p < 0,001$) по сравнению с подгруппой 2 соответственно. В сыворотке крови различий по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2 выявлено не было ($p > 0,05$). В подгруппе 2 также отсутствовали значимые изменения в содержании ТИМР-1 в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Дополнительно был проведен расчет соотношения ММР-9/ТИМР-1, отражающий нарушение в механизмах регуляции инвазивной способности цитотрофобласта. В подгруппе 1 выявлено снижение коэффициента соотношения в экстрактах ворсинчатого хориона соответственно в 2,2 раза ($p < 0,001$) и в 1,95 раза ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой 2, что указывало на подавляющее влияние ТИМР-1 в регуляцию металлопротеиназной активности на локальном уровне. В подгруппе 2 значимых изменений в показателях коэффициента соотношения выявлено не было ($p > 0,05$).

Сравнение системных и локальных показателей в подгруппе 1, выявило, что уровень ММР-9 и ТИМР-1 был выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в сыворотке крови, соответственно в 1,48 раза ($p < 0,001$) и в 1,42 раза ($p < 0,001$), что могло указывать на напряженность механизмов регуляции цитотрофобластической инвазии. В подгруппе 2 показатели ММР-9 были в 2 раза ($p < 0,001$) выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в сыворотке крови, а показатели ТИМР-1 не различались между сывороткой крови и экстрактами ворсинчатого хориона ($p > 0,05$). Вероятно, эти изменения носят приспособительный характер, указывающий на возможность сохранения состояния процессов инвазии.

Дальнейший корреляционно-регрессионный анализ, проведенный в основной группе, выявил значимые корреляции ММР-9 ($r = 0,49$, $p < 0,05$),

TIMP-1 ($r = -0,73$, $p < 0,05$) и развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции.

Анализ стохастических связей в подгруппе 1 выявил корреляции между системными и локальными показателями MMP-9 ($r = 0,80$, $p < 0,05$) и TIMP-1 ($r = 0,52$, $p < 0,05$). В подгруппе 2 значения аналогичных корреляций (r) соответственно составили $0,75$ ($p < 0,05$) и $0,83$ ($p < 0,05$).

Дополнительно был проведен анализ взаимосвязи и вклада цитокинов, гормонов и факторов роста в изменение параметров, характеризующих процессы цитотрофобластической инвазии в подгруппах.

В подгруппе 1 выявлена корреляция MMP-9 с sFlt-1 ($r = -0,82$, $p < 0,05$) и PlGF ($r = 0,81$, $p < 0,05$). Значения стандартизованного коэффициента регрессии (β), отражающего разнонаправленный вклад про-/антиангиогенных факторов в снижение периферического уровня MMP-9, для sFlt-1 составили $-0,34$ ($p < 0,05$), для PlGF – $0,71$ ($p < 0,05$). Показатели TIMP-1 имели высокую корреляцию с PlGF, значения коэффициентов r и β составили соответственно $0,78$ ($p < 0,05$).

В подгруппе 2 выявлена значимая корреляция MMP-9 с sFlt-1, значения коэффициентов r и β составили соответственно $-0,75$ ($p < 0,05$). Показатели TIMP-1 коррелировали с IL-1 β , значения коэффициентов r и β составили соответственно $-0,78$ ($p < 0,05$).

Таким образом, при обострении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности в ответ на нарушение ангиогенной регуляции, по-видимому, блокируются механизмы протеолитической деградации внеклеточного маточно-хориального матрикса, что, на фоне поддерживаемого цитокинами воспаления, приводит к нарушению инвазии цитотрофобласта. При латентной форме инфекции значимыми факторами в реализации процессов цитотрофобластической инвазии могут выступать оптимальный уровень тирозинкиназной активности и цитокина IL-1 β .

3.5. Клинико-морфологические особенности самопроизвольного выкидыша, ассоциированного с цитомегаловирусной инфекцией

Гистологические исследования соскобов полости матки (слизистая оболочка, ворсинчатый хорион), выполненных по случаю самопроизвольного выкидыша на сроке беременности 9 недель у женщин в подгруппе 1, представлены на рисунках 9-15. При исследовании препаратов отмечалось снижение количества выявляемых в децидуальной ткани маточных капилляров. Стенки сосудов спиральных артерий в большинстве случаев были утолщены, склерозированы, с явлениями гиалиноза (рисунок 9). Выявлялось снижение количества эндovasкулярного трофобласта.

Также в децидуальной ткани выявлялись признаки воспаления, которые характеризовались наличием зон лейкоцитарной инфильтрации (рисунок 10) и фибриноидных некротических изменений (рисунок 11). При этом наблюдаемые на препаратах участки скопления лейкоцитов вокруг очагов кровоизлияния в слизистой оболочке сочетались с клиническими и ультразвуковыми признаками угрозы самопроизвольного выкидыша (таблица 10). В подгруппе 1 кровянистые выделения из половых путей были отмечены у всех женщин, в подгруппе 2 – 11,83%. Ретрохориальная гематома по данным ультразвукового исследования была выявлена у 42,1% женщин в подгруппе 1 и у 5,38% в подгруппе 2. При этом риск развития ретрохориальной гематомы у женщин в подгруппе 1 был в 2,36 раза выше (95%ДИ: 1,88-2,95), чем в подгруппе 2.

Таблица 10 – Клинические и ультразвуковые признаки угрожающего самопроизвольного выкидыша

Характеристики	Подгруппа 1		Подгруппа 2		χ^2	<i>p</i>
	57		93			
Размер выборки	Абс	%	Абс	%		
Кровянистые выделения из половых путей	57	100	11	11,83	153,59	<i>p</i> <0,001
Ретрохориальная гематома	24	42,1	5	5,38	36,04	

Примечание: *p* – значимость различий при сравнении подгрупп 1 и 2.

Дальнейшие исследования показали, что ворсинчатый хорион был представлен преимущественно ворсинами эмбрионального типа без признаков дифференцировки мезенхимальных клеток в эндотелиоциты. Встречались аваскулярные некротизированные ворсины, окруженные фибриноидом (рисунок 12). В гиповаскулярных ворсинах определялись признаки апоптоза эндотелиальных клеток и фибробластов (рисунок 13). Капилляры в таких ворсинах были вытянуты и сдавлены из-за отека стромы, встречался тромбоз сосудов. Покровный эпителий был местами гипоплазирован с участками утолщения и хаотично расположенными деформированными и апоптотическими ядрами, что могло указывать на эндокринную недостаточность трофобласта (рисунок 14). Участки цитотрофобластической инвазии преимущественно встречались в поверхностных отделах функционального слоя эндометрия (рисунок 15).

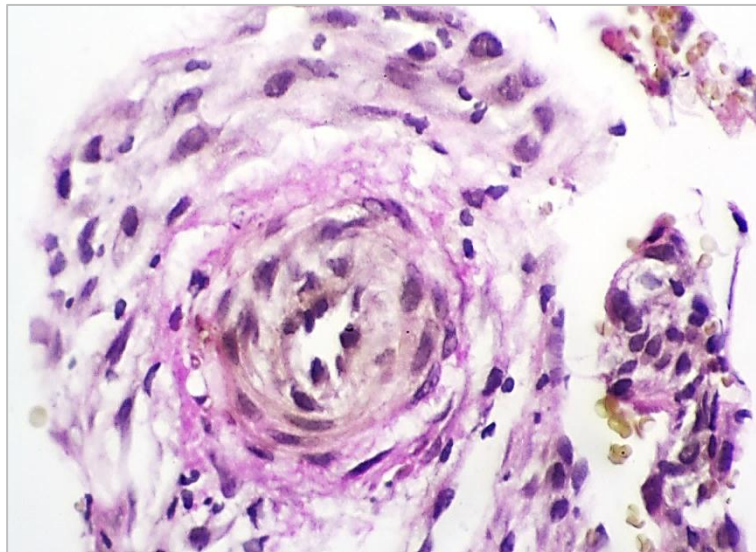


Рисунок 9. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Гиалиноз стенок спиральных артерий матки. Задержка эндоваскулярной инвазии. Окраска по Ван Гизону. Ув. $\times 400$.

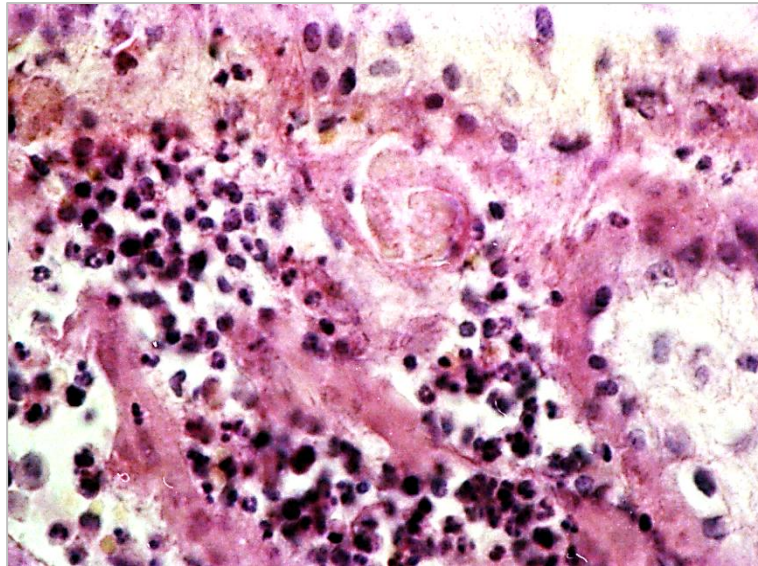


Рисунок 10. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Очаговые скопления лейкоцитов в децидуальной ткани. Окраска по Ван Гизону. Ув. $\times 400$.

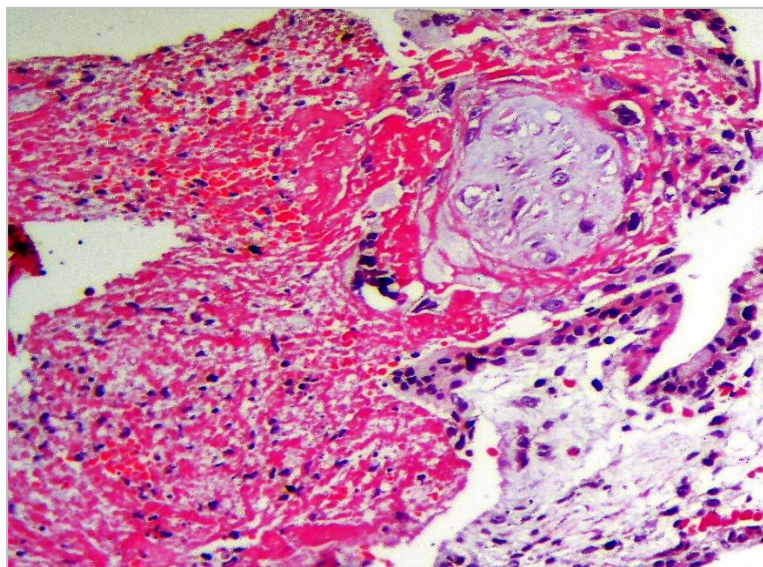


Рисунок 11. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Фибриноидный некроз и лейкоцитарная инфильтрация в децидуальной ткани. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 100$.

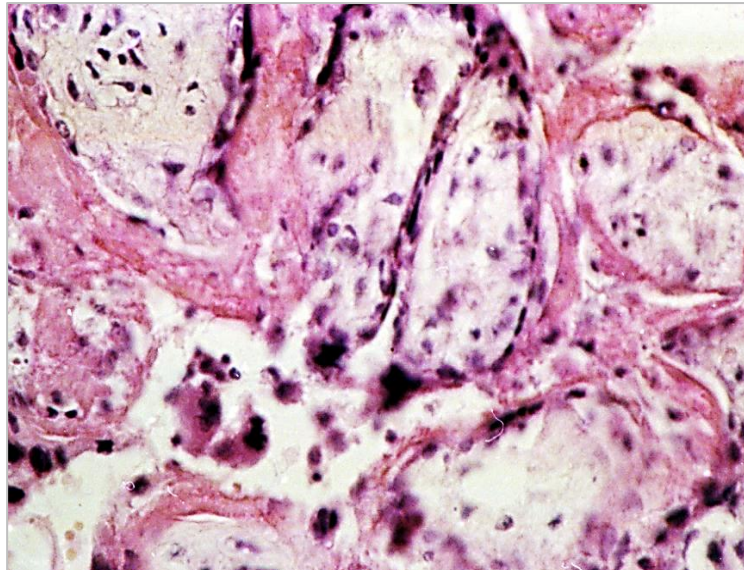


Рисунок 12. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Гибель ворсинок. Вневорсинчатый фибриноид. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$.

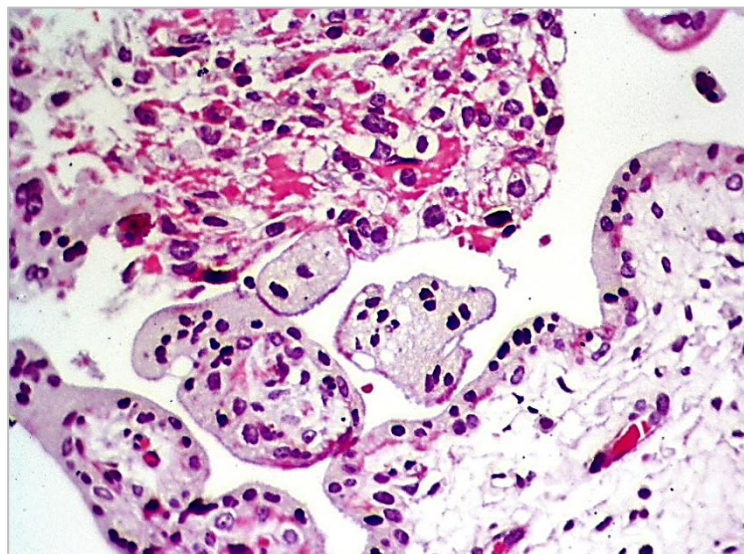


Рисунок 13. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Аvascularные и гиповаскулярные ворсины. Третичные ворсины. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$.

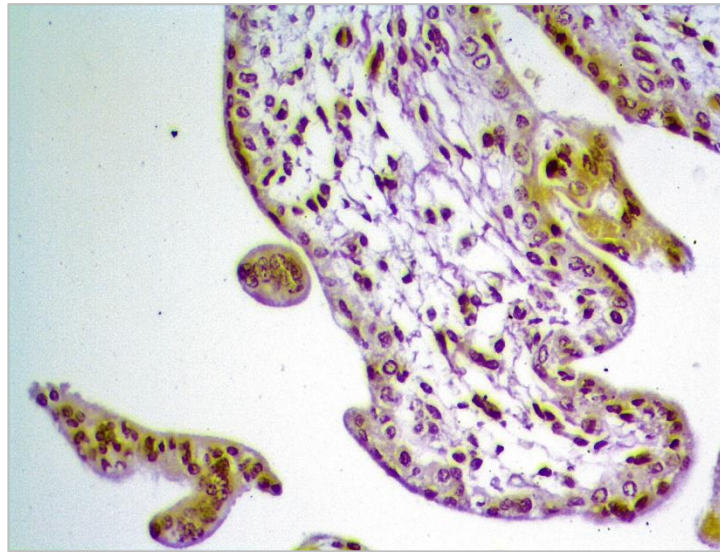


Рисунок 14. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Отечная, местами гипоплазированная ворсина хориона. Деформированные и апоптотические ядра трофобласта. Окраска по Ван Гизону. Ув. $\times 150$.

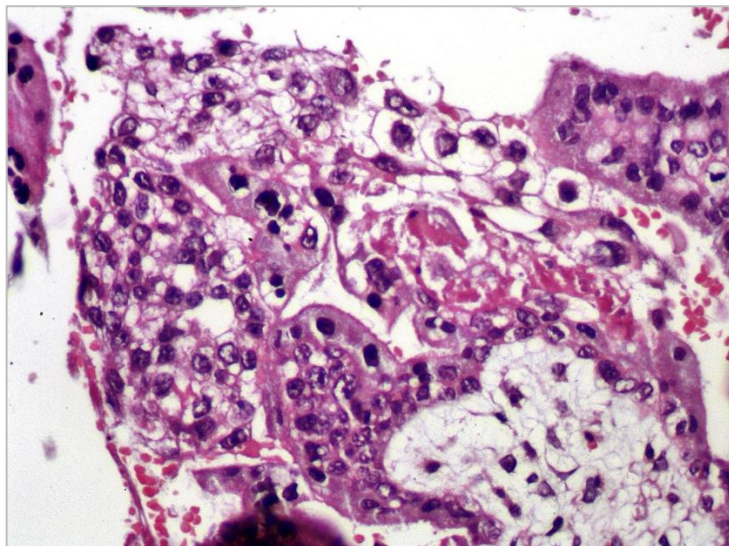


Рисунок 15. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Интерстициальная цитотрофобластическая инвазия в поверхностном функциональном слое эндометрия. Окраска гематоксилином-эозином. Ув. $\times 400$.

Для выявления особенностей инвазивных процессов и идентификации клеток цитотрофобласта нами использовалась иммуногистохимическая реакция на цитокератин 8 (рисунки 16-18).

В большинстве случаев отдельные группы клеток интерстициального цитотрофобласта, экспрессирующих цитокератин 8, были выявлены в краевых отделах маточно-плацентарной области (рисунок 16). При этом реакция на цитокератин 8 была значительно снижена. Также обращало внимание снижение числа многоядерных гигантских клеток.

В дистальных участках якорных ворсин угасание пролиферативной активности цитотрофобласта проявлялось значительным снижением экспрессии цитокератина 8 в цитотрофобласте первой, и отсутствием во второй и в третьей зонах инвазивной дистанции (рисунок 17). Большинство эмбриональных ворсин не имело реакции на цитокератин 8 или реакция была значительно снижена (рисунок 18).

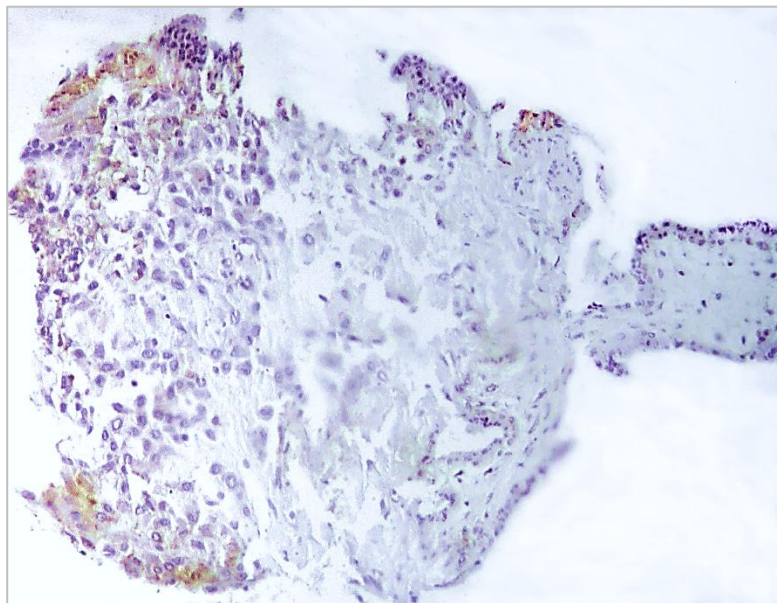


Рисунок 16. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Зоны инвазирующего цитотрофобласта.

