

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ВАЩЕНКО ВІКТОРІЯ ЛЕОНІДІВНА

УДК 618.3-008.6-06:616.12-008.331-084.612.017.1-02

**КЛІНІКО-ІМУНОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ФОРМУВАННЯ
МАКРОФАГАЛЬНОГО ДИСБАЛАНСУ ПРИ ПРЕЕКЛАМПСІЇ ТА
ОПТИМІЗАЦІЯ ПІДХОДІВ ДО ВТОРИННОЇ ЇЇ ПРОФІЛАКТИКИ**

222 – Медицина

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.


В. Л. Ващенко
(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник:

**Ліхачов Володимир Костянтинович,
доктор медичних наук, професор**

Полтава - 2021

АНОТАЦІЯ

Ващенко В. Л. Клініко-імунологічні механізми формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізація підходів до вторинної її профілактики. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 Медицина – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021.

Дисертація присвячена вивченню впливу порушень поляризації децидуальних макрофагів на маніфестацію і ступінь тяжкості прееклампсії та розробці ефективних заходів по її вторинній профілактиці.

Децидуальні макрофаги відіграють суттєву роль як у фізіологічному, так і патологічному перебігу вагітності за рахунок їх пластичності та імуносупресивних властивостей, участі у ремоделюванні тканин та судин, здатності формування місцевого адаптивного імунітету. Але на сьогоднішній день ще відсутня достатня кількість даних щодо особливостей рівнів цитокінів, характеру фенотипових та морфо-функціональних змін макрофагів, співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів при фізіологічному і патологічному перебігу вагітності, що обмежує розуміння патогенетичної ролі M1 та M2 децидуальних макрофагів при прееклампсії. Це визначає потребу в розробці шляхів вторинної профілактики захворювання, які б дали можливість розробити ефективну тактику ведення вагітних з прееклампсією, цілеспрямовано направлену на нормалізацію балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів для зниження показників материнської і перинатальної захворюваності та смертності.

В результаті проведеного дослідження уточнено дані щодо факторів високого ризику виникнення прееклампсії, які можна оцінити вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації даного захворювання (анамнестичні фактори та зниження кровоплину в спіральних артеріях матки, які розташовані в області плацентарної площадки).

Встановлено, що у вагітних з прееклампсією проявились явища імуносупресії і клітинно-гуморального дисбалансу: достовірне зниження вмісту Т-хелперів при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів, падіння кількості В-клітин і пов'язане з цим зниження рівня IgG ($r=0,58$ $P<0,01$). Виявлено суттєве зростання кількості циркулюючих імунних комплексів.

Доведено значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF- γ (в 1,5 рази) та TNF- α (в 2,6 рази) при достовірному зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10 (в 1,9 рази) порівняно із здоровими вагітними; ці зміни у вагітних в II та ранній фазі III триместру вагітності сприяють порушенню правильного співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плаценті на користь субпопуляції M1 (тоді як у здорових вагітних в цьому терміні повинні переважати децидуальні макрофаги субпопуляції M2). Знайдені достовірні кореляції між підвищеним вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок з прееклампсією та зростанням концентрації в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Обґрунтовані можливість і доцільність використання в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності в якості маркерів високої вірогідності виникнення в подальшому прееклампсії: анамнестичні фактори ризику; надлишкова вага тіла; виявлення при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності збільшення індексу резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до величини 0,7 і більше (в подальшому у 71% таких жінок виникає прееклампсія); зростання рівня циркулюючих імунних комплексів в крові в цьому ж терміні вагітності більше 100 од/мл (вірогідність виникнення прееклампсії становить 67%); зниження рівнів Т-хелперів (CD4+) та В-лімфоцитів (CD22+) в крові вагітних.

Патогенетично обґрунтовано застосування вторинної профілактики прееклампсії у жінок групи високого ризику по її виникненню шляхом відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляція диференціації фенотипу M2) впливом на вироблення факторів їх індукції (пригнічення продукції iNOS та прозапального цитокіну INF- γ для субпопуляції M1 та активації функціонування аргінази і вироблення протизапального цитокіну IL-10 – для субпопуляції M2). Для цього, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, були застосовані: метформін, який пригнічує транслокацію нуклеарного фактора транскрипції (NF-kB), що призводить до зменшення вироблення прозапальних цитокінів та зниження диференціації M1-макрофагів; активна форма вітаміну D₃ (1,25[OH]2D), який не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1; корвітин, діючою речовиною якого є кверцетин, що гальмує продукцію прозапальних цитокінів та змінює баланс ендотеліальних вазоактивних речовин на користь вазодилататорів, за рахунок чого зростає регіональний кровоплин, в тому числі в спіральних артеріях матки.

Доведено, що застосування запропонованого нами методу вторинної профілактики виникнення прееклампсії у вагітних групи високого ризику по даному захворюванню призвело до позитивних змін у роботі системи імунітету, обміну оксиду азоту в цервікальному слизу та нормалізації диференціації децидуальних макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2 з відповідним покращенням клінічних наслідків: попередження порушень кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, зниження частоти маніфестації прееклампсії у вагітних групи високого ризику в 1,4 рази, зменшення частоти передчасних розроджень в 2,2 рази та асфіксії новонароджених – в 4 рази, зменшення народження дітей з екстремально низькою масою тіла – в 2,1 рази.

Ключові слова: імунітет, децидуальні макрофаги, цитокіни, індукцибельна NO-синтаза, аргіназа, індекси судинного опору, прееклампсія, вагітність.

SUMMARY

Vaschenko V.L. Clinical and immunological mechanisms of macrophagal imbalance formation in preeclampsia and optimization of approaches to its secondary prevention. – On the manuscript basis.

Thesis for the scientific degree Doctor of Philosophy in specialty 222 – Medicine - Poltava State Medical University of the Ministry of Public Health of Ukraine, Poltava, 2021.

The thesis is devoted to the study of the influence of polarization disorders of decidual macrophages on the manifestation and severity of preeclampsia and the development of effective measures for its secondary prevention.

Decidual macrophages play a significant role in both physiological and pathological course of pregnancy due to their plasticity and immunosuppressive properties, participation in tissue and vascular remodeling, and the ability to form local adaptive immunity. However, at present, there are no sufficient data on the features of levels of cytokines, nature of phenotypic and morpho-functional changes of macrophages, the ratio of decidual macrophages subpopulations in physiological and pathological course of pregnancy, which limits the understanding of the pathogenetic role of M1 and M2 decidual macrophages in preeclampsia. This determines the need to develop ways of secondary prevention of the disease, which would allow us to develop effective management of pregnant women with preeclampsia, aimed at normalizing the balance of subpopulations of decidual macrophages to reduce maternal and perinatal morbidity and mortality.

The study specified the data on high risk factors for preeclampsia, which can be assessed as early as 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy, long before the clinical manifestation of the disease (anamnestic factors and decreased blood flow in the spiral arteries of the uterus, located in the placental area).

It was found that pregnant women with preeclampsia demonstrated the effects of immunosuppression and cell-humoral imbalance: a significant decrease in the content of T-helpers with increasing concentrations of T-suppressors/killers, a decrease in the number of B cells and the associated decrease in IgG ($r=0.58$; $P<0.01$). There was a significant increase in the number of circulating immune complexes.

The study proved a significant increase in the levels of pro-inflammatory cytokines INF- γ (by 1.5 times) and TNF- α (by 2.6 times) with a significant decrease in the concentration of anti-inflammatory cytokine IL-10 (by 1.9 times) as compared to healthy pregnant women; these changes in pregnant women in the second and early phase of the third trimester of pregnancy contribute to the disruption of the correct ratio of decidual M1 and M2 macrophages subpopulations in the placenta in favor of the M1 subpopulation (whereas in healthy pregnant women, this period should be dominated by decidual macrophages of the M2 subpopulation). Significant correlations were found between the increased content of macrophages of the M1 subpopulation in the placenta of women with preeclampsia and the increase in the concentration of pro-inflammatory cytokine INF- γ ($r=0.65$; $P<0.05$) and inducible NO synthase in the cervical mucus ($r=0,59$; $P<0.05$). There were also significant correlations between the decrease in the content of macrophages of the M2 phenotype in the placenta of such women and the decrease in the level of anti-inflammatory cytokine IL-10 ($r=0.49$; $P<0.05$) and the decrease in arginase activity in cervical mucus ($r=0.60$; $P<0.02$).