Снижение реакции на цитокератин 8. Иммуногистохимическая реакция. Ув. × 150.

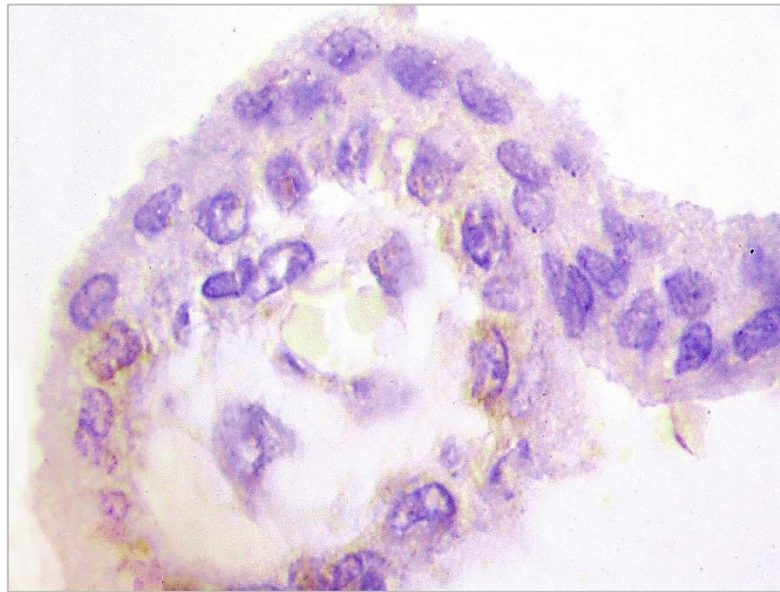


Рисунок 17. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Якорная ворсина. Зона пролиферирующего цитотрофобласта. Снижение реакции на цитокератин 8. Иммуногистохимическая реакция. Ув. × 400.

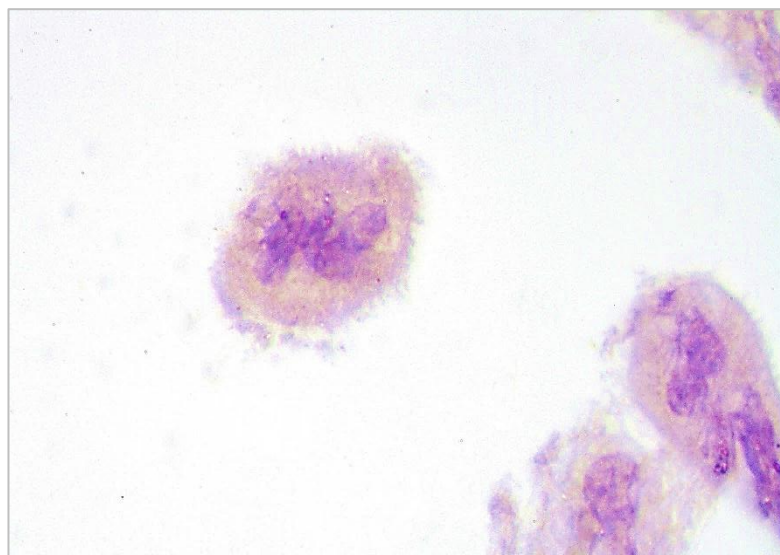


Рисунок 18. Самопроизвольный аборт. 9 недель беременности. Обострение ЦМВ инфекции. Третичные ворсины. Снижение реакции на цитокератин 8. Иммуногистохимическая реакция. Ув. $\times 600$.

Таким образом, можно заключить, что морфологическими критериями самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции являются признаки воспаления (инфильтрация, отек, фибриноидный некроз), нарушение процессов инвазии и миграции цитотрофобласта (снижение экспрессии цитокератина 8), ремоделирования маточных сосудов, дифференцировки и формирования ворсин.

ГЛАВА 4. ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И ФАКТОРЫ РИСКА САМОПРОИЗВОЛЬНОГО ВЫКИДЫША ПРИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

4.1. Прогностическая модель в оценке развития самопроизвольного выкидыша у женщин с ЦМВ инфекцией

Поиск предикторов и оценка развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции проводилось с использованием многофакторных анализов: дискриминантного и ROC (Receiver operating characteristic).

Для построения канонической дискриминантной функции был использован пошаговый анализ, включающий поиск наиболее значимых параметров оценки функционального состояния эмбриохориального комплекса (цитокины, ядерный фактор транскрипции, гормоны, факторы роста, растворимые формы рецепторов, металлопротеиназа и тканевой ингибитор) в дискриминантное уравнение, которое с высокой вероятностью описывало патогенетически значимые различия в механизмах регуляции, лежащих в основе нарушений процессов цитотрофобластической инвазии.

Данный метод позволяет учитывать вариабельность используемых количественных переменных, взятых со своими коэффициентами, во влиянии используемых признаков в правильность прогноза по развитию самопроизвольного выкидыша.

Для каждой отдельно взятой женщины в подгруппе 1 и 2 была определена каноническая функция. Многофакторные средние значения распределения используемых в дискриминантном анализе параметров соответствовали модулю центраида, что позволило отнести женщин в соответствующую группу риска по развитию самопроизвольного выкидыша.

При выполнении пошагового дискриминантного анализа были отобраны три параметра, максимально характеризующие возможные дискриминации совокупностей между подгруппами 1 и 2. Такими переменными выступили

провоспалительные факторы TNF- α и NF-kB, а также растворимый рецептор *fms*-подобной тирозинкиназы sFlt-1 ($p < 0,001$ соответственно). Искомые переменные имели высокие дискриминантные свойства в анализируемых подгруппах, что подтверждалось минимальным значением лямбды (λ)-Уилкса, которое в пошаговых расчетах не превышало 0,003 при дискриминантной функции (F) (328,998) = 936,553 ($p < 0,001$) (таблица 11).

Таблица 11 – Оценка канонической дискриминантной функции

Функция	Собственное значение	R	λ -Уилкса	χ^2	Степени свободы	P
1	328,998	0,998	0,003	936,553	3	<0,001

Классификационная способность дискриминантных совокупностей модели, включающей прогностические предикторы развития угрозы прерывания беременности в подгруппах, составила 100%.

Ниже представлена искомая дискриминантная (каноническая) функция, построенная согласно вычисленным коэффициентам:

$$F = -35,948 + 0,561 \times \text{TNF-}\alpha - 0,709 \times \text{NF-kB} - 0,318 \times \text{sFlt-1},$$

где -35,948 – константа.

Дальнейший анализ показал, что переменная TNF- α вносит наибольший вклад в дискриминацию совокупностей канонической функции, о чем свидетельствует значение стандартизованного коэффициента β равное 1,496. Для переменных NF-kB и sFlt-1 значения β были меньшими и соответственно составили -0,901 и -0,237.

На рисунках 19-20 представлены графики распределения средних значений (центроиды), вычисленных линейных дискриминантных функций для исследуемых подгрупп. Центроид для подгруппы 1 имеет положительное значение, для подгруппы 2 – отрицательное.

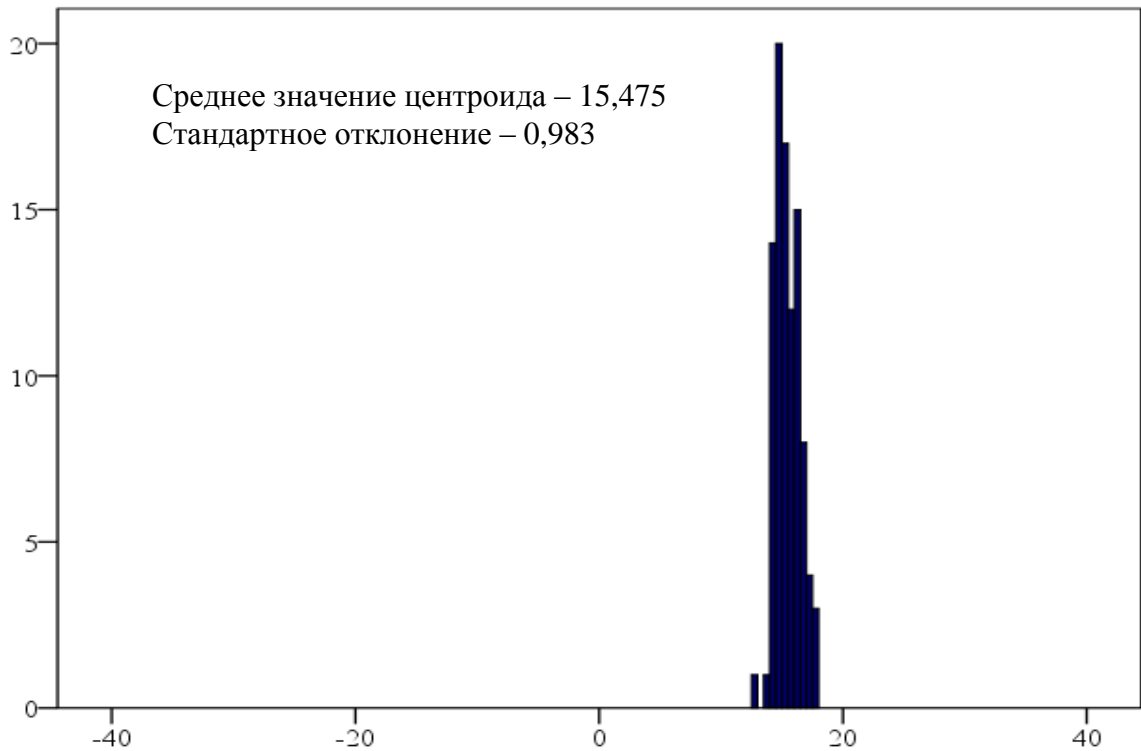


Рисунок 19. График распределения средних значений дискриминантной канонической функции в подгруппе 1.

Следовательно, чем больше значение функции, тем выше вероятность того, что беременность в первом триместре будет иметь неблагоприятный исход, и, наоборот, меньшие по модулю значения свидетельствуют о низкой вероятности развития самопроизвольного выкидыша.

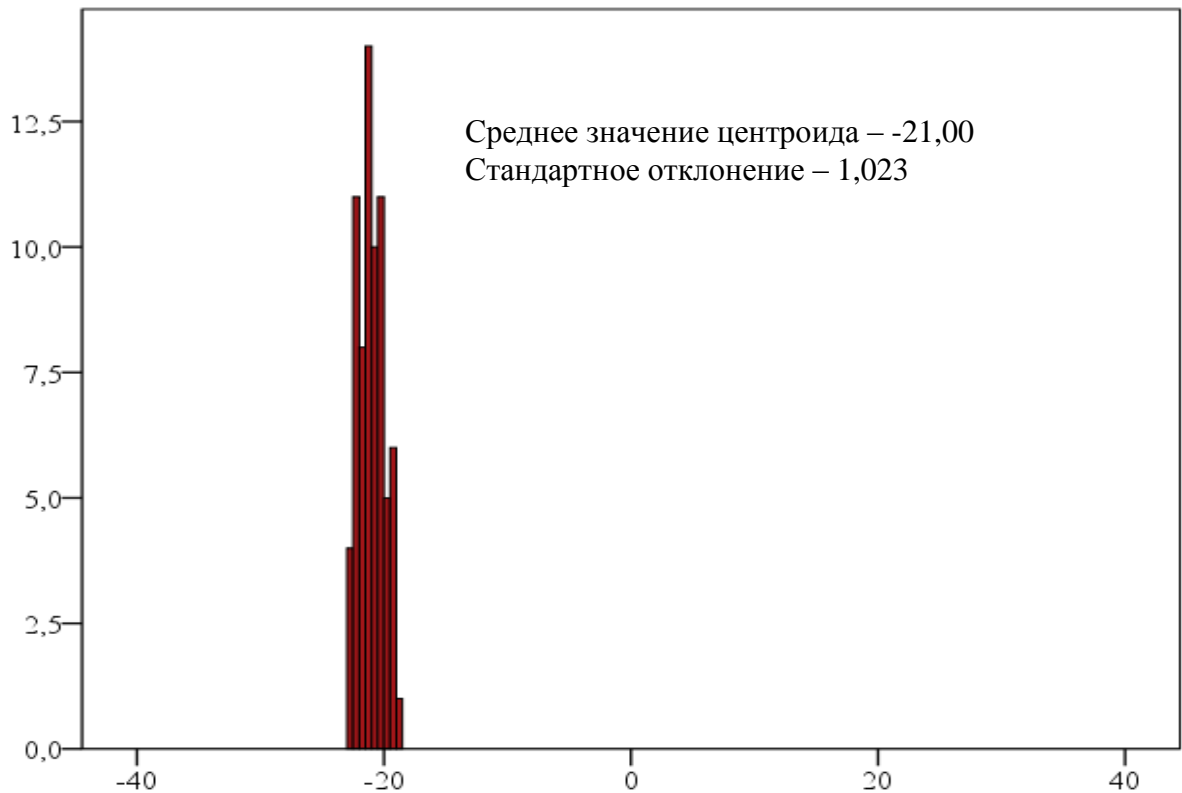


Рисунок 20. График распределения средних значений дискриминантной канонической функции в подгруппе 2.

Следует указать и на то, что вклад выявленных дискриминантных совокупностей в развитие самопроизвольного выкидыша в подгруппе 1 будет выше, чем в подгруппе 2. На достоверность различий в дискриминации переменных указывают коэффициенты линейных дискриминантных функций, значения которых приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Коэффициенты классификации линейной дискриминантной функции Фишера в подгруппах 1 и 2

Переменные	Подгруппа 1	Подгруппа 2
TNF- α	28,585	8,125
NF- κ B	-33,549	-7,678
sFlt-1	-13,454	-1,867
Константа	-1332,428	-122,265

Таким образом, дискриминантный анализ подтвердил, что беременные в подгруппах 1 и 2 имели общие дискриминантные совокупности, включающие переменные: TNF- α , NF- κ B и sFlt-1, но различающиеся между собой по вкладу в общую дискриминирующую функцию.

Дальнейшие математические расчеты, выполненные с помощью ROC-анализа, подтвердили возможность использования переменных TNF- α , NF- κ B и sFlt-1 в качестве прогностических предикторов самопроизвольного выкидыша в подгруппах 1 и 2.

В таблице 13 и на рисунке 21 представлены основные параметры оценки качества прогностической модели.

Таблица 13 – Оценка качества модели

Показатели	Площадь под кривой	Стандартная ошибка	P	95 % ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
TNF- α	0,850	0,030	0,001	0,791	0,910
NF- κ B	0,852	0,028		0,806	0,918
sFlt-1	0,794	0,034		0,728	0,860

Максимальная площадь под кривой (*AUC*) для TNF- α составила 0,850, NF- κ B – 0,852 и sFlt-1 – 0,794, что свидетельствовало о высоком качестве модели.

Порог отсечения (*cut-off*) определяли по наивысшему значению индекса Юдена (*J*), рассчитанному по формуле:

$$J = (Se + Sp) - 1,$$

где Se – чувствительность, Sp – специфичность.

Для TNF- α порог отсечения составил 107,05 пг/мл (чувствительность – 74,2%, специфичность – 99%, *J* – 0,73), для NF- κ B – 11,45 пг/мл

(чувствительность – 74,2%, специфичность – 99%, J – 0,73) и sFlt-1 – 3,34 пг/мл (чувствительность – 75,3%, специфичность – 74%, J – 0,49).

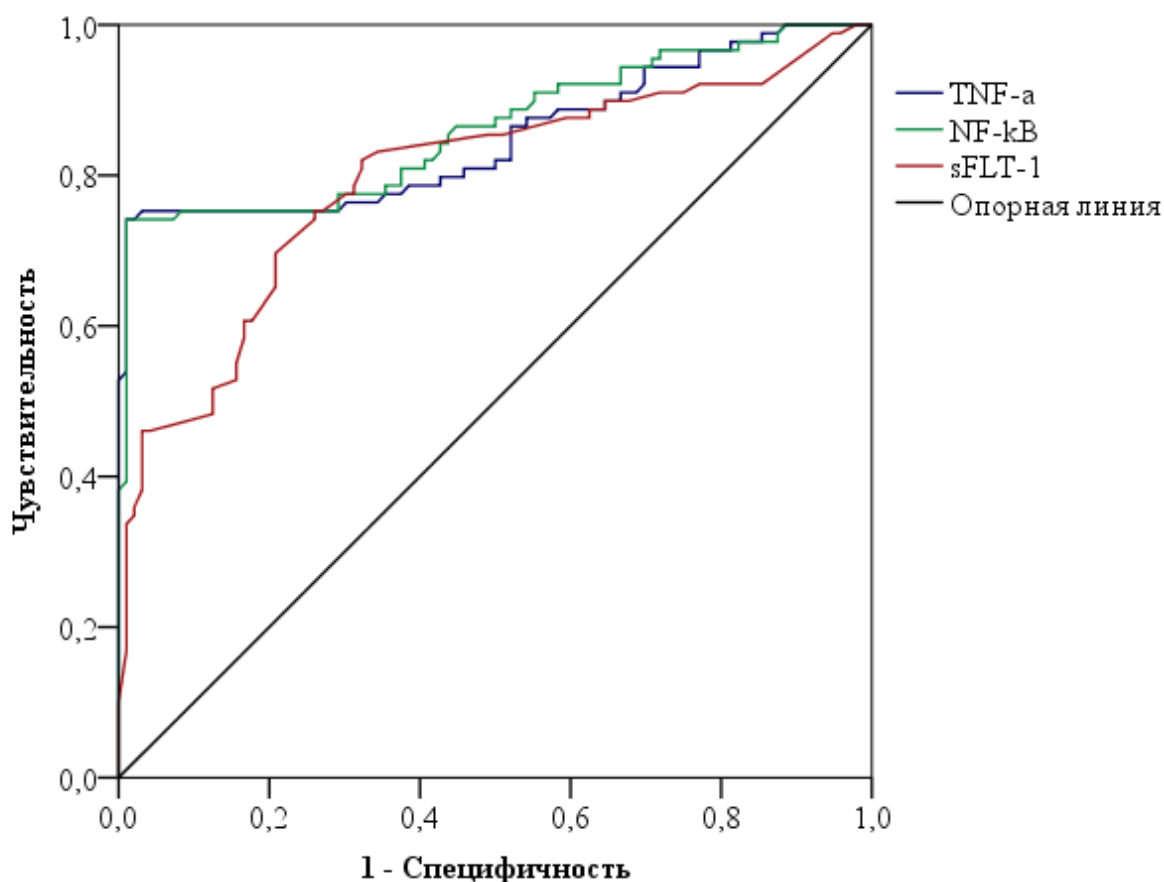


Рисунок 21. ROC-кривая диагностической способности модели прогноза угрозы прерывания беременности.

Выявлена умеренная связь угрозы выкидыша с показателями в крови равными и превышающими пороговые значения для TNF- α , NF- κ B и sFlt-1 ($\chi^2 = 51,45, p < 0,001$).

Таким образом, в результате проведенного исследования продемонстрирована возможность использования определения TNF- α , NF- κ B и sFlt-1 в периферической крови в комплексном диагностическом мониторинге беременных с обострением ЦМВ инфекции для выделения групп риска по развитию угрозы самопроизвольного выкидыша.

4.2 Факторы риска осложнённого течения беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции

С учетом полученных данных проведена оценка рисков исходов беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности (подгруппа 1). Риски исходов и осложнений беременности представлены в таблице 14.

Риск рассчитывался относительно исходов и осложнений в контрольной группе. Просчитать риски относительно женщин с латентным течением заболевания (подгруппа 2) не представлялось возможным в связи с тем, что все беременности закончились медицинским абортom по желанию женщины.

Согласно данным таблицы обострение ЦМВ инфекции увеличивало риск угрожающего и самопроизвольного выкидыша соответственно в 3,02 раза и в 4,52 раза ($p < 0,05$).

Таблица 14 – Показатели риска осложненного течения беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции

Осложнения беременности	ОР	ДИ 95% (нижняя граница)	ДИ 95% (верхняя граница)
Угрожающий выкидыш	3,02	1,09	8,4
Самопроизвольный выкидыш	4,52	1,07	19,18
Неспецифический вагинит	1,51	0,14	16,10
Рвота беременных	1,01	0,24	4,26
Анемия беременных	8,3	1,14	61,8

Вместе с тем неспецифический вагинит и рвота беременных не были значимыми факторами риска в исходах беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции ($p > 0,05$).

В то время, как анемия у женщин с обострением ЦМВ инфекции была отягощающим фактором в исходах беременности ($p < 0,05$). Риск развития анемии был в 8,3 раза выше, чем в контрольной группе.

С учетом того, что в подгруппе 1 у 18,8% женщин с угрожающим выкидышем и у 58,3% женщин с самопроизвольным выкидышем была диагностирована анемия, были рассчитаны риски исходов беременности.

Анемия у женщин с обострением ЦМВ инфекции не увеличивала риск угрожающего выкидыша (ОР=5,62; 95%ДИ: 0,63-49,80), но при этом вероятность развития самопроизвольного выкидыша была выше в 6,56 раз (ОР=6,56; 95%ДИ: 2,29-18,8).

Таким образом, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности увеличивает риск угрожающего и самопроизвольного выкидыша. Анемия у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности является фактором, способствующим развитию самопроизвольного выкидыша.

ОБСУЖДЕНИЕ

Частота встречаемости антител IgG к ЦМВ среди женщин репродуктивного возраста в России достигает 91,2% и может зависеть от региона и социально-экономических условий жизни [128, 243]. Характерной особенностью ЦМВ инфекции является ее бессимптомность, что увеличивает риск неблагоприятных исходов беременности, в том числе самопроизвольного выкидыша. Показано, что угрожающий выкидыш при обострении ЦМВ инфекции выявляется у 36,8-45,5% женщин [179]. У 41,9% женщин с привычным невынашиванием беременности диагностируется латентная ЦМВ инфекция [71].

Среди причин самопроизвольного выкидыша при ЦМВ инфекции выделяют опосредованное через индукцию иммуновоспалительных реакций действие ЦМВ на эмбриохориальный комплекс. Предполагается связь ЦМВ-индуцированного воспалительного ответа с формированием неадекватной или ограниченной цитотрофобластической инвазии, определяющей задержку трансформации маточных артерий [322]. Однако механизмы, с помощью которых ЦМВ нарушает формирование эмбриохориального комплекса, и как эти изменения могут привести к самопроизвольному выкидышу при различном течении инфекции, до конца не изучены.

ЦМВ реплицируется в клетках цитотрофобласта, нарушая тем самым способность к дифференцировке и инвазии, а также изменяя экспрессию ключевых молекул деградации внеклеточного матрикса, представленных системой матриксных металлопротеиназ [35, 238, 275] и провоспалительных цитокинов [256]. Экспериментально доказано лимитирующее влияние ЦМВ на металлопротеиназную активность трофобластов, что может быть связано с изменением продукции IL-10 [269]. Другим фактором, через который ЦМВ может привести к нарушению формирования и функционирования плаценты, является локальный воспалительный ответ, вызванный усилением продукции TNF- α [257]. Отмечена связь экспрессии TNF- α в группе выделенных клеток

трофобласта с самопроизвольным выкидышем. Также показано влияние прогестерона на металлопротеиназную активность трофобласта [44, 292, 302], хотя специфические эффекты прогестерона, через которые осуществляются метаболические пути регуляции цитотрофобластической инвазии и маточно-плацентарного ангиогенеза, остаются до конца не выясненными.

Следовательно, понимание молекулярных механизмов ЦМВ инфекции и ее влияния на формирование эмбриохориального комплекса необходимо для определения потенциальных предикторов нарушения инвазивных процессов, что может быть использовано в прогнозируемом мониторинге беременных по риску развития самопроизвольного выкидыша.

В связи с этим, целью диссертационного исследования явилось выявление механизмов нарушения инвазии цитотрофобласта при ЦМВ инфекции.

На первом этапе была проведена оценка содержания про-/противовоспалительных цитокинов (TNF- α , IL-1 β , IL-10) и регуляторов их активности (растворимого рецептора sTNF-R1, ядерного транскрипционного фактора NF- κ B) в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона у женщин с ЦМВ инфекцией в первом триместре беременности (основная группа). Выбор данных цитокинов не случаен и определяется их вкладом в регуляцию процессов инвазии цитотрофобласта.

Согласно полученным результатам, в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции уровень TNF- α в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) был достоверно выше, чем в группе ЦМВ-серонегативных женщин (контрольная группа) и в подгруппе женщин с латентным течением заболевания. В подгруппе женщин с латентной ЦМВ инфекцией содержание TNF- α в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) также было повышено по сравнению с контрольной группой.

Наши данные согласуются с имеющимися в литературе сведениями, в которых показано повышение экспрессии TNF- α в трофобласте

инфицированных и неинфицированных ЦМВ плацент у женщин с антенатальной гибелью плода [242, 256]. По другим данным, моделирование интраамниального инфицирования также повышает образование TNF- α и ряда других провоспалительных цитокинов, стимулирующих выработку простагландинов, что приводит к усилению сократительной способности матки и началу родов [163]. Обращает внимание и тот факт, что TNF- α усиливает адгезивные и цитотоксические свойства децидуальных NK-лимфоцитов, их трансмиграцию в плодовой кровотоки с развитием неблагоприятных последствий для плода [138].

Следует отметить, что реализация основных биологических эффектов TNF- α находится под контролем специфических рецепторов (TNF-R1, TNF-R2) и их растворимых форм (*s*TNF-R1, *s*TNF-R2). Рецептор TNF-R1 участвует в активации апоптоза на этапе инвазии цитотрофобласта, тогда как TNF-R2 обеспечивает запуск процессов ангиогенеза, адгезии и миграции через активацию эндотелиальных клеток фактором роста VEGF-A [138]. Появление в периферической крови высокого уровня растворимой формы рецептора *s*TNF-R1, по мнению авторов [317], может быть связано с развитием системного воспалительного ответа на фоне активной репликации вируса и истощения пула CD4+ Т-клеток. В других исследованиях [272, 315] отмечена роль высоких показателей *s*TNF-R1 с развитием эндотелиальной дисфункции и неблагоприятным исходом беременности, тогда как физиологическое течение беременности – с одновременным увеличением продукции *s*TNF-R1 и *s*TNF-R2 при референсных значениях TNF- α [209].

Согласно результатам, в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено достоверное повышение содержания *s*TNF-R1 в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) при отсутствии значимых различий в сыворотке крови ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой женщин с латентным течением заболевания. В подгруппе женщин с латентной ЦМВ инфекцией изменений в содержании *s*TNF-R1 в сыворотке

крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p > 0,05$).

Расчет $\text{TNF-}\alpha/\text{sTNF-R1}$ в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции показал, что коэффициент соотношения в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) был достоверно выше, чем в контрольной группе и в подгруппе женщин с латентным течением заболевания. В подгруппе женщин с латентным течением инфекции аналогичные показатели также были повышены в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой.

Из полученных результатов можно заключить, что обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности в отличие от латентного течения заболевания приводит к значительному повышению уровня $\text{TNF-}\alpha$ в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона. Возникающий дисбаланс в регуляции активности $\text{TNF-}\alpha$, возможно, выступает триггером в развитии реакций, запускающих процессы воспаления, что приводит к повреждению эмбриохориального комплекса.

Следует также отметить, что модуляция воспалительных процессов, индуцированная сигнальным комплексом $\text{TNF}\alpha/\text{TNF-R1}$, тесно связана с изменением экспрессии ядерного фактора транскрипции $\text{NF-}\kappa\text{B}$ [335]. И, наоборот, инициация $\text{NF-}\kappa\text{B}$ сигнального пути по принципу прямой обратной связи запускает выработку провоспалительных медиаторов, обладающих протективными и апоптотическими свойствами [263]. Имеются сведения показывающие, что на начальных стадиях транскрипции и репликации ЦМВ использует $\text{NF-}\kappa\text{B}$ -путь для ускользания от иммунного ответа [194, 320]. Это создает предпосылки для развития виремии, воспаления и апоптоза [218].

Наши данные подтвердили, что обострение ЦМВ инфекции сопровождается значительным повышением уровня $\text{NF-}\kappa\text{B}$ в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$).

В подгруппе женщин с латентным течением инфекции значимых изменений в содержании ядерного транскрипционного фактора в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона выявлено не было ($p > 0,05$).

Оценивая содержание другого провоспалительного цитокина $IL-1\beta$ в исследуемых подгруппах, были выявлены следующие изменения. В подгруппе с обострением ЦМВ инфекции уровень цитокина достоверно повышался в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением инфекции уровень $IL-1\beta$ в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) также был повышен по сравнению с контрольной группой.

Следует отметить, что однонаправленное повышение уровня $IL-1\beta$ и $TNF-\alpha$ в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона при обострении ЦМВ инфекции, может выступать как фактор, усиливающий провоспалительное влияние цитокинов на эмбриохориальный комплекс [163].

Развитие воспалительных реакций в ворсинчатом хорионе возможно было связано с изменением уровня $IL-10$. В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции уровень цитокина достоверно снижался в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением инфекции уровень $IL-10$ в сыворотке крови ($p < 0,001$) и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) также был снижен по сравнению с контрольной группой.

Показана связь низкого уровня $IL-10$ с нарушением формирования эмбриохориального комплекса [163]. Согласно другим исследованиям, в трофобластах, инфицированных ЦМВ, усиливается экспрессия $IL-10$, что приводит к снижению продукции материнского $IL-10$, усиливающего воспаление и развитие нарушения инвазии цитотрофобласта [255].

Дальнейшие исследования, проведенные с использованием пошагового корреляционно-регрессионный анализа, позволили выявить предикторы

цитокинового ответа, имеющие наиболее сильную связь с развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции, из них TNF- α ($r = -0,80, p < 0,05$), IL-10 ($r = 0,67, p < 0,05$), IL-1 β ($r = -0,64, p < 0,05$) и NF-kB ($r = -0,55, p < 0,05$). Наибольший вклад в развитие нарушений вносили TNF- α ($\beta = -3,12, p < 0,05$) и IL-10 ($\beta = -0,69, p < 0,05$).

Анализ стохастических связей в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции позволил выявить корреляции между показателями TNF- α ($r = 0,85, p < 0,05$), sTNF-R1 ($r = 0,79, p < 0,05$), IL-1 β ($r = 0,77, p < 0,05$), IL-10 ($r = 0,78, p < 0,05$) и NF-kB ($r = 0,87, p < 0,05$) в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона. В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции значимые корреляции были между показателями IL-1 β ($r = 0,81, p < 0,05$) и IL-10 ($r = 0,79, p < 0,05$).

Основываясь на патогенетической роли цитокиновой и гормональной систем в формировании эмбриохориального комплекса, была проведена биохимическая и гистохимическая оценка уровня прогестерона и эстрадиола в исследуемых группах.

В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено достоверное снижение показателей прогестерона в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции содержание гормона в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона также было снижено по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

Аналогичная, но менее выраженная динамика изменений прослеживалась в показателях эстрадиола. В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено достоверное снижение уровня гормона в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,05$). В подгруппе с латентным течением ЦМВ инфекции значимых изменений в

сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p>0,05$).

Расчет соотношения прогестерона к эстрадиолу в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявил снижение коэффициента соотношения в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p<0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции значимых изменений в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой выявлено не было ($p>0,05$).

В ходе дальнейших исследований, выполненных с использованием гистохимических маркеров оценки содержания прогестерона и эстрадиола, выявлено нарушение локальной продукции гормонов в исследуемых подгруппах.

В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено снижение количества продуктов гистохимической реакции на прогестерон в цитотрофобласте по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p<0,001$), что соотносилось с показателями иммуноферментного анализа в экстрактах ворсинчатого хориона. В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции цитоморфометрические показатели гормона также были снижены по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$).

Цитофотометрический анализ продуктов гистохимической реакции на эстрадиол в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявил снижение количества гормона по сравнению с контрольной группой ($p<0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p<0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции цитофотометрические показатели эстрадиола значимо не изменялись по сравнению с контрольной группой ($p>0,05$).

Дальнейший корреляционно-регрессионный анализ выявил связь низких показателей эстрадиола с развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции ($r = 0,55$, $\beta = 0,25$, $p < 0,05$). Возможно, эта связь осуществляется через иммуновоспалительные реакции, главным образом, через активацию Т-клеточного звена иммунитета [227]. Показано влияние низких концентраций эстрадиола на активацию Th1-клеточного иммунитета, в то время как высокие концентрации гормона усиливают ответы Th2 и гуморальный иммунитет [314]. Эстрадиол также участвует в реализации провоспалительных реакций, которые транскрипционно опосредованы NF- κ B [213, 223, 314] и TNF- α [307]. Показана связь недостаточности эстрадиола с нарушением инвазии цитотрофобласта [239].

Прогестерон, в отличие от эстрадиола, оказывает противоположные иммунодепрессивные эффекты через подавление Т-клеточной активности и регуляции секреции противовоспалительных цитокинов [227].

Анализ стохастических взаимосвязей в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявил корреляции и относительный вклад показателей TNF- α и NF- κ B в изменение параметров прогестерона ($r = -0,77$ и $\beta = -0,38$, $p < 0,05$; $r = -0,79$ и $\beta = -0,45$, $p < 0,05$) и эстрадиола ($r = -0,85$ и $\beta = -0,52$, $p < 0,05$; $r = -0,83$ и $\beta = -0,37$, $p < 0,05$). В подгруппе женщин с латентным течением заболевания выявлена взаимосвязь IL- 1β с прогестероном ($r = -0,67$ и $\beta = -0,70$, $p < 0,05$).

Следовательно, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности может быть связано с запуском воспалительных реакций через активацию сигнального пути NF- κ B и повышение уровня TNF- α , что нарушает состояние гормонообразовательных и соответственно инвазивных процессов.

В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции выявленная связь IL- 1β , прогестерона и эстрадиола также может указывать на модулирующую роль иммуно-гормональных изменений в регуляции процессов, контролируемых формированием эмбриохориального комплекса.

Инвазия цитотрофобласта является критическим этапом на протяжении всего первого триместра беременности [260]. Показана связь недостаточности ремоделирования спиральных артерий с повреждением плацентарных сосудов у женщин с угрожающим течением беременности [241, 277]. Незначительное повышение экспрессии факторов роста на ранних сроках беременности может быть причиной эндотелиальных нарушений в плаценте [236].

Обнаружено, что при патологическом течении беременности повышен уровень *sFlt-1* в клетках трофобласта, экспрессирующих факторы роста VEGF-A [303] и PlGF [273]. Согласно другим данным, VEGF преимущественно экспрессируется в децидуальных клетках по сравнению с другими клетками, тогда как уровень *sFlt-1* повышен в клетках цитотрофобласта [236]. В эксперименте VEGF стимулировал высвобождение *sFlt-1* как в эндотелиальных клетках, так и в клетках плаценты [188]. Имеются сведения, доказывающие лимитирующее влияние *sFlt-1* на процессы инвазии [336].

Оценивая состояние процессов ангиогенной регуляции в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено достоверное повышение в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона содержания *sFlt-1* по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции значимых изменений выявлено не было ($p > 0,05$).

Содержание VEGF-A в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции было снижено в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой женщин с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции, наоборот, отмечено повышение уровня VEGF-A в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,05$).

Аналогичная динамика изменений была выявлена в отношении содержания PlGF. В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции уровень ростового фактора в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого

хориона был снижен по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$) и подгруппой с латентным течением заболевания ($p < 0,001$). В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции показатели PlGF в крови и в экстрактах ворсинчатого хориона были повышены по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$).

При сравнении системных и локальных показателей про-/антиангиогенных факторов в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции и латентным течением заболевания выявлено, что уровень sFlt-1 и VEGF-A был выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в сыворотке крови ($p < 0,001$), а содержание PlGF значимо не изменялось ($p > 0,05$). При этом уровень sFlt-1 в экстрактах ворсинчатого хориона был выше в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции, чем в подгруппе женщин с латентным течением заболевания, а VEGF-A, наоборот, был выше в подгруппе женщин с латентной инфекцией, чем в подгруппе женщин с обострением инфекции, что указывало на формирование приспособительных реакций в ответ на нарушение иммуно-гормональной регуляции, предопределяющих дальнейшее развитие беременности.

Доказательством явилась, установленная с помощью корреляционно-регрессионного анализа, ассоциация осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции со снижением уровня VEGF-A ($r = 0,82$, $p < 0,05$), PlGF ($r = 0,76$, $p < 0,05$) и повышением sFlt-1 ($r = -0,60$, $p < 0,05$).

Анализ стохастических связей выявил парные корреляции между системными и локальными показателями VEGF-A ($r = 0,79-0,81$, $p < 0,05$), sFlt-1 ($r = 0,76-0,72$, $p < 0,05$), PlGF ($r = 0,75-0,76$, $p < 0,05$) в подгруппах женщин с обострением ЦМВ инфекции и латентным течением заболевания, что могло свидетельствовать о влиянии ангиогенных факторов, продуцируемых трофобластом, на уровень их циркуляции в периферической крови.

Дальнейший анализ выявил корреляции и относительный вклад TNF- α в изменение показателей VEGF-A ($r = -0,82$, $\beta = -1,052$, $p < 0,05$), sTNF-R1 ($r = -$

0,61, $\beta = -0,28$, $p < 0,05$), sFlt-1 (r и $\beta = 0,51$, $p < 0,05$) и PlGF (r и $\beta = -0,72$, $p < 0,05$) в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции.

В подгруппе с латентным течением ЦМВ инфекции выявлены парные корреляции VEGF-А с прогестероном ($r = 0,57$, $\beta = 0,37$, $p < 0,05$) и эстрадиолом ($r = 0,54$, $\beta = 0,28$, $p < 0,05$), PlGF с прогестероном (r и $\beta = 0,43$, $p < 0,05$).

Следовательно, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности сопряжено с вовлечением провоспалительного фактора TNF- α в нарушение ангиогенной регуляции и формирование эмбриохориального комплекса. Латентная форма инфекции связана с влиянием изменений уровня прогестерона и эстрадиола на маточно-плацентарный ангиогенез, что согласуется с литературными данными [247].