The thesis substantiated the possibility and expediency of using the following data in 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy as markers of high probability of subsequent preeclampsia: anamnestic risk factors; detection by ultrasound at 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy an increased resistance index in the spiral arteries of the uterus in the placental area up to a value of 0.7 or more (subsequently, 71% of such women have preeclampsia); an increase in the level of circulating immune complexes in the blood in the same period of pregnancy more than 100 units/ml (the probability of preeclampsia is 67%); a decrease in the levels of T-helpers (CD4+) and B-lymphocytes (CD22+) in the blood of pregnant women.

The use of secondary prevention of preeclampsia in women at high risk of its occurrence by restoring the correct differentiation of subpopulations of decidual macrophages (inhibition of M1 phenotype production and stimulation of M2 phenotype differentiation) is pathogenetically substantiated by influencing the production of factors of their induction (inhibition of iNOS and pro-inflammatory cytokine INF- γ for M1 subpopulation and activation of arginase function and

production of anti-inflammatory cytokine IL-10 – for M2 subpopulation). For this purpose, starting from 18-20⁺⁶ weeks of pregnancy, the following agents were used: metformin, which inhibits the translocation of nuclear transcription factor (NF-kB) that decreases the production of pro-inflammatory cytokines and reduces the differentiation of M1 macrophages; active form of vitamin D3 (1.25[OH]2D), which not only promotes the differentiation of M2 macrophages, but also inhibits the differentiation of M1 macrophages; corvutin, whose active substance is quercetin, which inhibits the production of pro-inflammatory cytokines and changes the balance of endothelial vasoactive substances in favor of vasodilators, thereby increasing regional blood flow, including in the spiral arteries of the uterus.

It was proved that the application of the proposed method for secondary prevention of preeclampsia in pregnant women at high risk for this disease has led to positive changes in the immune system, nitric oxide metabolism in cervical mucus and normalization of differentiation of decidual macrophages in the placenta in favor of the M2 subpopulation with a corresponding improvement in clinical consequences: prevention of blood flow disorders in the uterine-placental-fetal system, reducing the incidence of preeclampsia in high-risk pregnant women by 1.4 times, decreasing the incidence of premature births by 2.2 times and asphyxia of newborns – by 4 times, reducing the birth of children with extremely low weight body – by 2.1 times.

Key words: immunity, decidual macrophages, cytokines, inducible NO-synthase, arginase, vascular resistance indices, preeclampsia, pregnancy.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті:

1. Makarov O, Likhachov V, Taranovskaya O, Dobrovolska L, Vashchenko V. Role of uterine blood flow disturbances in the development of late gestosis (Роль порушень маткового кровотоку у розвитку пізнього гестозу). *Wiadomosci Lekarskie*. 2018; LXXI (9):1719-1721. (Scopus). *(Аспіранткою проведено клінічні спостереження, аналіз та узагальнення результатів дослідження)*.
2. Likhachov V, Vashchenko V, Shymanska Ya. Features of structure and functions of decidual macrophages in healthy pregnancy and preeclampsia (Особливості будови та функції децидуальних макрофагів у здорових вагітних та у жінок з преєклампсією). *Проблеми екології та медицини*. 2019; 23 (5-6):50-55. *(Аспіранткою проведено пошук та узагальнення наукової літератури по даній темі, підготовка статті до друку)*.
3. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Тарановська ОО. Перебіг вагітності та її завершення у жінок групи високого ризику по виникненню преєклампсії. *Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020; Том 20. Випуск 1 (69):106-110. *(Аспіранткою проведено клінічні спостереження, аналіз та узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка статті до друку)*.
4. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Добровольська ЛМ, Тарановська ОО. Вплив вторинної профілактики розвитку преєклампсії у жінок групи високого ризику на показники фетоплацентарного кровотоку. *Вісник проблем біології і медицини*. 2020; 3 (157):94-97. *(Аспіранткою проведено клініко-лабораторні спостереження, аналіз результатів дослідження, їх статистична обробка)*.
5. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Акімов ОЄ, Тарановська ОО. Фактори диференціації децидуальних макрофагальних субпопуляцій M_1 та M_2 у вагітних з преєклампсією, порушення їх співвідношення та пошуки шляхів корекції. *Вісник Української медичної стоматологічної академії*.

Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020; Том 20. Випуск 3 (71):14-19. *(Аспіранткою виконані клінічні спостереження, проведений забір матеріалів для лабораторного та імуногістохімічного дослідження, проаналізовано отримані результати).*

6. Ліхачов ВК, Ващенко ВЛ, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Макаров ОГ. Зміни показників клітинно-гуморального імунітету та рівень про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії. Світ медицини та біології. 2021; 2 (76):79-83. (Web of Science) *(Аспіранткою проведені клінічні спостереження, виконаний забір матеріалів для лабораторного аналізу та узагальнення результатів дослідження, їх статистична обробка, підготовка статті до друку).*

Патенти:

1. Ліхачов ВК, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Ващенко ВЛ.

Спосіб доклінічного прогнозування прееклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Патент України на корисну модель №132404, МПК А61В 17/42.- Номер заявки 201809448.-Дата заявки.-19.09.2018.-Чинні права на корисну модель з 25.02.2019.- Оpubліковано 25.02.2019.- Бюл.№4. *(Аспіранткою проведена частина клінічних спостережень, підготовка документації, що подавалась в патентний відділ УМСА).*

Нововведення

- 1.Ліхачов ВК, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Ващенко ВЛ.

Спосіб доклінічного прогнозування прееклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я (Випуск 6).- Київ,2020.- Реєстровий №21/06/19.- С.22. *(Аспіранткою проведені клінічні спостереження, підготовка документації, що подавалась в патентний відділ УМСА).*

Матеріали, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Стендова доповідь на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання післядипломної медичної освіти та клінічної медицини», присвяченої 25-річчю Навчально-наукового інституту післядипломної освіти Української медичної стоматологічної академії 16 жовтня 2018 року, Полтава. Стендова доповідь Ващенко В.Л., Тарановської О.О. «Особливості преплацентарного кровотоку у вагітних з прееклампсією».
2. Доповідь на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2018» 16 листопада 2018 року, Полтава. Доповідь Ващенко В.Л. «Фактори ризику розвитку прееклампсії».
3. Стендова доповідь на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні педіатричні питання громадського здоров'я» 31 жовтня - 01 листопада 2019 року, Полтава. Стендова доповідь Тарановської О.О., Ліхачова В.К., Ващенко В.Л. «Здоров'я вагітних з прееклампсією: клініко-анамнестичні паралелі».
4. Доповідь (усна) на Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій Міжнародному дню передчасно народженої дитини «Полтавські перинатальні читання ім. Н.М. Максимовича-Амбодика», «Реалії надання перинатальної допомоги в умовах реформування галузі охорони здоров'я України» 29-30 листопада 2019 року, Полтава. Доповідь В.Л. Ващенко «Прееклампсія: перинатальні наслідки».
5. Доповідь (усна) на Всеукраїнській науково-практичній онлайн конференції з міжнародною участю «II Полтавські перинатальні читання ім. Н.М. Максимовича-Амбодика», присвяченій 100-річчю Української медичної стоматологічної академії «Перинатальна допомога в умовах реформування системи охорони здоров'я України: проблеми і перспективи» 27-28 листопада 2020 року, Полтава. Доповідь В.Л. Ващенко «Особливості клітинно-гуморального імунітету та балансу про- і протизапальних цитокінів у жінок з прееклампсією».
6. Стендова доповідь на Всеукраїнській науково-практичній онлайн конференції з міжнародною участю «II Полтавські перинатальні читання ім.

Н.М. Максимовича-Амбодика», присвяченій 100-річчю Української медичної стоматологічної академії «Перинатальна допомога в умовах реформування системи охорони здоров'я України: проблеми і перспективи» 27-28 листопада 2020 року, Полтава. Стендова доповідь «Особливості поляризації децидуальних макрофагів M_1 та M_2 у вагітних з прееклампсією».