Следует отметить, что факторы роста участвуют в регуляции инвазии цитотрофобласта через активацию различных MMP и связанных с ними сигнальных путей [304]. Показано участие PI3K/Akt или MEK/ERK в подавлении активности MMP-9 и изменении инвазивной способности цитотрофобласта [224, 313]. В другом исследовании отмечена связь недостаточности MMP-9, вызванной низким уровнем VEGF, с аномалиями развития плаценты и задержкой роста плода [280].

Согласно нашим результатам, в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявлено достоверное снижение уровня MMP-9 в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) при отсутствии различий в сыворотке крови ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой женщин с латентным течением заболевания. В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции не было выявлено значимых изменений в содержании MMP-9 в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Сравнительный анализ показателей TIMP-1 в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции выявил повышение уровня тканевого ингибитора в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$) при отсутствии различий в сыворотке крови ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой и подгруппой

женщин с латентным течением заболевания. В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции не было выявлено различий в показателях TIMP-1 в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона по сравнению с контрольной группой ($p > 0,05$).

Сравнение системных и локальных показателей в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции¹, выявило, что уровень MMP-9 и TIMP-1 был выше в экстрактах ворсинчатого хориона, чем в сыворотке крови ($p < 0,001$), что могло свидетельствовать о напряженности механизмов регуляции инвазии цитотрофобласта. В подгруппе 2 показатели MMP-9 были выше в экстрактах ворсинчатого хориона ($p < 0,001$), чем в сыворотке крови, а показатели TIMP-1 значимо не различались между сывороткой крови и экстрактами ворсинчатого хориона ($p > 0,05$), что, по-видимому, явилось следствием развития приспособительных реакций, участвующих в процессах инвазии цитотрофобласта.

Дальнейший корреляционно-регрессионный анализ выявил ассоциации между развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции, показателями MMP-9 ($r = 0,49, p < 0,05$) и TIMP-1 ($r = -0,73, p < 0,05$).

Анализ стохастических связей в подгруппе с обострением ЦМВ инфекции выявил корреляции между показателями MMP-9 ($r = 0,80, p < 0,05$) и TIMP-1 ($r = 0,52, p < 0,05$) в сыворотке крови и в экстрактах ворсинчатого хориона. Аналогичные корреляции были выявлены в подгруппе с латентным течением инфекции ($r = 0,75-0,83, p < 0,05$).

Дополнительно был проведен анализ взаимосвязи и вклада цитокинов и факторов роста в изменение параметров, характеризующих процессы цитотрофобластической инвазии.

В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции показаны корреляции и относительный вклад MMP-9 в изменение показателей sFlt-1 ($r = -0,82, \beta = -0,34, p < 0,05$) и PlGF ($r = 0,81, \beta = 0,71, p < 0,05$). Показатели TIMP-1 коррелировали с PlGF (r и $\beta = 0,78, p < 0,05$).

В подгруппе женщин с латентным течением ЦМВ инфекции выявлена корреляция и относительный вклад ММР-9 в изменение показателей sFlt-1 (r и $\beta = -0,75$, $p < 0,05$). Показатели TIMP-1 коррелировали с IL-1 β (r и $\beta = -0,78$, $p < 0,05$).

Таким образом, одновременно с нарушением ангиогенной регуляции при обострении ЦМВ инфекции блокируются механизмы протеолитической деградации внеклеточного маточно-хориального матрикса, что на фоне воспаления приводит к нарушению инвазии цитотрофобласта. При латентном течении заболевания фактором, определяющим состояние процессов инвазии, является оптимальный уровень тирозинкиназной активности.

Изучая гистологические срезы слизистой матки и ворсинчатого хориона, полученных от женщин с обострением ЦМВ инфекции, были выявлены децидуальные сосудистые изменения, характеризующиеся уменьшением количества маточных сосудов, явлениями их склерозирования и гиалиноза, нарушениями инвазии. В децидуальной ткани выявлялись очаги воспаления в виде диффузной инфильтрации лейкоцитами, а также фибриноидные некротические изменения. Не редко участки скопления лейкоцитов вокруг очагов кровоизлияния в слизистой оболочке сочетались с клиническими и ультразвуковыми признаками угрозы самопроизвольного выкидыша. В подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции кровянистые выделения из половых путей были отмечены у всех женщин, в подгруппе женщин с латентным течением заболевания – у 11,83%. Ретрохориальная гематома по данным ультразвукового исследования была выявлена у 42,1% женщин в подгруппе с обострением ЦМВ инфекции и у 5,38% в подгруппе с латентным течением заболевания. Риск развития ретрохориальной гематомы в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции был в 2,36 раза выше ($p < 0,001$), чем в подгруппе женщин с латентным течением заболевания.

Дальнейшие исследования показали, что ворсинчатый хорион в подгруппе женщин с обострением ЦМВ инфекции был представлен преимущественно ворсинами эмбрионального типа без признаков

дифференцировки мезенхимальных клеток в эндотелиоциты. Встречались аваскулярные некротизированные ворсины, окруженные фибриноидом. В гиповаскулярных ворсинах определялись признаки апоптоза эндотелиальных клеток и фибробластов. Капилляры в таких ворсинах были вытянуты и сдавлены из-за отека. Не редко выявлялся тромбоз сосудов.

Покровный эпителий ворсин был местами гипоплазирован, встречались участки с утолщениями и хаотично расположенными деформированными, а также апоптотическими ядрами, что могло указывать на эндокринную недостаточность трофобласта. Участки цитотрофобластической инвазии часто обнаруживались в поверхностных отделах функционального слоя эндометрия.

Для определения особенностей цитотрофобластической инвазии и идентификации клеток цитотрофобласта нами была использована иммуногистохимическая реакция на цитокератин 8.

На препаратах выявлялись отдельные группы клеток цитотрофобласта, экспрессирующих цитокератин 8. При этом реакция на цитокератин 8 была снижена. Также выявлялось снижение числа многоядерных гигантских клеток, что указывало на нарушение гравидарной трансформации эндометрия.

В дистальных участках якорных ворсин определялись участки снижения экспрессии цитокератина 8 в первой, и отсутствием во второй и в третьей зонах инвазивной дистанции, что могло указывать на угасание пролиферативной активности и миграционной способности цитотрофобласта. Большинство эмбриональных ворсин также не имело реакции на цитокератин 8 или реакция была значительно снижена.

Таким образом, можно заключить, что дифференциальными критериями самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции, являются признаки воспаления (инфильтрация, отек, фибриноидный некроз) и нарушения инвазивной и миграционной способности цитотрофобласта (снижение экспрессии цитокератина 8).

Учитывая особенности изменений в системе цитокиновой, гормональной и ангиогенной регуляции процессов инвазии цитотрофобласта был проведен

поиск прогнозных предикторов, на основании которых разработана модель развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

В ходе выполнения пошагового дискриминантного анализа были отобраны три параметра, имеющие высокий уровень достоверности и характеризующие возможные дискриминации совокупностей между подгруппами с обострением ЦМВ инфекции и латентным течением заболевания. Среди них провоспалительные факторы TNF- α и NF-kB и растворимый рецептор fms-подобной тирозинкиназы sFlt-1.

Параметры имели высокие дискриминантные свойства ($\lambda = 0,003$, $p < 0,001$). Классификационная способность дискриминантных совокупностей модели составила 100%.

Каноническая дискриминантная функция представлена ниже:

$$F = -35,948 + 0,561 \times \text{TNF-}\alpha - 0,709 \times \text{NF-kB} - 0,318 \times \text{sFlt-1},$$

где -35,948 – константа.

Проведенный дискриминантный анализ показал, что наибольший вклад в дискриминацию совокупностей канонической функции, а, следовательно, в развитие самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции, имеют показатели TNF- α ($\beta = 1,496$, $p < 0,001$), NF-kB ($\beta = -0,901$, $p < 0,001$) и sFlt-1 ($\beta = -0,237$, $p < 0,001$).

Дальнейшие расчеты, выполненные с помощью ROC-анализа, подтвердили возможность использования показателей TNF- α , NF-kB и sFlt-1 в качестве прогностических предикторов самопроизвольного выкидыша. Максимальная площадь под кривой (AUC) для TNF- α составила 0,850, NF-kB – 0,852 и sFlt-1 – 0,794 ($p < 0,001$ соответственно), что свидетельствовало о высоком качестве модели. Для TNF- α порог отсечения (*cut-off*) составил 107,05 пг/мл (чувствительность – 74,2%, специфичность – 99%, $J = 0,73$), для NF-kB – 11,45 пг/мл (чувствительность – 74,2%, специфичность – 99%, $J = 0,73$) и sFlt-1 – 3,34 пг/мл (чувствительность – 75,3%, специфичность – 74%, $J = 0,49$). Выявлена ассоциация развития самопроизвольного выкидыша с

показателями TNF- α , NF-kB и sFlt-1 равными и превышающими пороговые значения ($\chi^2 = 51,45, p < 0,001$).

В результате проведенного исследования продемонстрирована возможность использования определения TNF- α , NF-kB и sFlt-1 в комплексном диагностическом мониторинге беременных с обострением ЦМВ инфекцией для выделения групп риска по развитию самопроизвольного выкидыша.

Дополнительно была проведена оценка рисков исходов беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности относительно женщин контрольной группы. Выявлено, что обострение ЦМВ инфекции в 3,02 раза увеличивает риск угрожающего выкидыша ($p < 0,05$) и в 4,52 раза развития самопроизвольного выкидыша ($p < 0,05$). Неспецифический вагинит и рвота беременных не были значимыми факторами риска в исходах беременности у женщин с обострением ЦМВ инфекции ($p > 0,05$), в то время как анемия была отягощающим фактором в исходах беременности ($p < 0,05$). Риск анемии был в 8,3 раза выше, чем в контрольной группе.

С учетом того, что в подгруппе с обострением ЦМВ инфекции у 18,8% женщин с угрожающим выкидышем и у 58,3% женщин с самопроизвольным выкидышем была диагностирована анемия, были рассчитаны риски исходов беременности. Анемия у женщин с обострением ЦМВ инфекции не увеличивала риск угрожающего выкидыша ($p > 0,05$), но при этом вероятность развития самопроизвольного выкидыша была выше в 6,56 раза ($p < 0,05$).

Таким образом, обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности увеличивает риск угрожающего и самопроизвольного выкидыша. Анемия у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности является фактором, способствующим развитию самопроизвольного выкидыша.

На основании полученных результатов разработана концептуальная схема механизмов развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции (рисунок 22).



Рисунок 22. Концептуальная схема механизмов развития самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности характеризуется одновременным повышением уровня в периферической крови и в ворсинчатом хорионе цитокинов провоспалительного профиля $TNF-\alpha$ и $IL-1\beta$ и снижением содержания противовоспалительного $IL-10$. Формируемый дисбаланс в системе цитокинов в ворсинчатом хорионе приводит к повышению уровня растворимого рецептора $sTNF-R1$ и ядерного транскрипционного фактора $NF-kB$, что изменяет провоспалительный сигналинг и приводит к развитию локального воспалительного ответа. Латентное течение инфекции связано с меньшим по выраженности повышением уровня $TNF-\alpha$ и $IL-1\beta$ и снижением содержания $IL-10$. Выявлен значимый вклад высокого уровня $TNF-\alpha$ и низкого $IL-10$ в развитие осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции.

2. Обострение ЦМВ инфекции в первом триместре беременности приводит к развитию эмбриохориальной недостаточности, характеризующейся снижением уровня в периферической крови и в ворсинчатом хорионе прогестерона и эстрадиола, в отличие от латентного течения заболевания, при котором снижается содержание прогестерона. Выявлен значимый вклад изменчивости показателей эстрадиола в развитие осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции.

3. При обострении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности выявлено нарушение ангиогенной регуляции эмбриохориального комплекса, что проявляется в одновременном повышении уровня в периферической крови и в ворсинчатом хорионе антиангиогенного фактора $sFlt-1$ и снижении содержания проангиогенных $VEGF-A$ и $PlGF$. Латентное течение заболевания характеризуется повышением уровня в периферической крови и в ворсинчатом хорионе $VEGF-A$ и $PlGF$ при

отсутствии изменений в содержании *sFlt-1*. Выявлена ассоциация изменчивости показателей VEGF-А, PlGF и *sFlt-1* с развитием осложнений первого триместра беременности при обострении ЦМВ инфекции.

4. При обострении ЦМВ инфекции в первом триместре беременности нарушаются механизмы протеолитической деградации внеклеточного маточно-хориального матрикса и инвазии цитотрофобласта, что проявляется в снижении уровня MMP-9 и повышении содержания тканевого ингибитора TIMP-1. При латентном течении заболевания факторами состоятельности инвазивных процессов можно считать компенсаторное повышение уровня MMP-9 при отсутствии изменений содержания TIMP-1 в ворсинчатом хорионе.

5. Морфологическими критериями самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции являются признаки локального воспаления маточно-хориального комплекса (инфильтрация, отек, фибриноидный некроз), нарушение инвазии и миграции цитотрофобласта (снижение экспрессии цитокератина 8), ремоделирования маточных сосудов, дифференцировки и формирования ворсин.

6. У женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности в 3,02 раза увеличивается риск угрожающего и в 4,52 раза самопроизвольного выкидыша. Развитие анемии у женщин с обострением ЦМВ инфекции в первом триместре беременности увеличивает в 6,56 раза риск самопроизвольного выкидыша.

7. В ходе выполнения дискриминантного и ROC анализов продемонстрирована возможность использования пороговых значений прогностических маркеров TNF- α , NF- κ B и *sFlt-1* в комплексном диагностическом мониторинге беременных для выделения групп риска по развитию самопроизвольного выкидыша при обострении ЦМВ инфекции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Прогностическая модель самопроизвольного выкидыша, с включением наиболее значимых показателей $TNF-\alpha$, $NF-\kappa B$ и $sFlt-1$, может быть использована в практическом здравоохранении с целью прогнозирования неблагоприятных исходов беременности.

Беременным женщинам в первом триместре рекомендовано обследование на ЦМВ инфекцию с целью выделения групп высокого риска самопроизвольного выкидыша.

Могут быть рекомендованы для внедрения в профильные медицинские учреждения способы прогнозирования угрозы прерывания беременности (патент РФ №2751965), способ прогнозирования угрозы выкидыша при реактивации латентной цитомегаловирусной инфекции путем определения в сыворотке крови эстрадиола и рецептора эстрогена альфа (патент РФ №2762485) и оценки нарушения инвазии трофобласта при ЦМВ инфекции (патент РФ №2782111).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- ВПГ – вирус простого герпеса
- ИМТ – индекс массы тела
- ИФА – иммуноферментный анализ
- МКБ – международная классификация болезней
- ПЦР – полимеразная цепная реакция
- ЦМВ – цитомегаловирус
- ХГЧ – хорионический гонадотропин человека
- ПрДГ – прогестерондегидрогеназа
- ЭДГ – эстрадиолдегидрогеназа
- CSF – колония стимулирующий фактор1
- EGF – эпидермальный фактор роста
- FGF β – фактор роста фибробластов бета
- sFlt-1 – растворимая fms-подобная тирозиназа
- GM-CSF – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор
- ICAM – молекулы межклеточной адгезии
- IFN γ – интерферон гамма
- IGF1 – инсулиноподобный фактор роста 1
- IGF-BP1 – белок 1, связывающий инсулиноподобный фактор роста
- IL – интерлейкин
- KISS1 – кисспептин
- LIF – лейкемия-ингибирующий фактор
- M-CSF – рекомбинантный белок человека
- MMPs – матриксные металлопротеиназы
- NF- κ B – ядерный транскрипционный фактор каппа В
- PDGF – фактор роста тромбоцитов
- PECAM-1 – тромбоцитарно-эндотелиальные молекулы адгезии
- PIGF – плацентарный фактор роста
- PI3K – фосфатидилинозитол-3-киназа

PR – рецептор прогестерона

TGF β – трансформирующего фактора роста бета

TIMP-1 – тканевой ингибитор металлопротеиназы 1

TNF- α – фактор некроза опухолей альфа

VCAM – молекулы сосудистой адгезии

VEGF – сосудистый эндотелиальный фактор роста

VEGFR – рецептор васкулоэндотелиального фактора

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абу-абдаллах, М. Рецептивность эндометрия. Маркеры имплантации / М. Абу-абдаллах, Н.В. Артымук, М.Н. Сурина // *Фундаментальная и клиническая медицина*. – 2018. – Т.3, №3. – С. 71–73.
2. Аксенова, А.С. Предикторы развития преэклампсии у беременных с гипертензивным синдромом / А.С. Аксенова, Н.А. Козиолова, М.М. Падруль // *Артериальная гипертензия*. – 2016. – Т. 22, №4. – С. 349–363.
3. Александрович, Н. В. Клетки стромы третичных ворсин плаценты человека на ранних сроках беременности / Н.В. Александрович // *Морфология*. – 2018. – Т. 153, № 3. – С. 14-14а.
4. Ангиогенез (литературный обзор) / И.С. Васильев, С.А. Васильев, И.А. Абушкин [и др.] // *Человек. Спорт. Медицина*. – 2017. – Т. 17, №1. – С. 36–45.
5. Андриевская, И.А. Свободнорадикальное окисление и оксигенация гемоглобина при обострении цитомегаловирусной инфекции во втором триместре беременности / И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина, О.Л. Кутепова // *Acta biomedica scientifica*. – 2018. – Т.3, №4. – С. 9–14.
6. Асранкулова, Д.Б. Беременность и острая цитомегаловирусная инфекция / Д.Б. Асранкулова // *Re-Health Journal*. – 2020. – №. 2-2(6). – С. 1–4.
7. Ассоциативная связь инфекционно-воспалительных заболеваний при беременности и тяжелой преэклампсии / Т.Е. Белокриницкая, Н.И. Фролова, Л.И. Анохова [и др.] // *Acta biomedica scientifica*. – 2018. – Т.3, №3. – С. 9–13.
8. Апоптоз в плаценте при преэклампсии / П.А. Ховхаева, А.М. Красный, Н.В. Тютюнник [и др.] // *Медицинский совет*. – 2016. – №2. – С. 102–103.
9. Апоптоз: роль апоптотических процессов при беременности / И.В. Курлович, М.В. Белуга, Е.Г. Зубовская [и др.] // *Медицинские новости*. – 2019. – №4(295). – С. 4–9.