ЗМІСТ

<i>Анотація</i>	2
<i>Список опублікованих праць за темою дисертації</i>	8
<i>Зміст</i>	12
<i>Перелік умовних позначень, символів, одиниць, скорочень</i>	14
<i>Вступ</i>	15
<i>Розділ 1. Особливості діяльності імунної системи при фізіологічній вагітності та при її ускладненні прееклампсією (Огляд літератури).</i>	23
1.1. Особливості функціонування імунної системи у вагітних	23
1.2. Сучасні теорії етіопатогенезу прееклампсії	28
1.3. Механізми розвитку прееклампсії	33
1.4. Особливості будови та функції децидуальних макрофагів	36
1.5. Співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів у вагітних з прееклампсією	42
<i>Розділ 2. Матеріали та методи дослідження.</i>	47
2.1. Загальний дизайн дослідження	47
2.2. Застосований метод вторинної профілактики виникнення прееклампсії	51
2.3. Методи дослідження	56
2.3.1. Клініко-лабораторний метод	56
2.3.2. Мікробіологічні методи дослідження	56
2.3.3. Імунологічні методи дослідження	57
2.3.4. Дослідження активності індукбельної NO-синтази та загальної аргіназної активності в слизу цервікального каналу	59
2.3.5. Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині	60
2.3.6. Ультразвукові методи контролю функціонування фетоплацентарного комплексу	62
2.3.7. Методи статистичної обробки даних	64
<i>Розділ 3. Загальна клінічна характеристика обстежених жінок</i>	67
3.1. Анамнез, перебіг вагітності та пологів у жінок контрольної групи	71
3.2. Анамнез вагітних основної групи	72
3.3. Перебіг даної вагітності та її завершення у обстежених жінок першої та другої основних груп	85

<i>Розділ 4. Механізми змін діяльності імунної системи і поляризації децидуальних макрофагів у здорових вагітних, у жінок з преєклампсією та їх вплив на маніфестацію і ступінь тяжкості даного захворювання</i>	100
4.1. Особливості фетоплацентарного кровотоку у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії	101
4.2. Зміни показників клітинно-гуморального імунітету у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії	107
4.3. Рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії	113
4.4. Зміни активності індубельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії	116
4.5. Співвідношення децидуальних макрофагів субпопуляцій M1 та M2 в плацентах породіль, які перенесли преєклампсію під час вагітності	119
<i>Розділ 5. Шляхи оптимізації вторинної доклінічної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню</i>	127
5.1. Патогенетичне обґрунтування вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню	127
5.2. Вплив запропонованих профілактичних заходів на показники фетоплацентарного кровотоку, частоту акушерських та перинатальних ускладнень у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії	135
5.3. Стан показників клітинно-гуморального імунітету в крові, рівень про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню гестозу в порівнянні традиційної та запропонованої нами профілактики преєклампсії	142
5.4. Ефективність корекції порушень активності iNOS та аргінази в цервікальному слизу у вагітних з високим ризиком розвитку преєклампсії	148
5.5. Вплив запропонованої комплексної вторинної профілактики преєклампсії на процеси врегулювання механізмів поляризації децидуальних макрофагів у вагітних групи високого ризику по виникненню гестозу.	151
<i>Розділ 6. Аналіз та узагальнення отриманих результатів дослідження</i>	158
<i>Висновки</i>	188
<i>Практичні рекомендації</i>	191
<i>Список літератури</i>	192

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ

АГ – артеріальна гіпертензія

АФК – активні форми кисню

БПП – біофізичний профіль плода

ЗРП – затримка розвитку плода

ІР – індекс резистентності

ІМТ – індекс маси тіла

ІСО – індекси судинного опору

ІФА – імунофлюоресцентний аналіз

КТГ – кардіотокографія

МПК – матково-плодовий кровоплин

ПІ – пульсаційний індекс

С/Д – систоло-діастолічне співвідношення

СМАП – середня мозкова артерія плода

УЗД – ультразвукове дослідження

ФПК – фетоплацентарний кровоплин

ЦІК – циркулюючі імунні комплекси

CD3+ – загальна кількість лімфоцитів

CD4+ – Т-хелпери

CD8+ – Т-супресори/кілери

CD22+ – В-клітини

Ig – імуноглобуліни

IL-10 – протизапальний цитокін інтерлейкін 10

eNOS – ендотеліальна NO-синтаза

INF γ – прозапальний цитокін інтерферон γ

iNOS – індуцибельна NO-синтаза

M1 – субпопуляція децидуальних макрофагів M1

M2 – субпопуляція децидуальних макрофагів M2

TNF α – прозапальний цитокін фактор некрозу пухлин α

ВСТУП

Актуальність теми. Незважаючи на велику кількість наукових праць з діагностики і профілактики преєклампсії, частота вагітностей і пологів, ускладнених гестозом, в Україні та світі становить від 7 до 16% і не має тенденції до зниження, а в структурі материнської смертності вони займають 3–4 місця [12,23,29,52,261]. На сьогоднішній день запропоновано понад 30 теорій розвитку преєклампсії [8,60,96]. Це обумовило розробку великої кількості схем інтенсивної терапії цієї патології [8,9,49,52,75]. На жаль, аналіз незадовільних результатів терапії преєклампсії свідчить про відсутність ефективних методів профілактики та лікування цієї складної патології [8,9,96].

Прогресування тяжкості преєклампсії та відсутність ефекту від лікування чи неадекватна її терапія часто обумовлює необхідність дострокового розродження, у зв'язку з чим передчасно народжені діти страждають на функціональну незрілість, гіпорексфію, м'язеву гіпотонію, гіпоглікемію. Збільшується частота випадків синдрому дихальних розладів, вегетативних дисфункцій, судомного синдрому, різних гастроінтестинальних, серцево-судинних, гемодинамічних розладів, порушення функції печінки, набрякового синдрому, а також порушення співвідношення факторів клітинного та гуморального імунітету [8,9,16]. Перинатальна смертність при тяжких не корегованих формах преєклампсії складає 53-100 % [29,52,75,128,148].

Тож з'ясування особливостей патогенезу, виявлення провідних пускових моментів та розробка комплексу профілактичних заходів при преєклампсії і наразі залишається актуальним, бо має на меті зменшення відсотка важких органних і поліорганних порушень у вагітних, роділь, породіль та їх дітей.

Патологічна плацентация з порушенням інвазії трофобласту у спіральні артерії матки неминуче спричиняє розвиток і подальше прогресування вазоконстрикції та ендотеліальної дисфункції [28,32,34,111,164,225]. Саме вони є пусковим механізмом, що призводять до гіповолемії, порушень реологічних властивостей крові та гіперкоагуляції, які неминуче результуються в розвиток поліорганної недостатності та преєклампсії [64,72,75]. При цьому не вирішеним на сьогодні залишається питання: чому маніфестація клінічних проявів

пreeкламписії здебільшого відбувається в II половині гестаційного процесу, хоча інвазія трофобласту вважається завершеною вже в 16-18 тижнів вагітності? Відповідь на це питання потребує подальших досліджень і, на нашу думку, вона полягає у площині імунологічних взаємовідносин між організмом матері та плоду.

У формуванні діалогу «мати-плід» приймають участь децидуальні макрофаги (ДМФ). Кількість ДМФ підвищується в I триместрі вагітності, потім залишається сталою в II триместрі і знову підвищується під час розвитку пологової діяльності [36,65,155,174,175,176]. Активація і незбалансована диференціація децидуальних макрофагів може підвищувати продукцію різноманітних медіаторів, в тому числі таких, що спонукають до формування ендотеліальної дисфункції та гестозу [65,79,80,101,160,188,189,214].

Роль макрофагальної поляризації в контексті розвитку пreeкламписії на сьогоднішній день достатньо не вивчена, тож детальний аналіз цього питання, виявлення факторів, які впливають на диференціацію ДМФ та їх баланс у жінок з пreeкламписією, буде мати велике значення для поглиблення наших знань щодо механізмів виникнення пreeкламписії та її профілактики і лікування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота є фрагментом ініціативної НДР кафедри акушерства і гінекології №2 Полтавського державного медичного університету «Роль хронічного інфікування матки та нижніх відділів статевих шляхів у формуванні акушерської та гінекологічної патології» (номер держреєстрації 0117U005276, термін виконання – 2017-2022 роки).

Мета дослідження: Виявити вплив порушення поляризації децидуальних макрофагів на маніфестацію і ступінь тяжкості пreeкламписії та розробити ефективний метод її вторинної профілактики.

Завдання дослідження:

1. Виділити групу вагітних високого ризику по виникненню пreeкламписії за анамнестичними даними та результатами виявлення зниження інтенсивності кровопливу в спіральних артеріях матки в області

плацентарної площадки під час другого ультразвукового скринінгу (в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності).

2. Дослідити особливості фетоплацентарного кровотоку у вагітних групи високого ризику виникнення прееклампсії в II та в ранній фазі III триместру вагітності.
3. Визначити зміни показників клітинно-гуморального імунітету в крові та рівнів про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику виникнення прееклампсії в II та в ранній фазі III триместру вагітності.
4. Провести порівняльний аналіз активності індукцибельної NO-синтази та аргінази в слизу цервікального каналу обстежених вагітних і співставити їх з наявними особливостями диференціації децидуальних макрофагів субпопуляцій M1 та M2 в плацентах цих жінок.
5. Розробити патогенетично обґрунтований метод вторинної профілактики прееклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню та проаналізувати ефективність методу як в патогенетичному, так і клінічному аспектах.

Об'єкт дослідження: вагітні жінки з високим ризиком виникнення прееклампсії.

Предмет дослідження: ускладнений акушерсько-гінекологічний анамнез, клінічні прояви та наслідки прееклампсії, матково-плацентарно-плодовий кровоплин, клітинно-гуморальний імунітет з вивченням балансу про- та протизапальних цитокінів, особливості обміну оксиду азоту в цервікальному слизу, співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів в плаценті вагітних з високим ризиком виникнення прееклампсії.

Методи дослідження: Для вирішення поставлених задач були використані методи дослідження, що дозволили отримати дані про інтенсивність кровоплину в маткових, спіральних артеріях, судинах пуповини та середній мозковій артерії плода, біофізичний профіль плода. Визначались показники загального та місцевого імунного статусу організму вагітних, включаючи дослідження рівня про- та протизапальних цитокінів у

цервікальному слизу. Досліджувалась активність індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу залежно від терміну та перебігу вагітності. Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSDHealthCare» (м.Київ), яка є членом європейської системи контролю якості NordiQC. Оцінювалась ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку прееклампсії.

Наукова новизна отриманих результатів. Уточнено наукові дані щодо факторів високого ризику виникнення прееклампсії, які можна оцінити вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (анамнестичні фактори та зниження кровоплину в спіральних артеріях матки, які розташовані в області плацентарної площадки), задовго до клінічної маніфестації даного захворювання.

Встановлено, що у вагітних з прееклампсією проявились явища імуносупресії і клітинно-гуморального дисбалансу: достовірне зниження вмісту Т-хелперів при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів, падіння кількості В-клітин і пов'язане з цим зниження рівня IgG ($r=0,58$; $P<0,01$). Виявлено суттєве зростання кількості циркулюючих імунних комплексів, при чому при рівні ЦІК вище 100 од/мл частота виникнення прееклампсії становила 67% ($P<0,001$).

Вперше доведено значне зростання у жінок з високим ризиком виникнення прееклампсії рівнів прозапальних цитокінів INF- γ (в 1,5 рази) та TNF- α (в 2,6 рази) при достовірному зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10 (в 1,9 рази) в цервікальному слизу порівняно із здоровими вагітними. Вперше виявлено, що у вагітних з прееклампсією має місце дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із зростанням активності індукцибельної NO-синтази в 2,6 рази ($P<0,001$) при одночасному падінні активності аргінази (в 1,9 рази) ($P<0,001$). Вперше показано, що ці зміни у вагітних високого ризику виникнення прееклампсії в II та ранній фазі III триместру вагітності сприяють порушенню правильного співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плаценті на користь субпопуляції M1 (тоді як у здорових вагітних в цьому терміні повинні

переважати децидуальні макрофаги субпопуляції M2). Знайдені достовірні кореляції між підвищеним вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок з преєклампсією та зростанням концентрації в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Обґрунтований метод вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню шляхом медикаментозного пригнічення диференціації фенотипу M1 та стимуляції диференціації фенотипу M2, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

Практичне значення отриманих результатів. Обґрунтовані можливість і доцільність використання в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності в якості маркерів високої вірогідності виникнення в подальшому преєклампсії: анамнестичні фактори ризику (в першу чергу, наявність преєклампсії при попередніх пологах, сімейний анамнез преєклампсії, хронічна артеріальна гіпертензія, перинатальні втрати в анамнезі та надлишкова вага жінки і ожиріння); виявлення при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності збільшення індексу резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до величини 0,7 і більше (в подальшому у 71% таких жінок виникає преєклампсія; $P<0,01$); зростання рівня циркулюючих імунних комплексів в крові в цьому ж терміні вагітності більше 100 од/мл (вірогідність виникнення преєклампсії становить 67%; $P<0,001$); зниження рівнів Т-хелперів (CD4+) в крові вагітних.

Патогенетично обґрунтовано застосування вторинної профілактики преєклампсії у жінок групи високого ризику по її виникненню шляхом відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляція диференціації фенотипу M2) впливом на вироблення факторів їх індукції (пригнічення продукції iNOS та прозапального цитокіну INF- γ для субпопуляції M1 та активації функціонування аргінази і вироблення протизапального цитокіну IL-10 – для

субпопуляції M2). Для цього, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, були застосовані: метформін, який пригнічує транслокацію нуклеарного фактора транскрипції (NF- κ B), що призводить до зменшення вироблення прозапальних цитокінів та зниження диференціації M1-макрофагів; активна форма вітаміну D (1,25[OH]2D), який не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1; корвітин, діючою речовиною якого є кверцетин, що гальмує продукцію прозапальних цитокінів та змінює баланс ендотеліальних вазоактивних речовин на користь вазодилататорів, за рахунок чого зростає регіональний кровоплин, в тому числі в спіральних артеріях матки.

Застосування запропонованого нами методу вторинної профілактики виникнення преєклампсії у вагітних групи високого ризику по даному захворюванню призвело до значних позитивних змін у роботі системи імунітету, обміну оксиду азоту в цервікальному слизу та нормалізації диференціації децидуальних макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2 з відповідним покращенням клінічних наслідків: попередження порушень кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, зниження частоти маніфестацій преєклампсії в 1,4 рази ($P < 0,05$), передчасних пологів – в 2,2 рази ($P < 0,05$), асфіксії новонароджених – в 4 рази ($P < 0,05$), народжень дітей з екстремально низькою вагою – в 2,1 рази ($P < 0,05$).

Впровадження результатів дослідження в практику. Основні результати дисертаційного дослідження впроваджено в клінічну практику жіночих консультацій м. Полтава №2, №3 та №4, Перинатального центру КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР», КП «Міський клінічний пологовий будинок ПМР» м. Полтава, «Кременчуцького перинатального центру II рівня», Обласного перинатального центру (Запорізької обласної ради). Положення, викладені в матеріалах дисертації, використані в навчальному процесі кафедри акушерства і гінекології №2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава) та кафедри акушерства і гінекології Запорізького державного медичного університету (м. Запоріжжя).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота виконана на кафедрі акушерства і гінекології №2 Полтавського державного медичного університету (м. Полтава). Здобувачем самостійно, на основі аналізу літератури, було визначено науковий напрямок і методологію проведення досліджень, здійснений патентно-інформаційний пошук за темою дисертації. Автором, разом із науковим керівником, сформульовані мета і завдання дослідження. Особисто проведено загальноклінічні дослідження. Інструментальні та лабораторні обстеження виконані автором спільно із співробітниками клінічної, бактеріологічної та імунологічної лабораторій КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР». Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSD Health Care» (м. Київ).