10. Архитектоника венозного русла плаценты у женщин, перенесших обострение хронической цитомегаловирусной инфекции на первом триместре беременности / И.Н. Гориков, Н.Н. Дорофиенко, О.Л. Кутепова, К.К. Петрова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 67. – С. 55–59.
11. Архитектоника вен плодной части плаценты при цитомегаловирусной инфекции во II триместре беременности / И.Н. Гориков, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина, И.В. Довжикова // Архив патологии. – 2019. – Т. 81, №4. – С. 43–47.
12. Барковский, Д.Е. Изменение Т-хелпер ассоциированных цитокинов при угрозе невынашивания беременности / Д.Е. Барковский // Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, №3. – С. 373–376.
13. Беляева, Н.Р. Цитомегаловирусная инфекция и репродуктивное здоровье женщин / Н.Р. Беляева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2016. – №4. – С. 24–33.
14. «Беременитет»: иммунологические аспекты оплодотворения и раннего развития человека – по канонам мечниковского физиологического воспаления / А.В. Балахонов, С.А. Заморина, М.Б. Раев [и др.] // Клиническая патофизиология. – 2016. – №3. – С. 38–59.
15. Борисова, О.В. Долгосрочные неврологические последствия цитомегаловирусной инфекции, перенесенной в очаг поражения неонатальным периодом (обзор литературы) / О.В. Борисова, В.А. Вяльцева, А.А. Франк // Практическая медицина. – 2022. – Т.20, № 7. – С.34–40.
16. Венцковская, И.Б. Новые молекулярные механизмы плацентарной дисфункции / И.Б. Венцковская, В.И. Купчик // Репродуктивное здоровье. Восточная Европа. – 2021. – Т. 6, № 1. – С. 730–739.
17. Веропотвелян, П.Н. Цитокины в системе мать-плацента-плод при физиологическом и патологическом течении беременности / П.Н. Веропотвелян, Н.П. Веропотвелян, И.В. Гужевская // Здоровье женщины. – 2013. – №1 (77). – С. 126–129.

18. Взаимодействие НК-клеток, трофобласта и эндотелиальных клеток при ангиогенезе / К.Л. Белякова, О.И. Степанова, А.Р. Шевелева [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2019. – № 1. – С. 54–62.
19. Взаимосвязь окислительного стресса, дисбаланса жирных кислот в реализации апоптоза в плаценте при цитомегаловирусной инфекции в первом триместре / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова [и др.] // Acta biomedical scientifica. – 2019. – Т. 4, №2. – С. 16–22.
20. Влияние процессов перекисного окисления липидов на кислородтранспортные свойства гемоглобина в эритроцитах периферической крови беременных с цитомегаловирусной инфекцией / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская, О.Л. Кутепова, А.Г. Мироненко // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2014. – № 2(96). – С. 24–28.
21. Влияние фактора роста эндотелия сосудов на ангиогенез и нейrogenез / А.С. Рудько, М.Х. Эфендиева, М.В. Будзинская, М.А. Карпилова // Вестник офтальмологии. – 2017. – Т. 133, №3. – С. 75–81.
22. Влияние цитомегаловирусной инфекции на активность нуклеозиддифосфатазы в плаценте / И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2021. – Вып. 79. – С. 65–71.
23. Влияние цитомегаловирусной инфекции на преобразование прогестерона в метаболит 5 α -прегнан-3,20-дион в плаценте ранних сроков беременности / И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, К.К. Петрова, М.Т. Луценко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 67. – С. 50–57.
24. Возможно ли предупредить последствия врожденной цитомегаловирусной инфекции? (взгляд акушера-гинеколога, инфекциониста и неонатолога) / А.Л. Заплатников, В.И. Шахгильдян, Н.М. Подзолкова [и др.] // Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение. – 2018. – №10. – С. 45–50.

25. Возможности прогнозирования патологии при плацентарной недостаточности с первого триместра беременности / С.А. Рябова, Ю.В. Тезиков, И.С. Липатова [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №5. – С. 44.

26. Волкова, Е.В. Роль сосудистых факторов роста в патогенезе плацентарной недостаточности / Е.В. Волкова, Ю.В. Копылова // Акушерство, гинекология и репродукция. – 2013. – №2. – С. 29–33.

27. Воронцова, З.А. Морфофункциональные особенности плаценты при акушерской соматической патологии / З.А. Воронцова, О.Д. Жилиева, А.С. Гурев // Вестник новых медицинских технологий. – 2018. – Т. 25, №3. – С. 34–43.

28. 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.

29. Газиева, И.А. Роль нарушений гормональной и сосудистой регуляции в генезе ранних репродуктивных потерь / И.А. Газиева, Г.Н. Чистякова, И.И. Ремизова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т. 58, №4. – С. 22–33.

30. Горбунова, О.Л. Роль киспептина в регуляции репродуктивной иммунной функций / О.Л. Горбунова, С.В. Ширшев // Биохимия. – 2020. – Т. 85, № 8. – С. 987–1003.

31. Гориков, И.Н. Влияние обострения цитомегаловирусной инфекции у женщин в третьем триместре беременности на маточно-плацентарный, плодово-плацентарный и плодовый кровоток / И.Н. Гориков, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. – Вып. 75. – С. 68–74.

32. Гориков, И.Н. Системный воспалительный ответ при обострении цитомегаловирусной инфекции у женщин во втором триместре беременности /

И.Н. Гориков, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. – Вып. 76. – С. 62–67.

33. Гориков, И.Н. Изменение иммуноморфологических показателей плаценты у женщин с обострением цитомегаловирусной инфекцией во втором триместре беременности, осложненной хронической плацентарной недостаточностью / И.Н. Гориков, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2021 – Вып. 79. – С. 80–85.

34. Григоркевич, О.С. Матриксные металлопротеиназы и их ингибиторы / О.С. Григоркевич, Г.В. Мокров, Л.Ю. Косова // Фармакинетика и фармадинамика. – 2019. – №2. – С. 3–16.

35. Гришко, Т.В. Морфогенез цитотрофобластической инвазии в течение осложненной преэклампсией беременности / Т.В. Гришко, Ю.А. Ермола // Научно-методический электронный журнал «Концепт». – 2017. – Т. 42. – С. 133–136.

36. Давыдов, А.И. Патогенез патологии прикрепления плаценты: роль факторов роста и других иммуногистохимических маркеров / А.И. Давыдов, И.Б. Агрба, И.Н. Волощук // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2012. – Т. 14, №6. – С. 48–56.

37. Джаббарова, Ю.К. Значение цитокинов в патогенезе преэклампсии у беременных с железодефицитной анемией / Ю.К. Джаббарова, Ш.Т. Имойлова, Д.А. Мусаходжаева // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68, № 5. – С. 37–44.

38. Диагностика и лечение цитомегаловирусной инфекции у беременных и новорожденных / Т.А. Хабелова, Д.А. Валешин, О.И. Кутуева [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2020. – Т. 10, №1. – С. 86–92.

39. Диагностическая ценность сосудистого эндотелиального фактора роста при задержке роста плода / И.Ф. Фаткуллин, Н.Р. Ахмадав, Е.В. Ульянина [и др.] // Докто.Ру. – 2020. – Т.19, № 8. – С. 44–48.

40. Динамика сывороточной и плацентарной продукции цитокинов, окситоцина и релаксина женщин с гестационным сахарным диабетом / И. И. Крукиер, В. В. Авруцкая, М. А. Левкович [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2020. – Т. 75, № 4. – С. 340–346.

41. Довжикова, И.В. Рецепторы прогестерона: репродуктивная роль / И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, К.К. Петрова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 70. – С. 104–111.

42. Долгушина, Н.В. Иммунологические аспекты невынашивания беременности при герпесвирусных инфекциях / Н.В. Долгушина // Аллергология и иммунология. – 2007. – Т. 8, №1. – С. 316.

43. Дорофиенко, Н.Н. Роль медиаторов воспаления в развитии эндотелиальной дисфункции сосудов пуповины при латентной цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре беременности / Н.Н. Дорофиенко, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина // Acta biomedica scientifica. – 2021. – Т.6, № 2. – С. 92–97.

44. Дубоссарская, З.М. Клеточно-молекулярные диалоги в эндометрии и плаценте при физиологической и патологической беременности (обзор литературы) / З.М. Дубоссарская // Репродуктивная эндокринология. – 2012. – №3. – С. 34–38.

45. Дубоссарская, З.М. Предикторы преждевременных родов / З.М. Дубоссарская, Ю.А. Дубоссарская, В.Т. Нагорнюк // Alma mater (Вестник высшей школы). – 2018. – Т.1, №19. – С.5.

46. Дустова, Н.К. Состояние цитокинового статуса и сосудистого эндотелиального фактора роста у беременных с хронической венозной недостаточностью / Н.К. Дустова, Г.А. Ихтиярова, М.Ж. Аслонова // Новый день в медицине. – 2020. – №1(19). – С. 197–200.

47. Дюсембинова, Ш.Д. Сопоставление пренатальных функциональных маркеров задержки роста плода и развитие плода с экспрессией сосудистых факторов роста в плаценте / Ш.Д. Дюсембинова, Р.Г. Павлов, К.А. Кликунова

// Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2021. – Т. 8, № 3. – С. 139–147.

48. Ершова, Е.С. Роль эстрогенов в организме / Е.С. Ершова, Е.М. Богданова // Интегративные тенденции в медицине и образовании. – 2021. – Т. 4. – С. 27–30.

49. Жумалина, А.К. Особенности иммунной адаптации новорожденных от матерей, инфицированных цитомегаловирусной инфекцией / А.К. Жумалина // Медицинский журнал западного Казахстана. – 2015. – №2(46). – С. 58–61.

50. Жущыгули, А. Роль активин-подобной рецепторной киназы-5 в имплантации бластоцисты и развитии плаценты / А. Жущыгули, Н.Н. Рухляди, И. Айли // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. – 2020. – №8. – С. 163–167.

51. Ибгиева, К.Х. Развитие плаценты человека / К.Х. Ибгиева, М.А. Баташева // Материалы XLI Международной научно-практической конференции. Сборник «International scientific research». – Грозный, 2018. – С. 280–281.

52. Иванов, А.Н. Роль эндотелиальных клеток в ангиогенезе / А.Н. Иванов, Д.М. Пучиньян, И.А. Норкин // Успехи современной биологии. – 2016. – Т. 136, №5. – С. 491–506.

53. Ивахнишина, Н.М. Цитомегаловирусная инфекция у беременных женщин / Н.М. Ивахнишина, О.В. Островская // Дальневосточный медицинский журнал. – 2017. – №4 –С. 99–104.

54. Изучение динамики концентраций факторов ангиогенеза на протяжении физиологической беременности / Н.Ю. Яковлева, Е.Ю. Васильева, Е.С. Шелепова [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2016. – №8. – С. 49–53.

55. Илунина, Л.М. Врожденная цитомегаловирусная инфекция у детей / Л.М. Илунина, И.Л. Савченко, О.П. Перегудова // Прикладные информационные аспекты медицины. – 2017. –Т. 20, №3. – С. 56–59.

56. Ишутина, Н.А. Изменение показателей свободно-радикального статуса, антиоксидантной защиты и морфологические изменения эритроцитов периферической крови беременных первого триместра с цитомегаловирусной инфекцией / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 68. – С. 57–62.

57. Ишутина, Н.А. Циклооксигеназа 2 как маркер невынашивания беременности ранних сроков при цитомегаловирусной инфекции / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская, М.Н. Герман // Acta biomedical scientifica. – 2020. – Т.5, № 3. – С. 3–12.

58. Ишутина, Н.А. Малоновый диальдегид и фактор некроза опухолей α при цитомегаловирусной инфекции в период беременности / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская, Н.Н. Дорофиенко // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2015. – Вып. 55. – С. 78–81.

59. Ишутина, Н. А. Роль продуктов перекисного окисления липидов в развитии железодефицитной анемии при цитомегаловирусной инфекции у беременных первого триместра / Н.А. Ишутина, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2020. – № 76. – С. 68-73

60. Ишутина, Н.А. Роль холестерина и эстрадиола в развитии плацентарной недостаточности при цитомегаловирусной инфекции в третьем триместре гестации / Н.А. Ишутина, М.Т. Луценко, И.А. Андриевская // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – Вып. 64. – С. 54–57.

61. Казачков, Е.Л. Морфофункциональная характеристика ремоделирования слизистой оболочки матки при невынашивании беременности инфекционно-воспалительного генеза / Е.Л. Казачков, Е.Е. Воропаева, Э.А. Казачкова // Уральский медицинский журнал. – 2009. – Т. 4, №58. – С.41–44.

62. Казачков, Е.Л. Структурные особенности плацентарного ангиогенеза у женщин с сердечно-сосудистой патологией: гистологическая и иммуногистохимическая характеристика плаценты / Е.Л. Казачков, Э.А.

Казачкова, И.В. Воробьев, Н.В. Паширова // Уральский медицинский журнал. – 2016. – Т. 2, №135. – С.101–106.

63. Калиматова, Д.М. Маркеры эндотелиальной дисфункции у беременных, перенесших грипп во время беременности: динамика и прогностическая значимость / Д.М. Калиматова, Е.П. Шатунова // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2014. – №1. – С. 42.

64. Кладова, О.В. Формирование глубокой младенческой гемангиомы на фоне герпесвирусной инфекции / О.В. Кладова, А.Е. Анджель, Ю.В. Компаниец // Globus. – 2022. – Т. 8, № 4(69). – С. 14–24.

65. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели / Э.К. Айламазян, О.И. Степанова, С.А. Сельков, Д.И. Соколов // Вестник РАМН. – 2013. – №11. – С. 12–21.

66. Коваленко, Е.И. Адаптивные свойства натуральных киллеров – лимфоцитов врожденного иммунитета / Е.И. Коваленко, М.А. Стрельцова // Биоорганическая химия. – 2016. – Т.42, №6. – С.649–667.

67. Козырева, А.Р. Влияние депривации VEGF на образование сосудов эндотелием в присутствии макрофагов / А.Р. Козырева, Т.Ю. Львова, К.Л. Маркова // Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22, № 2. – С. 231–248.

68. Колобов, А.В. Морфогенез плаценты человека и ее морфофункциональное состояние при патологии беременности / А.В. Колобов // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2015. – №2. – С. 5–18.

69. Коновалова, М.В. Влияние функциональной активности трансформирующего ростового фактора и его рецепторов на состояние женской репродуктивной системы / М.В. Коновалова, Т.И. Прохорович, В.В. Васильев // Global Reproduction. – 2021. – S2. – С. 44–49.

70. Короткова, Н.А. Цитомегаловирусная инфекция и беременность / Н.А. Короткова // Opinion Leader. – 2018. – № S1. – С. 74–79.

71. Королева, Л.И. Апоптоз и ангиогенез в плаценте при задержке роста плода с герпесвирусной инфекцией / Л. И. Королева, Ф. П. Романюк, С. А. Сельков // Тезисы XV Общероссийского научно-практического семинара «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» и VIII Общероссийской конференции «Контраверсии неонатальной медицины и педиатрии», Сочи, 04–07 сентября 2021 года. – Сочи: Редакция журнала StatusPraesens, 2021. – С. 38–39.

72. Кочкина, С.С. Способ лечения генерализованной цитомегаловирусной инфекции у детей грудного возраста / С.С. Кочкина, Е.П. Ситникова // Детские инфекции. – 2018. – Т. 17, №1. – С. 41–45.

73. Кравченко, Л.В. Прогноз тяжелой формы цитомегаловирусной инфекции у новорожденных детей / Л.В. Кравченко // Инфекция и иммунитет. – 2021. – Т. 11, №4. – С. 745–751.

74. Крошкина, Н.В. Анализ цитокинов периферической крови у женщин с привычным невынашиванием беременности / Н.В. Крошкина, А.В. Куст, Е.В. Козелкова // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т.22, №2-1. – С. 344–346.

75. Кузьмичева, Д.Е. Морфологические особенности цитомегаловирусной инфекции / Д.Е. Кузьмичев, Р.В. Скребов, И.М. Вильцев // Здравоохранение Югры: опыт и инновации. – 2020. – №1 (22). – С. 57–59.

76. Кытикова, О.Ю. Патофизиологические механизмы повреждающего действия цитомегаловирусной инфекции при беременности / О.Ю. Кытикова, Т.П. Новгородцева, К.К. Петрова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – Вып. 66. – С. 98–107.

77. Лептин, интерлейкин-6, растворимые рецепторы 1-го типа сосудистого эндотелиального фактора роста и LOX-1 при беременности, осложненной преэклампсией, угрозой преждевременных родов, ожирением / В.И. Щербаков, И.М. Поздняков, А.В. Ширинская [и др.] // Проблемы репродукции. – 2018. – Т. 24, №3. – С. 88–95.

78. Лигидова, А.Т. Роль нарушений продукции цитокинов в патогенезе угрозы прерывания беременности в первом триместре / А.Т. Лигидова, Н.А. Друккер, З. Крымшокалова // Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Серия: естественные науки. – 2011. – Т. 4, №164. – С. 112–115.
79. Лилли, Р. Патогистологическая техника практическая гистохимия: пер. с англ. / Р. Лилли. – М.: Мир, 1969. – 646 с.
80. Логвинова, О.Л. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: рекомендации ICCRG и аспекты менеджмента, находящиеся на этапе клинических испытаний / О.Л. Логвинова, Е.П. Помазуновская, О.С. Сокур // Здоровье ребенка. – 2018. – Т.13, №2. – С. 187–193.
81. Локальный цитокиновый профиль у женщин с преждевременными родами, обусловленными преждевременным разрывом плодных оболочек / Н.Б. Кузнецова, И.О. Буштырева, М.П. Дмитриева [и др.] // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2020. – Т. 15, №2. С. – 80–84.
82. Луценко, М.Т. Роль эстрадиола в поддержании фетоплацентарной системы / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2016. – Вып. 61. – С. 75–79.
83. Луценко, М.Т. Морфологические исследования фетоплацентарного барьера ворсинок плаценты при герпесной и цитомегаловирусной инфекции / М.Т. Луценко, И.А. Андриевская // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – №3. – С. 137–140.
84. Луценко, М.Т. Холестериновый обмен в плаценте при беременности, осложненной герпесвирусной инфекцией / М.Т. Луценко, И.В. Довжикова // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2011. – №4. – С. 56–57.
85. 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. – Вып. 50. – С. 68–73.

86. Лысова, А.Н. Уровень киспептина у женщин с прерыванием беременности в ранние сроки / А.Н. Лысова // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». – 2015. – №4. – С. 65–67.

87. Магомедова, Ш.М. Современные аспекты этиологии и патогенеза плацентарной недостаточности и преэклампсии (обзор) / Ш.М. Магомедова // Вестник Дагестанской государственной медицинской академии. – 2013. – 34(9). – С. 60–64.

88. Максименя, Г.Г. Особенности течения, профилактики и лечения герпетических инфекций / Г.Г. Макссименя // Медицинский журнал. – 2021. – №4(78). – С. 17–24.

89. Мараховская, Т.А. Ассоциация VEGFA-2578C>A с невынашиванием беременности в первом триместре / Т.А. Мараховская, Е.В. Машкина // Генетика – фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции. Материалы научно-практической конференции с международным участием. Ростов-на-Дону, Издательство Южного Федерального университета. – 2017. – С. 138–139.

90. Мараховская, Т.А. Матриксные металлопротеиназы: роль в патологии / Т.А. Мараховская // Валеология. – 2017. – №3. – С. 24–37.

91. Мараховская, Т.А. Роль факторов роста в патологии беременности / Т.А. Мараховская // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия. – 2018. – Т. 40(70), №2. – С. 91–111.

92. Маркеры внутриутробных инфекций у беременных женщин и новорожденных / Т.Г. Дмитриева, С.Н. Алексеева, Е.И. Белолобская [и др.] // Вестник Северо-восточного федерального университета имени М.К. Аммосова. Серия «Медицинские науки». – 2020. – №4(21). – С. 29–34.