Сумісно з науковим керівником проаналізовані результати проведеного дослідження. Обгрунтоване використання в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності маркерів високої вірогідності виникнення в подальшому преєклампсії та комплекс заходів вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику її виникнення. Усі розділи дисертації автором написані самостійно, проведені статистична обробка і аналіз отриманих результатів, сформульовані висновки і практичні рекомендації, підготовлені статті до публікації в журналах і висвітлені на наукових конференціях результати досліджень.

Апробація результатів дослідження. Основні положення дисертаційної роботи доповідались на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання післядипломної медичної освіти та клінічної медицини», присвяченої 25-річчю Навчально-наукового інституту післядипломної освіти Української медичної стоматологічної академії (16 жовтня 2018 року, Полтава), на Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих учених «Медична наука – 2018» (16 листопада 2018 року, Полтава), на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні педіатричні питання громадського здоров'я» (31 жовтня - 01 листопада 2019 року, Полтава), на Всеукраїнській науково-практичній конференції з

міжнародною участю «Реалії надання перинатальної допомоги в умовах реформування галузі охорони здоров'я України» (29-30 листопада 2019 року, Полтава); на конференції з міжнародною участю «II Полтавські перинатальні читання ім. Н.М. Максимовича-Амбодика», присвяченій 100-річчю Української медичної стоматологічної академії «Перинатальна допомога в умовах реформування системи охорони здоров'я України: проблеми і перспективи» 27-28 листопада 2020 року.

Публікації. За темою дисертації надруковано 8 наукових праць, серед яких 4 статті в наукових фахових виданнях України, 1 стаття в українському журналі, включеному до міжнародної наукометричної бази Web of Science та 1 стаття в закордонному журналі, включеному до міжнародної наукометричної бази Scopus. Отримано деклараційний патент України на корисну модель, опубліковане 1 нововведення.

Текст дисертації аспіранта В.Л.Ващенко згідно діючого Положення, затвердженого в нашому виші, був перевірений на академічну доброчесність (для виключення наявності плагіату). Виявлено, що дисертація Ващенко В.Л. «Клініко-імунологічні механізми формування макрофагального дисбалансу при прееклампсії та оптимізація підходів до вторинної її профілактики» не містить текстових та інших запозичень.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена українською мовою на 218 сторінках друкованого тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3 розділів власних досліджень, розділу, присвяченого аналізу і узагальненню отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел, що включає 274 найменування, з них 147 кирилицею, 127 – латиницею. Робота ілюстрована 25 рисунками, 6 фотографіями та 23 таблицями.

РОЗДІЛ 1

ОСОБЛИВОСТІ ДІЯЛЬНОСТІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ПРИ ФІЗІОЛОГІЧНІЙ ВАГІТНОСТІ ТА ПРИ ЇЇ УСКЛАДНЕННІ ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Особливості функціонування імунної системи у вагітних

У теперішній час вагітність розглядається як стабільний імунологічний стан, що характеризується трьома різними імунологічними фазами [43,83]. На початку гестації відбувається фаза розгортання імунного конфлікту, коли підвищується вміст кількості макрофагів, лімфоцитів і огрядних клітин в базальному шарі ендометрію, зростання ступеня адренергічної іннервації міометрію і еластичних волокон стінок судин. При імплантації і плацентації в організмі жінки розвивається сильна запальна реакція, при цьому відбувається пошкодження тканин ендометрію, формуються кровоносні судини для забезпечення адекватного кровопостачання плаценти і плода [15], тобто в першому триместрі вагітності домінує прозапальна імунологічна фаза [40]. При розгортанні другої імунологічної фази (фази пригніченої імунної відповіді), яка триває проходом II та III триместрів вагітності, мати, плацента і плід симбіотичні, а переважаючими імунологічними функціями є індукція протизапальної імунної відповіді [138]. В цей період відбувається подальше зростання кількості імунорегуляторних клітин: макрофагів, лімфоцитів, пігментовмісних клітин в децидуальному шарі плаценти [43,83]. Остання імунологічна фаза вагітності (фаза напруженого імунного конфлікту) настає перед пологами та характеризується ативним припливом імунних клітин у міометрій, що сприяє скороченню матки, а також супроводжується зменшенням вмісту катехоламінів і серотоніну в клітинних структурах плаценти та матки, збільшенням відсотка дегранулюючих форм огрядних клітин, витісненням медіаторів з їх адренергічних нервових волокон, вираженою аргентафінною реакцією міоцитів і клітин децидуального шару плаценти [141].

Під час гестації виникає рівновага між специфічним і неспецифічним імунітетом матері, при якому центральною клітиною імунологічної адаптації вагітної стає не лімфоцит, а моноцит. В ранньому терміні вагітності

відбувається збільшення кількості лейкоцитів в крові за рахунок моноцитів і гранулоцитів зі збільшенням поглинальної активності макрофагів [36,150].

Під час вагітності співвідношення Т- та В-лімфоцитів істотно не змінюється, хоча абсолютна кількість цих клітин схильна до коливань. Так, на початку гестації абсолютна кількість Т-клітин (CD3+) зменшується, тоді як імунорегуляторні субпопуляції лімфоцитів (CD4+ та CD8+) змінюються різноспрямовано. За рахунок відносного зниження числа Т-хелперів та збільшення числа Т-супресорів/кілерів зменшується імунорегуляторний індекс. Такий стан системної імунної відповіді проявляється вже у I-му триместрі вагітності і триває до останніх її тижнів [150]. Поряд з цим, по мірі прогресування вагітності, відбувається незначуще для імуномодуляції підвищення кількості лімфоцитів. Подальші зміни материнської імунної системи ведуть до активації прогестеронових рецепторів децидуальних клітин і CD8+-лімфоцитів [144]. При достатньому рівні прогестерону ці клітини синтезують прогестерон-індукований блокуючий фактор (ПБФ), який змінює профіль секреції цитокінів активованими лімфоцитами і зрушує баланс лімфоцитів в бік переважання Т-супресорів/кілерів, що є проявом певної загальної імуносупресії в організмі матері під час вагітності [43,83]. Однак імунодефіцитний стан під час вагітності не розвивається, оскільки, незважаючи на стан системної імуносупресії у цей період, у жінки залишається динамічна антиген-специфічна імунна відповідь Т-лімфоцитів. Значна кількість проліферуючих Т-лімфоцитів (CD3+), які здатні розпізнавати антигени плода у крові вагітної, визначається вже на 9-10 тижні гестації. Під час вагітності відбувається сенсibiliзація цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD8+) матері до антигенів тканинної сумісності батька. Ці зміни досягають максимуму в другому триместрі вагітності. Після 30 тижнів вагітності число проліферуючих Т-лімфоцитів знижується і на момент пологів їх кількість нормалізується [40,142].

Щодо гуморальної ланки імунітету при фізіологічній вагітності, то концентрація імуноглобулінів класів А, М і G (натуральні антитіла) у сироватці крові в період гестації суттєво не змінюється. Виявлене зниження концентрації

імуноглобулінів класу G в крові жінок в кінці вагітності відбувається в результаті їх переходу через плаценту до плода [36].

Імплантація плодового яйця і плацентація сприяють активації системи комплементу при фізіологічній вагітності класичним шляхом із збільшенням концентрація їх білків у сироватці крові [110]. У III-му триместрі вагітності збільшується концентрація факторів C3, C4d, C9, sC5b-9, анафілатоксинів та регулюючого чинника H [36,43]. Порушення регуляції в системі комплементу сприяють розвитку ускладнень вагітності (пreekлампсії, затримці розвитку плода, невиношуванню вагітності та передчасним пологам) [137].