93. Марченко, Л.А. Проблемы невынашивания беременности: многогранная роль прогестерона / Л.А. Марченко, Л.М. Ильина // Эффективная фармакотерапия. – 2011. – №2. – С. 28–32.
94. Медведева, В.В. Врожденная цитомегаловирусная инфекция у детей, клинические формы и подходы к терапии / В.В. Медведева // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2020. – Т. 24, №1. – С. 70–73.
95. Мельников, А.П. Формирование плаценты человека и преэклампсия / А.П. Мельников, В.Д. Казанцева // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2021. – Т.21, №5. – С. 22–29.
96. Мельникова, С.Е. Цитомегаловирусная инфекция и беременность / С. Е. Мельникова, Е.Б. Троиц // Детская медицина Северо-Запада. – 2012. – Т. 3, №4. – С. 63–67.
97. Механизмы и факторы ангиогенеза / Е.Н. Шамитова, И.С. Сымулова, М.М. Леванова, Э.А. Кашеварова // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – №9. – С. 30–34.
98. 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.
99. 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.
100. Милованов, А.П. Цитотрофобластическая инвазия – важнейший механизм плацентации и прогрессии беременности / А.П. Милованов // Архив патологии. – 2019. – Т. 81, №4. – С. 5–10.
101. Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей беременности и осложненной беременности / Т.Н. Погорелова, В.А. Линде, И.И. Крукиер [и др.]. – Ростов-на-Дону: изд-во «Гиппократ», 2012. – 304 с.

102. Молекулярные механизмы циклической трансформации эндометрия / Г.Х. Талибова, Т.Т. Траль, Э.К. Айламазян, И.Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. – 2019. – Т. 68, №1. – С. 5–12.

103. Морфология изменений плаценты при внутриутробных инфекциях / Е.М. Пшукова, А.С. Вологиров, А.А. Пшукова, К.Р. Пшуков // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2022. – № 1. – С. 3–6.

104. Морфологическое строение вилочковой железы у новорожденных с врожденной цитомегаловирусной инфекцией / И.А. Андриевская, И.Н. Гориков, Л.М. Сомова [и др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2018. – Вып. 69. – С. 64–68.

105. Морфологическое строение плаценты при ее приращении / Х.М. Омарова, Р.Г. Омарова, Т.Х. М. Хашаева [и др.] // Проблемы репродукции. – 2022. – Т. 28, № 1. – С. 142–148

106. Мурашко, А.В. Роль факторов роста в развитии плацентарной недостаточности и преэклампсии / А.В. Мурашко, Ш.М. Магомедова // Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. – 2015. – Т.2, №3. – С. 25–28.

107. Нарушение гормональной функции плаценты у женщин при обострении цитомегаловирусной инфекции / З.Х. Рафиева, М.С. Талабов, Г.А. Абдуллоходжаева, А.Р. Ахмедова // Наука и инновация. – 2016. – Т. 2, №10. – С. 21–29.

108. 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.

109. Нейроиммунноэндокринные механизмы имплантации бластоцисты и развитие плаценты / М.А. Пальцев, Э.К. Айламазян, И.М. Кветной, В.О. Полякова // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2011. – Т. 97, №10. – С. 1101–1112.

110. Иммунологические аспекты невынашивания беременности / Х. Хаддад, А. А. Оразмурадов, А. М. Лопатин [и др.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – Т. 8, № S3(29). – С. 15–18.

111. Никонов, А.П. Цитомегаловирусная инфекция и беременность / А.П. Никонов, О.Р. Асцурова, Н.С. Науменко, А.В. Белова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. – Т. 16, №6. – С. 14–20.

112. Овчарова, В.С. Вовлеченность гена матриксной металлопротеиназы-3 в развитие преэклампсии / В.С. Овчарова // Фундаментальные исследования. – 2013. – №12. – С. 522–524.

113. Орлов, А.В. Роль факторов роста в патогенезе неразвивающейся беременности / А.В. Орлов, И.И. Крукиер, Л.В. Каушанская // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2005. – №3. – С. 4–6.

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

115. Особенности функционирования синцитиотрофобласта и системы сосудисто-эндотелиальных факторов роста при задержке роста плода в первом и втором триместрах беременности / Е.И. Кудинова, Т.Л. Боташева, А.В. Орлов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №4; [URL:hppt://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21108](http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=21108) (дата обращения: 29.03.2019).

116. Патоморфологические изменения и экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста в плаценте при наследственной тромбофилии / А.П. Надеев, А.Н. Дробинская, В.А. Жукова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2014. – Т. 34, №2. – С. 69–71.

117. Парпиева, Д.А. Особенности клинического течения беременности у женщин с цитомегаловирусной инфекцией / Д.А. Парпиева // Новый день в медицине. – 2020. – №2(30). – С. 492–494.

118. Пахомова, Ж.Е. Основные звенья механизма патогенеза преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты / Ж.Е.

Пахомова, М.С. Комилова // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2015. – Т.14, №6. – С. 46–53.

119. Пахомова, Ж.Е. Оценка дисфункции эндотелия фетоплацентарного комплекса при преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты / Ж.Е. Пахомова, М.С. Комилова // Вестник современной клинической медицины. – 2016. – Т. 9, 31. – С. 51–57.

120. Перинатальная цитомегаловирусная инфекция / Г.К. Баркун, И.М. Лысенко, Л.Н. Журавлева [и др.] // Охрана материнства и детства. – 2018. – №2(33). – С. 58–63.

121. Петров, Ю.А. Беременность, роды, состояние плода и новорожденного у матерей с цитомегаловирусной инфекцией (обзор литературы) / Ю.А. Петров, А.Е. Блесманович, А.Г. Алехина // Здоровье и образование в XXI веке. – 2018. – Т. 20, №5. – С. 20–24.

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

123. Петрова, К.К. Оценка относительного риска внутриутробной инфекции плода при цитомегаловирусной инфекции на ранних сроках беременности / К.К. Петрова // Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal). – 2019. – Т. 4, № 3. – С. 45–51.

124. Плацентарный фактор роста как маркер угрозы ранних самопроизвольных выкидышей при цитомегаловирусной инфекции / И.А. Андриевская, М.Т. Луценко, К.К. Петрова [др.] // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2017. – Вып. 64. – С. 55–59.

125. Поздняков, И.М. Уровень лептина, про- и противовоспалительных цитокинов при беременности, осложненной различными формами артериальной гипертензии / И.М. Поздняков, А.В. Ширинская // Цитокины и воспаление. – 2015. – Т. 14, №1. – С. 75–79.

126. Проблемы имплантации и риски осложненной беременности после вспомогательных репродуктивных технологий / Е.Г. Пицхелаури, А.Н.

Стрижаков, Е.В. Тимохина [и др.] // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2017. – Т.16, №2. – С. 34–39.

127. Прогестерон и его 5 β метаболит – маркеры угрожающего течения беременности при цитомегаловирусной инфекции / И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, К.К. Петрова, Луценко М.Т. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2018. – №4. – С. 20–23.

128. Прогностическая значимость sFlt-1 и PlGF в диагностике глубокой инвазии плаценты / А.О. Годзоева, И.Е. Зазерская, Е.Ю. Васильева [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2022. – Т. 71, № 2. – С. 39–48.

129. Рахманкулова, З.Ж. Характеристика частоты встречаемости клинических признаков поражения органов дыхания у новорожденных детей с цитомегаловирусной инфекцией / З.Ж. Рахманкулова, М.Н. Абдукодилова, Л.И. Сулейманова // Детская медицина Северо-Запада. – 2020. – Т.8, №1. – С. 410.

130. Роль апоптоза и иммуно-эндокринные взаимоотношения при физиологической беременности (обзор литературы) / М.Я. Камилова, С.У. Арабова, Р.Ф. Акбиева, Ф. Довудова // Мать и дитя. – 2020. – № 1. – С. 21–26.

131. Роль децидуализации эндометрия в наступлении и развитии беременности / И.М. Богданова, Т.В. Фокина, И.И. Степанова [и др.] // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2018. – №4(28). – С. 50–60.

132. Роль иммунной системы в формировании задержки внутриутробного развития плода / А.В. Кудряшова, Н.Ю. Сотникова, Л.В. Посисеева [и др.]. – Иваново. – Изд-во: Иваново, 2009. – 239 с.

133. Роль нарушений синтеза прогестерона и его производных в развитии неврологических расстройств у детей при цитомегаловирусной инфекции во время беременности / И.В. Довжикова, И.А. Андриевская, Н.А. Ишутина [др.] // Acta biomedica scientifica. – 2018. – Vol. 3, №4. – P. 78–84.

134. Роль продукции фактора роста в прогнозировании поражения ЦНС у детей, рожденных от матерей с плацентарной недостаточностью / И.И.

Крукиер, О.А. Бутова, И.И. Куценко [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – № 6. – С. 55.

135. Роль продукции цитокинов, органических кислот в сыворотке крови и амниотической жидкости в развитии спонтанных преждевременных родов / И.И. Крукиер, М.А. Левкович, В.В. Авруцкая [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2021. – №9. – С. 60–65.

136. Роль соотношения растворимых FMS-подобной тирозиназы-1 и плацентарного фактора роста в диагностике преэклампсии при физиологической беременности и беременности после вспомогательных репродуктивных технологий / Т.Ю. Иванец, Н.Е. Кан, В.Г. Тютюнник [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 3. – С. 37–42.

137. Роль факторов васкуло- и ангиогенеза в развитии селективной задержки роста плода при монохориальной многоплодной беременности / К. А. Гладкова, В. А. Сакало, В. В. Вторушина [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2023. – № 1. – С. 48-54.

138. Роль цитокинов в поддержании динамики межклеточных взаимодействий НК-клеток и клеток трофобласта / Д.О. Баженов, В.А. Михайлова, К.Л. Фураева [и др.] // Клеточные технологии в биологии и медицине. – 2021. – № 4. – С. 1–10.

139. Роль цитомегаловирусной инфекции в поражении ЖКТ у новорожденных и детей раннего возраста / Н.П. Вайнштейн, Е.А. Британишская, Ю.Ю. Митина [и др.] // Неонатология: Новости. Мнения. Обучение. – 2018. – Т.6, № 4. – С. 70–75.

140. 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.

141. Садыкова, Г.К. Роль матриксных металлопротеиназ в плацентарном ангиогенезе / Г.К. Садыкова, А.А. Олина // Пермский медицинский журнал. – 2021. – Т.38, №5. – С. 78–92.

142. Сафонова, Т.В. Клинические аспекты цитомегаловирусной инфекции при беременности / Т.В. Сафонова, Д.М. Семенов // Охрана материнства и детства. – 2020. – №1(35). – С. 17–24.

143. Свободная эмбриональная ДНК в плазме крови как предиктор самопроизвольных потерь беременности у женщин с привычным выкидышем / Н.К. Тетруашвили, Н.И. Федорова, Л.З. Файзуллин, В.Н. Карнаухов // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 6. – С. 4–8.

144. Связь матриксных металлопротеиназ с ранними эмбриональными потерями у женщин с привычным невынашиванием беременности / Т.Н. Гриневич, М.А. Аврукевич, А.А. Бернадцкая, А.А. Гринь // В сборнике: Актуальные проблемы медицины: материалы итоговой научно-популярной конференции. Гродно, 2021. – С. 209–211.

145. Сидельникова, В.М. Актуальные проблемы невынашивания. Руководство для практических врачей / В.М. Сидельникова, Г.Т. Сухих. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 534 с.

146. Синдром задержки роста плода. Патогенез. Диагностика. Лечение. Акушерская тактика / А.Н. Стрижаков, Т.В. Игнатко, Е.В. Тихомирова, Л.Д. Белоцерковцева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 120 с.

147. Системные и локальные инфекции при беременности как эпигенетический фактор развития тяжелой преэклампсии / Т.Е. Белокриницкая, Н.И. Фролова, Л.И. Анохова [др.] // Доктор.ру. – 2018. – №6(150). – С. 6–10.

148. Современный взгляд на проблему врожденной цитомегаловирусной инфекции / Н.В. Холоднова, Л.Н. Мазанкова, А.А. Вольтер, И.Е. Турина // Детские инфекции. – 2019. – Т. 18, № 3(68). – С. 46–52.

149. Современные представления о влиянии активных форм цитомегаловирусной инфекции на проблему вынашивания и рождения здоровых детей у женщин с экстракорпоральным оплодотворением (обзор литературы) / Ю.С. Чехова, Э.А. Кашуба, Т.Г. Дроздова и [др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2018. – Т.19, №1(93). – С. 196–203.

150. 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. 87–89.

151. Содержание матриксной металлопротеиназы-12 при беременности, осложненной преэклампсией / Н.Ю. Яковлева, Е.Ю. Васильева, Л.В. Кузнецов [и др.] // Журнал акушерства и женских болезней. – 2017. – Т. 66, №6. – С. 66–72.

152. Соколов, Д.И. Иммунологические механизмы контроля апоптоза при развитии плаценты / В.И. Соколов // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, №2-3. – С. 125–138.

153. Соколов, Д.И. Влияние факторов, секретируемых плацентой, на формирование сосудоподобных структур эндотелиальными клетками в присутствии клеток трофобласта / Д.И. Соколов, К.Л. Белякова, В.А. Михайлова // Медицинская иммунология. – 2017. – Т. 19, №3. – С. 285–292.

154. Состояние системы антиоксидантной защиты и цитокиновый профиль крови в различные сроки физиологической беременности / И.И. Павлюченко, О.С. Безрукова, В.Я. Забенко, Е.С. Есауленко // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2020. – Т. 10, № 2. – С. 40–47.

155. Сотникова, Н.Ю. Иммунные механизмы имплантации / Н.Ю. Сотникова, Ю.С. Анциферова // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8(17), №2. – С. 134–142.

156. Спектр противовоспалительных цитокинов у беременных с плацентарной недостаточностью и задержкой роста плода / В.И. Щербаков, Т.И. Рябиченко, Г.А. Скосырева, А.Н. Трунов // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т.19, №3. – С. 11–16.

157. Способ прогнозирования невынашивания беременности ранних сроков при цитомегаловирусной инфекции / И.А. Андриевская, И.В. Довжикова, Т.А. Баталова [и др.] // В сборнике: Материалы XII

международной научной конференции «Системный анализ в медицине» (САМ2018). Под общ. Ред. В.П. Колосова. – 2018. – С. 144–144.

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

159. Стрижаков, А.Н. Физиология и патология эндокринной системы плода / А.Н. Стрижаков, И.В. Игнатенко. – М.: ГЭОЕАР-Медиа, 2013. – 144 с.

160. Течение беременности и исходы родов в зависимости от особенностей системы ангиогенных факторов и цитокинов у женщин с альтернативного полого плода / Т.Л. Боташева, В.А. Линде, О.Д. Саргсян [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – С. 1057.

161. Тихаева, К.Ю. Роль металлопротеиназ в обмене белков внеклеточного матрикса эндометрия в норме и при патологии / К.Ю. Тихаева, Л.Н. Рогова, Л.В. Ткаченко // Проблемы репродукции. – 2020. – Т. 26, №4. – С. 22–29.

162. Тищенко, А.Н. Аспекты локальной иммунорегуляции у женщин после замершей беременности в анамнезе / А.Н. Тищенко, О.В. Юркова, К.З. Шарашидзе // Украинский журнал медицины, биологии и спорта. – 2017. – №1(3). – С. 127-130.

163. Топильская, Н.И. Роль иммунной системы в патогенезе невынашивания беременности. Предпосылки для фармакологической коррекции / Н.И. Топильская // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 19–26.

164. Траль, Т.Г. Морфологические и иммуногистохимические особенности неразвивающейся беременности первого триместра / Т.Г. Траль, Г.Х. Толибова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2014. – Т.58, №.4. – С. 60–68.

165. Украинец, Р.В. Ремоделирование сосудистого русла эндометрия у женщин репродуктивного возраста в норме и при патологии (обзор

литературы) / Р.В. Украинец, Ю.С. Корнева // Проблемы репродукции. – 2018. – Т. 24, №3. – С. 27–32.

166. Ульянина, Е.В. Роль сосудистого эндотелиального фактора в прогнозе сосудистых нарушений у беременных с синдромом задержки развития плода / Е.В. Ульянина, И.Ф. Фаткуллин // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, №2. – С. 220–223.

167. Ульянина, Е.В. Диагностическая ценность сосудистого эндотелиального фактора роста при синдроме задержки плода / Е.В. Ульянина, Н.Р. Ахмадеев // Практическая медицина. – 2018. – №6. – С. 10–15.

168. Ульянина, Е.В. Перинатальные исходы и уровень сосудистого эндотелиального фактора роста при задержке роста плода / Е.В. Ульянова, И.Ф. Фаткулина, Н.Р. Ахмадеев // Доктор.Ру. – 2018. – №10(154). – С. 18–21.

169. Фетоплацентарный ангиогенез при преэклампсии. Клинико-морфологические аспекты / Н.Ю. Сакварелидзе, С.Г. Цахилова, В.С. Мурадова [и др.] // Эффективная фармакотерапия. – 2020. – Т. 16, №8. – С. 6–11.

170. Фомина, М.П. Клинико-патогенетические варианты патологического ангиогенеза и гемодинамических нарушений плаценты при внутриутробной гипоксии / М.П. Фомина, Т.С. Дивакова, И.В. Самсонова // Здоровоохранение (Минск). – 2015. – №12. – С. 2–11.

171. Формы недостаточности развития плаценты при ранних самопроизвольных абортах: патоморфологические и функциональные критерии / Л.В. Посисеева, Л.П. Перетяцько, Р.А. Кузнецова [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2019. – Т. 19, 4. – С. 11–16.

172. Ходжаева, З.С. Особенности секреции про- и антиангиогенных факторов в I триместре беременности у женщин с привычным выкидышем в анамнезе / З.С. Ходжаева, Г.Т. Сухих, Е.В. Мусиенко // Проблемы репродукции. – 2011. – № 2. – С. 30–34.

173. Хорева, О.В. Развитие плаценты человека (обзор литературы) / О.В. Хорева, С.А. Ульяновская, Е.А. Хорева // Наука и современность. Сборник

статей студентов, молодых ученых и преподавателей. Международный центр инновационных исследований «ОМЕГА САЙНС». – Уфа, 2015. – С. 140–142.

174. Цечоева, Л.Ш. Инфицированный поздний выкидыш, ассоциированный с генетически детерминированным усиленным ответом иммунной системы у пациенток с рецидивирующими вирусными и бактериальными инфекциями / Л.Ш. Цечоева, Р.И. Глушаков, Н.И. Тапильская // Гинекология. – 2018. – №1. – С. 51–56.

175. Цитокиновый профиль у беременных с угрозой самопроизвольного выкидыша и его зависимость от уровня эндотоксемии / А.А. Безменко, Н.Д. Садовая, М.Е. Мешкова [и др.] // Известия Российской Военно-медицинской академии. – 2021. – Т. 40, № S1-2– С. 11–19.

176. Цитомегаловирусная инфекция с перинатальным поражением центральной нервной системы / И.А. Турсунов, О. Режаббоев, Н.З. Рахманова [и др.] // Экономика и социум. – 2019. – №12(67). – С.1013–1017.