Для правильної імплантації заплідненої яйцеклітини і подальшого розвитку ембріона і плода ключовими є локальні регуляторні впливи з боку імунної системи матері. У фетоплацентарному комплексі процеси, які спрямовані на локальну імуносупресію, здійснюються протягом всієї вагітності. На ранніх стадіях вагітності в материнській децидуальній оболонці, яка прямо контактує з трофобластом, присутня велика кількість Т-лімфоцитів, макрофагів, натуральних кілерів (NK-клітини). При цьому 70% децидуальних лейкоцитів складують NK-клітини, макрофаги – до 20-25%, дендритні клітини – 1,7% і Т-лімфоцити – 3-10% від загальної кількості децидуальних імунних клітин [124]. Протягом першого триместру NK-клітини, дендритні клітини і макрофаги проникають в децидуальній оболонку і накопичуються в місці вторгнення клітин трофобласту, де вирішальне значення для інвазії трофобласта в матці мають NK-клітини [114]. Децидуальні NK-клітини експресують на своїй поверхні рецептори як для класичних, так і некласичних молекул HLA класу 1: HLA-C, E, G. Зв'язування рецепторів цих клітин з молекулами HLA в залежності від фенотипу рецепторів супроводжується або активацією, або супресією продукції цитокінів та/або розвитку цитотоксичності [143].

При фізіологічній вагітності, починаючи з ранніх термінів, серед Т-лімфоцитів велику частину складають клітини Th2-типу, які пригнічують реакції клітинного імунітету та впливають на продукцію антитіл класу G. Синтез IgG залежить від рівня плацентарного IL-6: при його нормальному рівні збільшується продукція цих антитіл, що сприяє в захисті антигенів плода проти

агресивних біологічних механізмів імунної відповіді матері [43,83]. Протизапальні цитокіни, які синтезовані клітинами децидуальної тканини, сприяють інвазії та розвитку трофобласта, стимулюють стероїдогенез [144]. Локальні зміни кількості та функціонування лімфоцитів Th2-типу відбуваються під впливом прогестерону, концентрація якого з перших днів вагітності зростає. Гіперпродукція IL-4 і IL-10 на фоні високого рівня естрогенів та простагландину E пригнічує активність Th1-типу, що проявляється зменшенням синтезу IL-2, IFN γ і TNF α , тобто тих цитокінів, які здатні перервати вагітність з відторгненням заплідненої яйцеклітини [115]. Найбільша кількість IL-4 продукується імунними клітинами плаценти, клітинами материнської децидуальної оболонки, цитотрофобластом та ендотеліальними клітинами спіральних артерій матки. Локальна продукція протизапальних цитокінів реалізується лімфоцитами, які знаходяться в плаценті, що сприяє синтезу факторів росту плаценти, таких як колонієстимулюючий фактор (CSF-I) і гранулоцитарно-макрофагальний колонієстимулюючий фактор (GM-CSF). Синтез клітинами плаценти трансформуючого фактору росту бета (TGF β) викликає потужну імуносупресію NK-клітин, знижуючи їх потенціал як можливих реалізаторів переривання вагітності [83,138].

Лімфоцити Th1-типу активують В-лімфоцити і сприяють синтезу цитотоксичних IgG2, які діють цитотоксично на клітини трофобласту. Цитокіни Th1-типу (IL-2, IFN γ , TNF α) порушують розвиток ембріона і зростання трофобласту, а TGF- β гальмує інвазію трофобласту, депозицію позаклітинного матриксу та продукцію цитокінів макрофагами. Цитокіни Th1-типу, якщо вони виробляються клітинами плаценти в високих концентраціях, надходять в кров і викликають системну супресію цитотоксичної відповіді та активацію факторів природного імунітету [36, 83,137].

Крім того, Т-лімфоцити під час вагітності спроможні продукувати фактор, інгібуючий лейкемію (LIF). Відомо, що LIF відіграє необхідну роль в підготовці ендометрію до імплантації і подальшого розвитку плода. В умовах недостатньої продукції LIF навіть нормальна бластоциста не здатна імплантуватися в ендометрії [36,40,199].

Велике значення для фізіологічного перебігу вагітності має баланс про- і протизапальних цитокінів. На початку гестації стимуляція їх продукції ініціює процеси васкуляризації і кровопостачання ендометрія, що необхідно для успішної імплантації і плацентації [25,26,58]. При цьому прозапальні цитокіни синтезуються в незначній кількості, забезпечуючи динамічну рівновагу між процесами інвазії і відторгнення трофобласту. Протизапальні цитокіни сприяють формуванню плаценти, процесам ангиогенезу в ній, модуляції інвазії і диференціювання трофобласту і пригнічення прозапальних цитокінів. [144,249,273].

Тобто, найбільшого значення в розвитку вагітності в ранні терміни має активація цитокін-опосередкованої супресії, яка обумовлена зміщенням цитокінового балансу в бік продукції Th2-типу. Вони інгібують простагландини та прозапальну цитокінову продукцію моноцитами, регулюючи їх активність та Т-цитотоксичність. Особливе значення в цей період вагітності мають цитокіни IL-4 та IL-10, що сприяють генерації регуляторних Т-клітин з супресорною активністю, які відіграють важливу роль у формуванні успішного гестаційного процесу. Збільшення продукції IL-4 в процесі гестації пригнічує реакції Th1-типу із зниженням синтезу IFN γ і IL-12. Зростання концентрації в крові IL-10 надає протективний вплив експресії HLA-G молекул на мембранах клітин трофобласту, необхідних для успішної імплантації ембріона [36,83,124,273]. Зниження ж рівня IL-4 і IL-10 сприяє розвитку запального процесу і в залежності від вираженості дефіциту цих цитокінів, терміну вагітності і системних та локальних ефектів, може призвести до різноманітних гестаційних ускладнень, в тому числі до виникнення прееклампсії [141].

Після 37 тижнів фізіологічної вагітності підвищується рівень прозапальних цитокінів (в першу чергу, IL-6), при збереженні концентрації TNF α у сироватці крові та зменшенні рівня протизапального цитокіну IL-10 [114,144]. При порушенні адекватної перебудови цитокінового балансу в цей термін гестації на користь прозапальних цитокінів можуть виникнути ускладнення пологового процесу [58,142,180].

Таким чином, в організмі здорової вагітної жінки існує генетично запрограмований імунний механізм, що забезпечує зниження імунних реакцій до імплантованої бластоцисти, ембріону і плода. У вагітних жінок формується вторинний клітинний імунодефіцит, що проявляється переважно дефіцитом циркулюючих Т-хелперів/індукторів, зменшенням імунорегуляторного індексу CD4/CD8 та недостатністю функціональної активності Т-клітин. Цитокиновий баланс зміщується в бік імуносупресивних цитокінів, які пригнічують реакції клітинного імунітету і стимулюють вироблення блокуючих антитіл. Кількісний склад цитокінів можна вважати вирішальним для розвитку вагітності. Регуляція синтезу цитокінів в період гестації спрямована на перебудову міжклітинних взаємовідносин, яка повинна забезпечити нормальне функціонування органів і систем материнського організму при виношуванні генетично чужорідного плода.

1.2. Сучасні теорії етіопатогенезу прееклампсії

Прееклампсія – одне з найбільш загрозливих ускладнень вагітності, пологів та післяпологового періоду. Ця патологія є однією з основних складових материнської і перинатальної захворюваності та смертності [23,29,261]. В Україні частота прееклампсії становить 7,0-16% від числа всіх вагітних [52,75].

Прееклампсія – це складний патофізіологічний процес, що включає багаточисельні порушення у роботі нервової, серцево-судинної та ендокринної систем, а також зрушення обміну речовин та імунної відповіді в організмі вагітної жінки з подальшим розвитком поліорганної недостатності [8,73,75,88]. Фактори ризику виникнення прееклампсії включають: молодий та старший репродуктивний вік жінки (до 17 та понад 35 років), наявність соматичних захворювань (хронічна артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, хвороби нирок та печінки), багатоплідна вагітність, сімейний анамнез прееклампсії та прееклампсії в анамнезі, низький рівень освіти та соціального забезпечення, дефіцит маси тіла або ожиріння до вагітності, тривалі фізичні та психоемоційні навантаження, негативний вплив навколишнього середовища, шкідливі звички (тютюнопаління, алкоголізм, наркоманія) [46,49,60,61,139,147,152].