177. Цитомегаловирусная инфекция у беременных и новорожденных: эпидемиологический анализ, новые подходы к диагностике и лечению / В.И. Шахгильдян, Е.П. Александрова, Н.В. Козырина [и др.] // Акушерство и гинекология. Новости. Мнения. Обучение. – 2020. – Т.8, №2(28). – С. 80–95.

178. Цитомегаловирусная инфекция у детей первых месяцев жизни: варианты течения, современные подходы к терапии (клинические случаи) / И.А. Беляева, Е.П. Бомбардинова, Т.В. Потехина, А.С. Гурская // Педиатрическая фармакология. – 2018. – Т.15, №2. – С. 168–174.

179. Цитомегаловирусная инфекция у женщин с отягощенным акушерским анамнезом / Л.Б. Кистенева, С.Г. Чешик, Л.В. Колобухина, Н.В. Околышева // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2014. – № 3. – С. 25–29.

180. Чайка, В.К. Нарушение баланса проангиогенных и антиангиогенных плацентарных факторов роста у беременных с синдромом задержки роста плода на ранних сроках гестации / В.К. Чайка, И.Г. Говоруха,

К.В. Шаров // Медико-социальные проблемы семьи. – 2021. – Т. 26, № 1. – С. 5–10.

181. Черток, В.М. Эндотелийзависимая регуляция ангиогенеза / В.М. Черток, В.Г. Черток, В.Г. Зенкина // Цитология. – 2017. – Т. 59, №4. – С. 243–258.

182. Шиканова, С.Ю. Катамнез детей, рожденных от матерей с цитомегаловирусной инфекцией / С.А. Шиканова, Л.А. Ералиева, Н.Х. Онгарбаева // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2015. – Т.2, №46. – С. 156–158.

183. Шахгильдян, В.И. Врожденная цитомегаловирусная инфекция: актуальные вопросы, возможные ответы / В. И. Шахгильдян // Неонатология: новости, мнения, обучение. – 2020. – Т. 8, № 4(30). – С. 61–72.

184. Экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста типа А в эндометрии при маточной форме бесплодия / Л.М. Чуприенко, А.А. Славинский, Е.С. Севостьянова [и др.] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2020. – Т.27, №1. – С.85–95.

185. Эпидемиология врожденной цитомегаловирусной инфекции / Р.Ж. Сейсебаева, А.Е. Алмаганбетова, Ф.Н. Касымбекова [и др.] // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2018. – №1. – С. 42–43.

186. Эферениев, И.М. Клинический случай цитомегаловирусной инфекции / И.М. Эферениев // Наука и здоровье. – 2021. –Т.23, №3. – С. 184–189.

187. Яковлева, Н.Ю. Соотношение ангиогенных и антиангиогенных факторов при преэклампсии / Н.Ю. Яковлева, Е.Л. Хазова, Е.Ю. Васильева, И.Е. Зазерская // Артериальная гипертензия. – 2016. – Т. 22, №5. – С. 488–494.

188. Ahmad, S. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia / S. Ahmad, A. Ahmed // Circ Res. – 2004. – Vol.2, №95(9). – P. 884–891.

189. Akpan, U.S. Congenital cytomegalovirus infection / U.S. Akpan, L.S. Pillarisetty. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.

190. Althaqafi, R-M.M. Maternal and neonatal infections of herpes simplex virus-1 and cytomegalovirus in Saudi Arabia / R-M.M. Althaqafi, M. Elrewiny, A.S. Abdel-Moneim // *J. Infect. Public Health.* – 2020. – №2. – P. 313–314.

191. Amino-terminal TACE prodomain attenuates TNFR2 cleavage independently of the cysteine switch / C.A. Buckley, F.N. Rouhani, M. Kaler [et al.] // *Am. J. Physiol. Lung. Cel.l Mol. Physiol.* – 2018. – №6. – P. 1132–1138.

192. Andrievskaya, I.A. Specific and non-specific factors of humoral immunity as markers for pregnancy loss in women with cytomegalovirus infection / I.A. Andrievskaya, M.T. Lutcenko, O.P. Babenko // *International Journal of Biomedicine.* – 2015. – Vol. 5, №4. – P. 184–187.

193. An intermediate sFlt-1/PIGF ratio indicates an increased risk for adverse pregnancy outcome / J. Hoffman, V. Ossada, M. Weber, H. Stepan // *Pregnancy Hypertens.* – 2017. – №10. – P. 165–170.

194. Angelova, M. Cytomegalovirus infection during pregnancy and its impact on the intrauterine fetal development-case report / M. Angelova, E. Kovachev, N. Todorov // *Open. Access. Maced. J. Med. Sci.* – 2016. – Vol. 4, №3. – P. 449–452.

195. Angiogenesis in the placenta: the role of reactive oxygen species signaling / R.D. Pereira, N.E. DeLong, R.C. Wang [et al.] // *Biomed Research International.* – 2019. – № 2019. – P. 814543.

196. Anti-cytomegalovirus immunoglobulin M titer for congenital infection in first-trimester pregnancy with primary infection: a multicenter prospective cohort study / K. Toriyabe, F. Morikawa, T. Minematsu [et al.] // *J. Perinatol.* – 2017. – Vol. 37, №12. – P. 1272–1277.

197. Association between vascular endothelial growth factor polymorphism and recurrent pregnancy loss: A systematic review and meta-analysis / Y. Sun, M. Chen, B. Mao [et al.] // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* – 2019. – № 211. – P. 169–176.

198. 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. – № 243. – P. 32–35.

199. Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia / R. Aggarwal, A.K. Jain, P. Mittal [et al.] // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2019. – № 4. – P.e22834.

200. Association of toll-like receptors polymorphism and intrauterine transmission of cytomegalovirus / Y. Edlar-Yedidia, M. Hillel, A. Cohen [et al.] // *PloS. One.* – 2018. – Vol. 12, №12. – e0189921.

201. Assessment of HCMV-encoded microRNAs in plasma as potential biomarkers in pregnant women with adverse pregnancy outcomes / Z. Gao , L. Zhou, J. Bai [et al.] // *Ann. Transl. Med.* – 2021. – №8. – P. 638.

202. Avcioglu, F. Evaluation of Toxoplasma, Rubella, and Cytomegalovirus serological results in women of childbearing age / F. Avcioglu, M. Behcet, M.G. Kurtoglu // *Rev Assoc Med Bras (1992).* – 2020. – №6. – P. 789–793.

203. Battle between Host Immune Cellular Responses and HCMV Immune Evasion / T. Manandhar, G.T. Hò, W.C. Pump [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 20, №15. – P. 3626.

204. Britt, W.J. Maternal immunity and the natural history of congenital human cytomegalovirus infection / W.J. Britt // *Viruses.* – 2018. – Vol. 22, №1. – P. 116–133.

205. Calleja-Agius, J. Inflammatory cytokines in maternal circulation and placenta of chromosomally abnormal first trimester miscarriages / J. Calleja-Agius, E. Jauniaux, S.Muttukrishna // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – № 2012. – P. 175041.

206. Cellular and molecular mechanisms of viral infection in the human placenta / M. León-Juárez, M. Martínez-Castillo, L.D. González-García [et al.] // *Pathog Dis.* – 2019. – Vol.75, № 7. – P. ftx093.

207. Chau, K. Placental growth factor and preeclampsia / K. Chau, A. Hennessy, A. Makris // *J. Hum. Hypertens.* – 2017. – Vol. 31, №12. – P. 782–786.

208. Cheng, J.C. TGF- β 1 inhibits human trophoblast cell invasion by upregulating connective tissue growth factor expression / J.C. Cheng, H.M. Chang, P.C.K. Leung // *Endocrinology*. – 2019. – Vol. 158, № 10. – P. 3620–3628.

209. Chernyshov, V.P. Lack of soluble TNF-receptors in women with recurrent spontaneous abortion and possibility for its correction / V.P. Chernyshov, M.A. Vodyanik, S.P. Pisareva // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2005. – Vol. 54, №5. – P. 284–291.

210. Choi, K.Y. Requirements for guinea pig cytomegalovirus tropism and antibody neutralization on placental amniotic sac cells / K.Y. Choi, N.S. El-Hamdi, A. McGregor // *J. Gen. Virol.* – 2020. – № 4. – P. 426–439.

211. Chung, M.H. TORCH (toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus, and herpes simplex virus) screening of small for gestational age and intrauterine growth restricted neonates: efficacy study in a single institute in Korea / M.H. Chung, C.O. Shin, J. Lee // *Korean J. Pediatr.* – 2018 – №4. P. 114–120.

212. Clinical and ultrasound features associated with congenital cytomegalovirus infection as potential predictors for targeted newborn screening in high-risk pregnancy / H. Imafuku, H. Yamada, A. Uchida [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol.10, №1. – P. 19706.

213. Crossroads of estrogen receptor and NF-kappa B signaling / D.K. Biswas, S. Singh, Q. Shi // *Sci STKE*. – 2005. – Vol. 2005, №288. – P. 27.

214. Comparative study of the immunohistochemical expression of metalloproteinases 2, 7 and 9 between clearly invasive carcinomas and «in situ» trophoblast invasion / I. Ioannidis, B. Dimo, A. Karameris [et al.] // *Neoplasma*. – 2010. – № 57. – P. 20–28.

215. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy and the neonate: consensus recommendations for prevention, diagnosis and therapy / W.D. Rawinson, S.B. Boppana, K.B. Fowler [et al.] // *Lancet. Infect. Dis.* – 2019. – Vol. 17, №6. – e177– e188.

216. Congenital cytomegalovirus infection – still a relevant problem (based on own experience and literature) / D. Lisowska-Mikolajkow, A. Mikolajkow, J. Reczuch, B. Krolak-Olejnik // *Dev. Period. Med.* – 2018. – Vol. 22, №1. – P. 49–57.

217. Congenital cytomegalovirus infection: update on diagnosis and treatment / G. Chiopris, P. Veronese, F. Cusenza [et al.] // *Microorganisms.* – 2020. – Vol. 8, №10. – P. 1516.

218. Cytomegalovirus enhances macrophage TLR expression and MyD88-mediated signal transduction to potentiate inducible inflammatory responses / P.D. Smith, M. Shimamura, L.C. Musgrove [et al.] // *J. Immunol.* – 2018. – Vol. 193, №11. – P. 5604–5612.

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

220. Cytomegalovirus kinetics following primary infection in healthy women / M.S. Forman, D. Vaidya, O. Bolorunduro [et al.] // *J Infect Dis.* – 2019. – Vol. 215, №10. – P. 1523–1526.

221. Cytomegalovirus shedding in seropositive healthy women of reproductive age in Tianjin, China / D. Ju, X.Z. Li, Y.F. Shi [et al.] // *Epidemiol Infect.* – 2020. – Vol. 19, №148. – P. e34.

222. Cytomegalovirus seroprevalence in pregnant women in the western region of Romania: A large-scale study / F. Gorun, S. Motoi, D. Malita [et al.] // *Exp. Ther. Med.* – 2020. – №3. – P. 2439–2443.

223. Dai, R. Despite inhibition of nuclear localization of NF-kappa B p65, c-Rel, and RelB, 17-beta estradiol up-regulates NF-kappa B signaling in mouse splenocytes: the potential role of Bcl-3 / R. Dai, R.A. Phillips, S.A. Ahmed // *J Immunol.* 2007. – Vol. 179, №3. – P. 1776–1783.

224. Decreased Filamin b expression regulates trophoblastic cells invasion through ERK/MMP-9 pathway in pre-eclampsia / J. Wei, Y. Fu, X. Mao [et al.] // *Ginekol Pol.* – 2019. – Vol. 90, №1. – P. 39–45.

225. Demmler-Harrison, G.J. Houston Congenital Cytomegalovirus Longitudinal Study Group. Maternal cytomegalovirus immune status and hearing loss outcomes in congenital cytomegalovirus-infected offspring / G.J. Demmler-Harrison, J.A. Miller // PLoS One. – 2020. – Vol. 15, №10. – P. e0240172.

226. Detection of cytomegalovirus, human parvovirus B19, and herpes simplex virus-1/2 in women with first-trimester spontaneous abortions / Y. Zhou, G. Bian, Q. Zhou [et al.] // J. Med. Virol. – 2019. – Vol. 87, №10. – P. 1749–1753.

227. Differential effects of estradiol and progesterone on human T cell activation in vitro / G. Papapavlou, S. Hellberg, J. Raffetseder [et al.] // Eur J Immunol. – 2021. – Vol. 51, №10. – P.2430–2440.

228. Differential expression of PDGF receptor- α in human placental trophoblasts leads to different entry pathways by human cytomegalovirus strains / Z. Naing, S.T. Hamilton, W.J. van Zuylen [et al.] // Sci. Rep. – 2020. – Vol.10, №1. – P. 1082.

229. Differential expression of progesterone receptor isoforms related to *PGR* +331g/a polymorphism in endometriosis: A case-control study / S. Mousazadeh, A. Ghaheri, M. Shahhoseini [et al.] // Int. J. Reprod. Biomed. 2019. – Vol.17, №3. – P. 185–194.

230. Dietrich, M.L. Congenital Cytomegalovirus Infection / M.L. Dietrich, J.S. Schieffelin // Ochsner J. – 2019. – Vol. 19, №2. – P. 123–130.

231. dNK derived IFN- γ mediates VSMC migration and apoptosis via the induction of LncRNA MEG3 : A role in uterovascular transformation / W. Liu, X. Liu, M. Luo [et al.] // Placenta. – 2020. – № 50. – P. 32–39.

232. Downregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase expression in the villous stromal endothelial cells of placentas with preeclampsia / N. Iwahashi, M. Yamamoto, S. Nanjo [et al.] // J. Reprod. Immunol. – 2019. – Vol. 119. – P. 54–60.

233. 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.

234. Emery, V.C. Cytomegalovirus in pregnancy and the neonate / V.C. Emery, T. Lazzarotto // *F100Res.* – 2018. – № 6. – P. 138.

235. Endometrial decidualization: the primary driver of pregnancy health / S.W. Ng, G.A. Norwitz, M. Pavlicev [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, №11. – P. 4092.

236. Endometrial VEGF induces placental sFLT1 and leads to pregnancy complications / X. Fan, A. Rai, N. Kambham [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2019. – Vol. 124, №11. – P. 4941–4952.

237. Estradiol promotes trophoblast viability and invasion by activating SGK1 / W.H. He, M.M. Jin, A.P. Liu [et al.] // *Biomed Pharmacother.* 2019. – № 117. – P. 109092.

238. Estrogen-induced FOS-like 1 regulates matrix metalloproteinase expression and the motility of human endometrial and decidual stromal cells / C. Chen, C. Li, W. Liu [et al.] // *J Biol Chem.* – 2020. – Vol. 295, №8. – P. 2248 – 2258.

239. Expression and localization of estrogen receptor-alpha protein in normal and abnormal term placentae and stimulation of trophoblast differentiation by estradiol / A. Bukovsky, M. Cekanova, M.R. Caudle [et al.] // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 6, № 1. – P.13.

240. Expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and factor VIII in the gilt placenta and its relation to fetal development / G.C. Guimaraes, L.A. Alves, R.P. Betarelli [et al.] // *Theriogenology.* – 2018. – Vol. 1, №92. – P. 63–68.

241. Failure of physiologic transformation of spiral arteries, endothelial and trophoblast cell activation, and acute atherosclerosis in the basal plate of the placenta / C.A. Labarrere, H.L. DiCarlo, E Bammerlin [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 216, №3(287). – e1-287.e16.

242. Feasibility of predicting the outcome of fetal with cytomegalovirus at the time of prenatal diagnosis / M. Luruez-Ville, J. Stirnemann, Y. Sellier [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 215, №3. – P. 342.e1–9.

243. Frenkel, L.D. The pathogenesis of microcephaly resulting from congenital infections: why is my baby's head so small? / L.D. Frenkel, F. Gomes, F. Sabahi // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 2018. – Vol. 37, №2. – P. 209–226.

244. 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 // *Viol. J.* – 2018. – Vol. 23, №15 (1). – P. 74.

245. Genetic variation in TGFB1 gene and risk of idiopathic recurrent pregnancy loss / K. Magdoud, V. Granados Herbein, S. Messaoudi [et al.] // *Mol Hum Reprod.* – 2018. – Vol. 19, №7. – P. 438.

246. Genetic variation in toll like receptors 2, 7, 9 and interleukin-6 is associated with cytomegalovirus infection in late pregnancy / D.Z. Mhandire , K. Mhandire , M. Magadze [et al.] // *BMC Med Genet.* – 2020. – Vol. 21, №1. – P. 113.

247. Goldman, S. Difference in progesterone-receptor isoforms ratio between early and late first-trimester human trophoblast is associated with differential cell invasion and matrix metalloproteinase 2 expression / S. Goldman, E. Shalev // *Biol Reprod.* 2006. – Vol. 74, №1. – P. 13–22.

248. Guo, B. Regulatory mechanism of embryo implantation / B Guo. // *Sheng Li Xue Bao.* – 2020. – Vol. 72, №1. – P. 105–114

249. Gumina, D.L. Endothelial progenitor cells of the human placental circulation: a potential link to fetal, neonatal, and long-term health / D.L. Gumina, E.J. Su // *Front. Pediatr.* – 2018. – № 5. – P. 41.

250. Hamprecht, K. Postnatal cytomegalovirus infection through human milk in preterm infants: transmission, clinical presentation, and prevention / K. Hamprecht, R. Goelz // *Clin. Perinatol.* – 2017. – Vol. 44, №1. – P. 121–130.

251. HCG induces β 1,4-GaIT1 expression and promotes embryo implantation / L. Chen, Y. Xie, J. Fan [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* – 2015. – Vol. 8, №5. – P. 4673–4683.

252. He, Y. IFN- γ induces upregulation of TNF- α , downregulation of MMP-2 and MMP-9 expressions in abortion rat / Y. He, Q. Sun // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2018. – №15. – P. 4762–4767.

253. Hearing loss in children with congenital cytomegalovirus infection: an 11-year retrospective study based on laboratory database of a tertiary paediatric hospital / S. Palma, M.F. Roversi, M. Bettini [et al.] // *Acta Otorhinolaryngol Ital.* – 2019. – Vol. 39, №1. – P. 40–45.

254. Hui, L. Perinatal outcome after maternal primary cytomegalovirus infection in the first trimester: a practical update and counseling aid / L. Hui, G. Woog // *Prenat. Diagn.* – 2015. – Vol. 35, №1. – P. 1–7.

255. Human cytomegalovirus interleukin-10 downregulates metalloproteinase activity and impairs endothelial cell migration and placental cytotrophoblast invasiveness in vitro / T. Yamamoto-Tabata, S. McDonagh, H.T. Chang [et al.] // *J. Virol.* – 2004. – Vol. 78, №6. – P. 2831–2840.

256. 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.* – 2018. – №7. e52899.

257. Human cytomegalovirus interacts with toll-like receptor 2 and CD14 on syncytiotrophoblasts to stimulate expression of TNF α mRNA and apoptosis / S Chaudhuri, B. Lowen, G. Chan [et al.] // *Placenta.* – 2009. – Vol. 30, №11. – P. 994–1001.

258. Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems / M. Knöfler, S. Haider, L. Saleh [et al.] // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2019. – №18. – P. 3479–3496.

259. Human trophoblast invasion: new and unexpected routes and functions / G. Moser, K. Windsperger, J. Pollheimer [et al.] // *Histochem. Cell. Biol.* – 2018. – Vol. 150, №4. – P. 361–370.

260. Huppertz, B. Maternal-fetal interactions, predictive markers for preeclampsia, and programming / B. Huppertz // *J. Reprod. Immunol.* – 2018. – №108. – P. 26–32.

261. Huppertz, B. Traditional and New Routes of Trophoblast Invasion and Their Implications for Pregnancy Diseases / B. Huppertz // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 21, №1. – P. 289.

262. Hyaluronan control of the primary vascular barrier during early mouse pregnancy is mediated by uterine NK cells / R. Hadas, E. Gershon, A. Cohen [et al.] // *JCI Insight.* – 2020. – Vol.5, №22. – P. e135775.

263. Hypoxia-induced TET1 facilitates trophoblast cell migration and invasion through HIF1 α signaling pathway / J. Zhu, K. Wang., T. Chen [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – Vol. 7, №1. – P. 8077.

264. Immunohistochemical Study on the Expression of G-CSF, G-CSFR, VEGF, VEGFR-1, Foxp3 in First Trimester Trophoblast of Recurrent Pregnancy Loss in Pregnancies Treated with G-CSF and Controls / F. Scarpellini, F.G. Klinger, G. Rossi, M. Sbracia // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 21, №1. – P. 285.

265. Inhibition of HMGB1 ameliorates the maternal-fetal interface destruction in unexplained recurrent spontaneous abortion by suppressing pyroptosis activation / D. Zhu, H. Zou, J. Liu [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 23, №12. – P. 782792.

266. Induction of Fas-Mediated apoptosis by interferon- γ is dependent on granulosa cell differentiation and follicular maturation in the rat ovary / H.J. Lee, J.Y. Kim, J.E. Park [et al.] // *Dev. Reprod.* – 2019. – Vol. 20, №4. – P. 315–329.

267. Inflammation in rat pregnancy inhibits spiral artery remodeling leading to fetal growth restriction and features of preeclampsia / T. Cotechini, M. Komisarenko, A. Sperou [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2019. – Vol. 211, №1. – P. 165-179.

268. Intrauterine transmission and clinical outcome of 248 pregnancies with primary cytomegalovirus infection in relation to gestational age / G. Anders, A. Daiminger, U. Bäder [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2018. – Vol. 52, № 3. – P. 224–246.

269. In vitro study on human cytomegalovirus affecting early pregnancy villous EVT's invasion function / L. Tao, C.Suhua, C. Juanjuan [et al.] // *Virol. J.* – 2011. – Vol. 11, №8. – P. 114.

270. Jin, Q. Cytomegalovirus infection among pregnant women in Beijing: seroepidemiological survey and intrauterine transmissions / Q. Jin, J. Su, S. Wu // *J. Microbiol. Biotechnol.* – 2019. – Vol. 28, №27 (5). – P. 1005–1009.

271. Kawai, K. Congenital cytomegalovirus infection / K. Kawai, H. Itoh // *N. Engl. J. Med.* – 2018. – Vol. 379, № 3. – P. e21.

272. Laskowska, M. Maternal and umbilical sTNF-R1 in preeclamptic pregnancies with intrauterine normal and growth retarded fetus / M. Laskowska, K. Laskowska, B. Leszczyńska-Gorzela, J. Oleszczuk // *Hypertens Pregnancy.* – 2007. – Vol. 26, №1. – P. 13–21.

273. Lecarpentier, E. Angiogenic balance (sFlt-1/PlGF) and preeclampsia / E. Lecarpentier, V. Tsatsaris // *Ann Endocrinol (Paris).* – 2019. – Vol. 77, №2. – P. 97–100.

274. Lindholm, K. Placental cytomegalovirus infection / K. Lindholm, M. O'Keefe // *Arch Pathol Lab Med.* – 2019. – №5. – P. 639–642.

275. Liu, E. MicroRNA-491-5p inhibits trophoblast cell migration and invasion through targeting matrix metalloproteinase-9 in preeclampsia / E. Liu, Y. Zhou, J. Li, D. Zhang // *Mol. Med. Rep.* – 2020. – Vol. 22, №6. – P. 5033–5040.

276. Liu, H. Increased expression of IFN- γ in preeclampsia impairs human trophoblast invasion via a SOCS1/JAK/STAT1 feedback loop / H. Liu, W. Wang, C. Liu // *Exp. Ther. Med.* – 2021. – №2. – P. 112.

277. Lyall, F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy-a review / F. Lyall // *Placenta.* – 2005. – №26. – Suppl A: S31-36.

278. Maternal serum cytokine concentrations in healthy pregnancy and preeclampsia / T. Spence, P.J. Allsopp, A.J. Yeates [et al.] // *J. Pregnancy.* – 2021. – №2021. – P. 6649608.

279. Maternal viral infection and risk of fetal congenital heart diseases: a meta-analysis of observational studies / Z. Ye, L. Wang, T. Yang [et al.] // *J. Am. Heart. Assoc.* – 2019. – Vol. 8, №9. – P. e011264.

280. Matrix metalloproteinase-9 deficiency phenocopies features of preeclampsia and intrauterine growth restriction / V. Plaks, J. Rinkenberger, J. Dai [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2019. – Vol. 110, №27. – P. 11109–11114.

281. Marsico, C. Congenital Cytomegalovirus infection: advances and challenges in diagnosis, prevention and treatment / C. Marsico, D.W. Kimberlin // *Ital. J. Pediatr.* – 2018. – Vol. 43, № 1. – P. 38.

282. MicroRNA-30a-3p is overexpressed in the placentas of patients with preeclampsia and affects trophoblast invasion and apoptosis by its effects on IGF-1 / Z. R. Niu, T. Han, X.L. Luan [et al.] // *Am. J. Obstet. gynecol.* – 2018. – Vol. 218, № 2. – P. 249.e–249.e12.

283. MMP-9 and TIMP-1 in placenta of hypertensive disorder complicating pregnancy / Y. Zhang, P. Li, Y. Guo [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2019. – №1. – P.637–641.

284. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts / C. Ferretti, L. Bruni, V. Dangles-Marie [et al.] // *Hum. Reprod. Update.* – 2007. – Vol. 13, №2. – P. 121–141.

285. Molecular Pharmacology of VEGF-A Isoforms: Binding and Signalling at VEGFR2 / C.J. Peach, V.W. Mignone, M.A. Arruda [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – Vol. 19, №4. – P. 1264.

286. Molecular Signaling Regulating Endometrium-Blastocyst Crosstalk / M. Massimiani, V. Lacconi, F. La Civita [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2019. – Vol. 21, №1. – P. 23.

287. Moser, G. Implantation and extravillous trophoblast invasion: From rare archival specimens to modern biobanking / G. Moser, B.Huppertz // *Placenta.* – 2019. – № 56. – P. 19–26.

288. Neurological and growth outcomes in South African children with congenital cytomegalovirus: A cohort study / J. Pathirana, L.Texeira, H. Munian [et al.] // *PLoS One.* – 2020. – Vol. 15, №9. – P. e0238102.

289. Neonatal HCMV-related polymicrogyria in seroimmune women: what is optimal pregnancy management? / M. Zavattoni, G. Lombardi, F. Garofoli [et al.] // *J. Clin. Virol.* – 2018. – Vol. 108. – P. 141–146.

290. New Insights into the Process of Placentation and the Role of Oxidative Uterine Microenvironment / S. Mendes, F. Timóteo-Ferreira, H. Almeida, E. Silva // *Oxid. Med. Cell. Longev.* – 2019. – №2019. – P. 9174521.

291. Nodal signals through activin receptor-like kinase 7 to inhibit trophoblast migration and invasion: implication in the pathogenesis of preeclampsia / L. Nadem, S. Munir, G. Fu [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2011. – Vol. 178. – P. 1177–1189.

292. NRP1 and MMP9 are dual targets of RNA-binding protein QKI5 to alter VEGF-R/ NRP1 signalling in trophoblasts in preeclampsia / X. Yang, D.Chen, B. He, W. Cheng [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2021. – № 4. – P. 33942999.

293. Pass, R.F. Maternal and fetal cytomegalovirus infection: diagnosis, management, and prevention / R.F. Pass, R. Arav-Boger // *F100Res.* – 2018. – № 7. – P. 255.

294. Pereira, L. Congenital viral infection: Traversing the uterine-Placental Interface / L. Pereira // *Annu. Rev. Virol.* – 2018. – Vol. 5, № 1. – P. 273–299.

295. Placental expression of sFlt-1 and PlGF in early preeclampsia vs. early IUGR vs. age-matched healthy pregnancies / A. Hoeller, L. Ehrlich, M. Golic [et al.] // *Hypertens. Pregnancy.* – 2019. – Vol. 36, №2. – P. 151–160.

296. Placental growth factor (PlGF) as an angiogenic/inflammatory switcher: lesson from early pregnancy losses / H.R. Nejabati, Z. Latifi, T. Ghasemnejad [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2018. – Vol. 33, №9. – P. 668–674.

297. Placental growth factor, vascular endothelial growth factor, and hypoxia-inducible factor-1 α in the placentas of women with pre-eclampsia / L.E. Ali, M.M. Salih, E.M. [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2018. – Vol. 28. – P. 1–5.

298. PlGF immunological impact during pregnancy / L. Albonici, M. Benvenuto, C. Focaccetti [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – Vol. 21, №22. – P. 8714.

299. Primary Human Cytomegalovirus (HCMV) Infection in Pregnancy / H. Buxmann, K. Hamprecht, M. Meyer-Witkopf, K. Friese // *Dtsch. Arztebl. Int.* – 2018. – Vol. 114, №4. – P. 45–52.

300. Primary versus non-primary maternal cytomegalovirus infection as a cause of symptomatic congenital infection-register-based study from Finland / L. Puhakka, M. Renko, M. Helminen [et al.] // *Infect. Dis. (Long)*. – 2019. – Vol. 49, №6. – P. 445–453.

301. Progesterone in normal and pathological pregnancy / G.C. Di Renzo, I. Giardina, G. Clerici [et al.] // *Horm. Mol. Biol. Clin. Investig.* – 2016. – Vol. 27, №1. – P. 35–48.

302. Progestins inhibit tumor necrosis factor α -induced matrix metalloproteinase 9 activity via the glucocorticoid receptor in primary amnion epithelial cells / T.K. Allen, M.N. Nazzal, L. Feng [et al.] // *Reprod Sci.* – 2019. – Vol. 26, №9. – P. 1193–1202.

303. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model / K. Kumasawa, M. Ikawa, H. Kidoya [et al.] // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2011. – Vol. 25, №108 (4). – P. 1451–1455.

304. Rac1/ β -Catenin Signalling Pathway Contributes to Trophoblast Cell Invasion by Targeting Snail and MMP9 / M. Fan, Y. Xu, F. Hong [et al.] // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2019. – Vol. 38, №4. – P. 1319–1332.

305. Raguema, N. Immune and apoptosis mechanisms regulating placental development and vascularization in preeclampsia / N. Raguema, S. Moustadraf, M. Bertagnolli // *Front Physiol.* – 2020. – Vol. 11, №11. – P. 98.

306. Regulation of Placental Extravillous Trophoblasts by the Maternal Uterine Environment / J. Pollheimer, S. Vondra, J. Baltayeva [et al.] // *Front Immunol.* – 2018. – №9. – P. 2597.

307. Rettew, J.A. Estrogens augment cell surface TLR4 expression on murine macrophages and regulate sepsis susceptibility in vivo / J.A. Rettew, Y.M. Huet, I. Marriott // *Endocrinology.* – 2009, Vol.150, №8. – P. 3877–3884.

308. Rizov, M. Molecular regulation and role angiogenesis in reproduction / M. Rizov, P. Andreeva, I. Dimova // *Taiwan J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 56, №2. – P. 127–132.

309. Roje, D. Fas and FasL expression in placentas complicated with intrauterine growth retardation with and without preeclampsia / D. Roje, I. Kuzmic Prucas // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – 2016. – Vol. 29, №7. – P. 1154–1159.

310. Role of endoplasmic reticulum stress in proinflammatory cytokine-mediated inhibition of trophoblast invasion in placenta-related complications of pregnancy / C.L. Lee, J-H.W. Veerbeek, T.K. Rana [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2019. – №2. – P. 467–478.

311. Role of human cytomegalovirus in the proliferation and invasion of extravillous cytotrophoblast isolated from early placentae / T. Liu, X. Zheng, Q. Li [et al.] // *Int. J. Clin. Exp. Med.* – 2015. – Vol. 8, №10. – P. 17248–17260.

312. Serological screening of immunoglobulin M and immunoglobulin G during pregnancy for predicting congenital cytomegalovirus infection / Y. Torii, S.Yoshida, Y.Yanase [et al.] // *BMC Pregnancy Childbirth.* – 2019. – Vol. 19, №1. – P. 205.

313. Shi F. Hsa_circ_0088196 suppresses trophoblast migration and invasion by the miR-525-5p/ABL1 axis and the PI3K/AKT signaling pathway / F. Shi, L. Li // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* – 2022. – Vol. 36, №10. – e23150.

314. Straub, R.H. The complex role of estrogens in inflammation / R.H. Straub // *Endocr Rev.* – 2007. – №28. – P. 521–574.

315. 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.

316. Study of structural changes in placenta in pregnancy-induced hypertension / S. Silasi [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2018. – Vol. 68, №4. – P. 279–281.

317. Short Communication: Do Cytomegalovirus Antibody Levels Associate with Age-Related Syndromes in HIV Patients Stable on Antiretroviral Therapy? /

S.J. Brunt, L.A. Cysique, S. Lee [et al.] // *AIDS Res Hum Retroviruses*. – 2016. – Vol. 32, №6. – P. 567–572.

318. The differentiation of human cytomegalovirus infected-monocytes is required for viral replication / C.K. Min, A.K. Shakya, B.J. Lee [et al.] // *Front Cell Infect Microbiol*. – 2020. – Vol. 31, №10. – P. 368.

319. The emerging role of the prokineticins and homeobox genes in the vascularization of the placenta: physiological and pathological aspects / N. Alfaidy, S. Brouillet, G.Rajaraman [et al.] // *Front Physiol*. – 2020. – №11. – P. 591850.

320. The herpesviral antagonist m152 reveals differential activation of STING-dependent IRF and NF- κ B signaling and STING's dual role during MCMV infection / M. Stempel, B. Chan, V. Juranić Lisnić // *EMBO J*. – 2019. – Vol.1, №38(5). – P. e100983.

321. The regulation of trophoblast invasion and decidual reaction by matrix metalloproteinase-2, metalloproteinase-7, and metalloproteinase-9 expressions in the rat endometrium / R. Hamutoğlu, H.E. Bulut, C. Kaloğlu [et al.] // *Reprod. Med. Biol*. – 2020. – Vol. 19, №4. – P. 385–397.

322. The role of congenital cytomegalovirus infection in adverse birth outcomes: a review of the potential mechanisms / A. Njue, C. Coyne, A.V. Margulis [et al.] // *Viruses*. – 2020. – Vol. 13, №1. – P. 20.

323. The role of HCG in implantation: a mini-reviw of molecular an clinical evidence / A. Makrigiannakis, T. Vrekoussis, E. Zoumakis [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2019. – Vol. 18, №6. – P. E1305.

324. The role of mediating factors involved in angiogenesis during implantation / L. Boldeanu, A.L. Dijmărescu, M. Radu [et al.] // *J. Morphol. Embryol*. – 2020. – №3. – P. 665-672.

325. The role of tnf- α and anti-tnf- α agents during preconception, pregnancy, and breastfeeding / K. Romanowska-Próchnicka, A. Felis-Giemza, M. Olesińska [et al.] // *Int. J. Mol. Sci*. – 2021. – Vol. 22, №6. – P. 2922.

326. The sFlt-1/PlGF ratio as a predictor for poor pregnancy and neonatal outcomes / Y.S. Chang, C.N. Chen, S.F. Jeng [et al.] // *Pediatr. Neonatal.* – 2019. – Vol. 58, №6. – P. 529–533.

327. Time course of the cytokine profiles during the early period of normal pregnancy and in patients with a history of habitual miscarriage / M.M. Ziganshina, L.V. Krechetova, L.V. Vanko [et al.] // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2013. – Vol. 154, № 3. – P. 385–387.

328. Transforming Growth Factor- β 1 in Regulating Fetal-Maternal Immune Tolerance in Normal and Pathological Pregnancy / D. Yang, F. Dai, M. Yuan [et al.] // *Front Immunol.* – 2021. – Vol. 31, № 12. – P. 689181.

329. Transforming growth factor β 1 promotes invasion of human JEG-3 trophoblast cells via TGF- β /Smad3 signaling pathway / Z. Huang, S. Li, W. Fan, Q. Ma [et al.] // *Oncotarget.* – 2019. – Vol.8, №20. –P. 33560–33570.

330. Transmission of CMV, HTLV-1, and HIV through breastmilk / A.J. Prendergast, A.E. Goga, C. Waitt [et al.] // *Lancet Child Adolesc Health.* – 2019. – №4. – P. 264–273.

331. Trophoblast-endothelium signaling involves angiogenesis and apoptosis in a dynamic bioprinted placenta model / C.Y. Kuo, M. Shevchuk, J. Opfermann [et al.] // *Biotechnol Bioeng.* – 2019. – №1. – P. 181–192.

332. Tumor necrosis factor receptor 1 expression and early spontaneous abortion / X.W. Yu, C.F. Yan, H. Jin, X. Li // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2005. – №1. – P. 44–48.

333. Unravelling the Network of Nuclear Matrix Metalloproteinases for Targeted Drug Design / A.S. Frolova, A.I. Petushkova, V.A. Makarov [et al.] // *Biology (Basel).* – 2020. – Vol. 9, №12. – P. 480.

334. Uterine receptivity, embryo attachment, and embryo invasion: Multistep processes in embryo implantation / Y. Fukui, Y. Hirota, M. Matsuo [et al.] // *Reprod. Med. Biol.* – 2019. – Vol.18, №3. – P. 234–240.

335. Varfolomeev, E. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease / E. Varfolomeev, D. Vucic // *Cytokine.* – 2018. – № 101. – P. 26–32.

336. VEGF-A regulates sFlt-1 production in trophoblasts through both Flt-1 and KDR receptors. / Z. Xiao, S. Li, Y. Yu [et al.] // *Mol. Cell. Biochem.* – 2018. – Vol. 449, № 1-2. – P. 1–8.

337. de Vries, L.S. Viral Infections and the Neonatal Brain / L.S. de Vries // *Semin Pediatr Neurol.* – 2019. – № 32. – P. 100769.

338. Wu, F. Oxidative stress in placenta: health and diseases / F. Wu, F.J. Tian, Y. Lin // *Biomed. Res. Int.* – 2019. – Vol. 2015. – P. 293271.

339. Zhang, X.Y. Congenital human cytomegalovirus infection and neurologic diseases in newborns / X.Y. Zhang, F. Fang // *Chin Med J (Engl).* – 2019. – Vol. 132, №17. – P. 2109–2118.