У вагітних з вираженою соматичною патологією прееклампсія виникає в 70,0% випадків з ранньою маніфестацією та тяжким клінічним перебігом [52,64,73,120]. Актуальність прееклампсії обумовлена також тяжкими її наслідками в післяпологовому періоді [5,8,49,75].

При тяжкій прееклампсії перинатальна смертність сягає 30%, а перинатальна захворюваність – 780‰ [9,12,23,156]. Катамнестичний нагляд продемонстрував, що у близько 20% дітей від матерів, які перенесли прееклампсію, мають місце порушення фізичного і психоемоційного розвитку [75].

Натепер в акушерському середовищі обговорюється близько 30 теорій етіопатогенезу прееклампсії. Але поступово формується думка, що кожна з цих теорій є окремою складовою частиною інтегрованого патогенезу даного небезпечного захворювання [8,60,61,96].

Доказаним фактором етіопатогенезу прееклампсії є порушення процесів нidaції плідного яйця та плацентації внаслідок неповноцінної міграції клітин цитотрофобласту в I і на початку II триместру вагітності, під час формування плаценти, з подальшим розвитком ендотеліальної дисфункції [4,20,28,32,50,130]. При фізіологічному перебігу вагітності в I триместрі клітини трофобласта спричиняють формування матково-плацентарних судин, для яких характерні значна ємність, низький судинний опір та порівняно висока стійкість до дії судинозвужуючих агентів. До 10-11 тижнів вагітності клітини трофобласта інвазуються в децидуальні сегменти спіральних артерій матки, в подальшому, в 12-16 тижнів, відбувається друга хвиля інвазії трофобласта із проникненням його клітин в міометральний сегмент спіральних артерій приблизно на $\frac{1}{3}$ товщини міометрія. У жінок з прееклампсією має місце порушення саме другої хвилі інвазії трофобласта в спіральні артерії матки, і недостатня трофобластична модифікація цих артерій призводить до збереження здатності таких судин реагувати на дію пресорних факторів із спазмом цих артерій та відповідним порушенням матково-плацентарної гемодинаміки [8,9,60,96,122].

У виникненні прееклампсії в певних випадках грає роль генетична схильність, так як відомо, що прееклампсія частіше визначається у доньок (причому у першої доньки частіше, ніж у наступних) і внучок жінок з еклампсією в анамнезі, але не у їх невісток. Тобто, прослідковується успадкування ознаки за рецесивним типом, яке залежить від генотипу матері [7,241].

Імунологічна теорія переконує, що прееклампсія виникає в разі порушення імплантації плідного яйця. У здорових вагітних клітини трофобласту взаємодіють з децидуальною оболонкою та з матковими клітинами – натуральними кілерами, змінюють їх цитокіновий профіль, регулюючи адгезію молекул і матричні металопротеїнази [1,13,22,36,219]. Початок розвитку прееклампсії, за імунологічною теорією, є процесом, східним до відторгнення алотрансплантанта [19,38,39,154]. Концепція зміни регуляторних домінант при вагітності спирається на опосередкований вплив Т-хелперів 1-го та 2-го типу (Th_1 , Th_2) на імунну відповідь [54,77]. Th_1 -клітини синтезують прозапальні цитокіни ($IL-1\beta$, $TNF-\alpha$, $INF-\gamma$), стимулюючи тим самим процеси клітинного імунітету. Th_2 -клітини, продукуючи протизапальні цитокіни ($IL-4$, $IL-5$, $IL-10$), гальмують процеси клітинного імунітету та стимулюють гуморальний імунітет. Провідні прозапальні ($TNF-\alpha$, $INF-\gamma$) та протизапальні ($IL-4$ та $IL-10$) цитокіни, що продукуються при цьому, впливають протективно на інвазію трофобластичних клітин в спіральні артерії матки в області плацентарної площадки [36,160,197]. В разі виникнення цитокінового дисбалансу із переважанням продукції прозапальних цитокінів при дефіциті протизапальних, призводить до неповноцінної інвазії трофобласту в спіральні артерії матки з подальшим формуванням системної ендотеліальної дисфункції, яка є провідною складовою порушення функціонування клітин судинного русла [3,36,48,126].

В нормі ендотелій продукує як вазодилатуючі, так і вазоконстрикторні фактори в певному балансі. У жінок, вагітність яких ускладнилась прееклампсією, зменшується синтез вазодилататорів (в першу чергу, ендотелійрелаксуючого фактору) та збільшується виділення ендотеліну

порівняно із вагітними з нормальним артеріальним тиском. Відповідно, порушується баланс між вазоконстрикторами та вазодилататорами, починає переважати судинозвужувальний ефект. Таким чином, ендотеліальна дисфункція зумовлює зниження тканинної перфузії та подальший розвиток поліорганної недостатності [22,28,32,71,80,225].

На поверхні ендотеліальних клітин, як наслідок ушкодження ендотелію судин, збільшується рівень тромбомодуліну та глікопротеїну, що призводить до порушення анти- та прокоагулянтного балансу (посилення антикоагулянтної активності протеїну С, вивільнення активатора плазміногену тканин, нейтралізація тромбінової прокоагулянтної активності) [27,64,72].

Дисбаланс між тромбоксаном і простагліцином (як наслідок ушкодження ендотелію судин) відіграє значну роль у розвитку гестаційної гіпертензії [33,62,70,83,197]. Характерними проявами пошкодження ендотелію судин при преєклампсії є патоморфологічні зміни в судинах матково-плацентарного комплексу і нирок [34,99,106,111,140,164,225].

Крім наведених даних, у вагітних з преєклампсією мають місце й інші патогенетичні порушення діяльності органів і систем організму, які можемо підсумувати наступним чином:

- порушення синтезу оксиду азоту [98,108,208];
- посилення продукції прозапальних цитокінів при зниженні вироблення протизапальних цитокінів [36,126,160];
- дисбаланс судинозвужуючих та судинорозслаблюючих речовин, що виробляє ендотелій, в бік вазопресорів, які сприяють посиленню загального периферичного опору судин і підвищенню артеріального тиску [8,60,80,94,122,225,235];
- спазм ниркових судин та зниження клубочкової фільтрації [60,99,106,127];
- підвищення проникності стінки дрібних артерій та артеріол з посиленням гіповолемії [8,60,71,212];

- надмірний синтез тромбоксану та зменшення продукції простациклінів [71,72,225].

У вагітних з преєклампсією до дисфункції ендотелію часто приєднується системна запальна відповідь – активація гранулоцитів, моноцитів, підвищення вироблення прозапальних цитокінів (TNF- α , IL-6, фосфоліпаза A) [36,83,141,249].

Одними з провідних патогенетичних факторів преєклампсії є порушення центрального та периферичного кровообігу, гіповолемія, відповідно з цим – страждання мікроциркуляції із генералізованою гіпоперфузією в системі мати-плацента-плід [9,60,71,75]. Виражена гіповолемія спричиняє розвиток ДВЗ-синдрому [64,72]. Про незбалансовану діяльність антикоагулянтної системи свідчить, в тому числі, зниження рівня антитромбіну III в крові вагітних, хворих на преєклампсію [71,191].

Зниження кровоплину в матково-плацентарному колі кровообігу [8,62,75] опосередковано спричиняє генералізоване посилення прекапілярного судинного опору. Спазм судин мікроциркуляторного русла, в свою чергу, запускає механізми стазу, агрегації тромбоцитів, вивільнення серотоніну, посилення проникності судинної стінки та подальшого ушкодження життєво важливих органів та тканин організму вагітних з преєклампсією [60,96]. Підвищення опору судин в мікроциркуляторному руслі комбінується з надмірною проникністю судинної стінки, зменшенням об'єму циркулюючої крові внаслідок падіння як об'єму плазми, так і кількості еритроцитів. Ступінь тяжкості преєклампсії прямо пропорційно залежить від гемодинамічних порушень і змін об'ємного та осмотичного гомеостазу [9,15,22,60]. Погіршуються реологічні властивості крові, зменшується колоїдно-онкотичний тиск плазми, прогресує диспротеїнемія [8,9,96]. Порушується кровоплин в судинах нирок, падає клубочкова фільтрація та діурез, від гіпоксії страждають клітини головного мозку, серця, легень, печінки.

1.3. Механізми розвитку прееклампсії

При фізіологічній вагітності відбувається інвазія трофобластів в стінки спіральних судин матки, призводячи до перетворення матково-плацентарних судин в систему низького опору (внаслідок втрати цими судинами м'язевих волокон та еластичних мембран, що спричиняє зникнення здатності судинної стінки реагувати на вазопресорний вплив) та підвищення, за цей рахунок, швидкості кровотоку в них; це забезпечує адекватне кровопостачання фето-плацентарного комплексу [3,18,20,105]. В тому ж випадку, коли інвазія трофобласту в спіральні артерії матки не відбувається, ці артерії зберігають м'язевий та еластичний шари і чутливість до дії вазопресорів, що і призводить до гіпоперфузії плаценти [62,86,98,105,204].

Прееклампсія виникає у тих вагітних, у яких правильно відбувається лише перша хвиля інвазії трофобласту (в децидуальному сегменті спіральних артерій), а друга хвиля інвазії (в міометральному сегменті) неповноцінна [69]. При цьому, під дією вазопресорів, зменшується інтенсивність кровоплину в плаценті із відповідним обмеженням поступлення до плода кисню та поживних речовин. При цьому виникає локальна, а потім – і системна ендотеліальна дисфункція [32,89,91,98,108,204].

У здорових вагітних підвищується активність імунної відповіді організму на циркулюючі в їх крові антигени плода [30,38,39,76,104,173]. Під час вагітності відбувається зміна регуляторних імунних механізмів на фоні впливу Т-хелперів 1-го та 2-го типу (Th_1 , Th_2) із відповідною зміною концентрації протизапальних цитокінів. Th_2 цитокіни (IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10) надають протекторний вплив інвазії трофобласта, а цитокіни типу Th_1 (ФНП- α , IL-2, IL-8, IL-12) сприяють видаленню продуктів апоптозу при цьому процесі [48,54,70,77,95,118,126,136,160]. У жінок з прееклампсією до інтими артерій прикріплюються аутоімунні комплекси, що, разом із вазопресорними впливами, викликають дисфункцію ендотелію, гіпоперфузію плаценти та інших життєвоважливих органів жінки, артеріальну гіпертензію.

Внаслідок ендотеліальної дисфункції, характерної для прееклампсії, підвищується рівень прозапальних цитокінів, що стимулюють виділення

ендотелієм вазопресорів та пригнічують продукцію вазодилітаторів [94,108,109]. Провідна роль при цьому належить ендотелійстимулюючому фактору (ендотеліну-1) і тромбоксану. Підвищення виділення цих вазопресорів клітинами ендотелію спричиняє спазм судин, активацію агрегації тромбоцитів та порушення реологічних властивостей крові. Ці метаболічні зміни сприяють посиленню проникності стінки капілярів для рідкої фракції крові із зниженням об'єму циркулюючої крові [60,72,75,80].

З іншого боку, підвищений рівень гомоцистеїну крові (притаманний преєклампсії) спричиняє прямий токсичний вплив на судинну стінку за рахунок каталізації перикисного окислення ліпідів, збільшення продукції вільних радикалів [11] та тромбоксану A₂, активації тромбоцитів, порушення процесів фібринолізу, що запускає розвиток гіперкоагуляції. Концентрація ж природніх антикоагулянтів (протеїнів C і S та антитромбіну III), навпаки, зменшується [27,72,118,185].

При преєклампсії знижується активність аргінази з відповідним зростанням концентрації нітритів і нітратів [146,149,171,208].

Наявна гіповолемія спричиняє зменшення венозного повернення крові до серця, компенсаторне підвищення опору периферичних судин. Іонно-метаболічні порушення призводять до погіршення скоротливої здатності міокарда, зниження фракції серцевого викиду [8,60,75,127].

В свою чергу, підвищення загального периферичного опору судин призводить до підвищення артеріального тиску та подальшого зниження кровоплину в життєвоважливих органах вагітної та плаценти [107,172,187].

Гіпоперфузія нирок призводить до зниження швидкості клубочкової фільтрації, зменшення кількості ультрафільтрату, що надходить до ниркових каналців. Зростає проксимальна реабсорбція води та солей, що у поєднанні зі зменшенням загальної кількості первинної сечі, спричиняє як затримку вільної води в організмі, так і суттєве зниження діурезу [60,127].

Затримані нирками вода та солі не можуть довго утримуватися в судинному руслі вагітної з преєклампсією, оскільки вся ця затримана рідина швидко переходить до міжклітинного простору. Наростає вираженість

гіповолемії, збільшується спазм артерій мілкового та середнього калібру, прогресує гіперперфузія всіх вітальних органів жінки, зростають прояви поліорганної недостатності [27,57,75,86,89,99,106,107,109,162,187]:

- гіперперфузія нирок → ішемія коркового шару нирок → ниркова недостатність з посиленням затримки води та іонів натрію в організмі, наростаюча протеїнурія; активація ренін-ангіотензинової системи → підвищення рівня альдостерону та ангіотензину-II, що призводить до подальшої вазоконстрикції та затримки рідини;
- гіперперфузія печінки → зниження дезінтоксикаційної та білковоутворюючої функцій → посилення гіповолемії, зменшення онкотичного тиску, кумуляція токсичних речовин в організмі;
- ішемія міокарда → ішемічна кардіоміопатія, що посилює порушення гемодинаміки;
- ішемія головного мозку → дезорганізація зв'язків кори та підкоркового шару головного мозку → підвищення тону судиннорухових центрів → гіпертензивна енцефалопатія, внутрішньомозкові крововиливи, судомна готовність;
- в легенях розвивається інтерстиціальний набряк → внутрішньоальвеолярний набряк → синдром гострого ураження легень;
- порушення матково-плацентарного кровообігу → розвиток дифузійно-перфузійної плацентарної недостатності → гіпоксія та гіпотрофія плода; порушення ендокринної функції плаценти та плацентарного бар'єру → надходження плацентарних антигенів в кровоплин матері → утворення імунних комплексів → відкладення фібріноїда в судинах (ендотеліоз), що посилює ішемію; можливе передчасне відшарування плаценти;
- ушкодження ендотелію та формених елементів крові внаслідок спазму та відкладання ниток фібрину → гемоконцентрація → сладж-синдром → вивільнення надмірної кількості тромбопластину → тромбоз та прогресування ДВЗ-синдрому;

- розлади мікро- та макроциркуляції, гіпоксія тканин → метаболічний ацидоз, з яким поєднується ацидоз респіраторний, що, в сукупності, ще більше посилює прояви гіпоксії.

Потяжчання преєклампсії, неуспішне її лікування, погіршення стану жінки часто обумовлюють необхідність дострокового розродження вагітної. Передчасно народжені діти страждають на функціональну незрілість, м'язеву гіпотонію, гіпоглікемію, синдром дихальних розладів, вегетативні дисфункції. Можуть розвиватися судомний синдром, багаточисельні гастроінтестинальні, серцево-судинні, гемодинамічні розлади. Страждає діяльність печінки, може виникати набряковий синдром [8,9,60,191]. Перинатальна смертність при тяжких некорегованих формах преєклампсії сягає 100% [12,23,128].

1.4. Особливості будови та функції децидуальних макрофагів

Імунологічна толерантність багато в чому залежить від діяльності макрофагів та моноцитів, які в структурі загальної кількості клітин організму людини складають до 15% [81,92,176].

Моноцити утворюються з CD34⁺-мієлоїдних клітин-попередників кісткового мозку та, циркулюючи в системі кровообігу, переходять до різних тканин організму, в яких дозрівають до стану тканинних макрофагів [101,182]. Тканинні макрофаги мають багаточисельні форми: фіксовані і вільні, блукаючі макрофаги (гістіоцити), перитонеальні і плевральні (макрофаги серозних порожнин), альвеолярні, клітини Купфера (макрофаги печінки), гліальні макрофаги та остеокласти [36,65,93,101,112,155,179].

Гістологічно макрофаги мають активно діючий лізосомальний апарат із цитоплазматичними лізосомами та фагосомами; для забезпечення роботи цього апарату на мембрані макрофагів є рецептори для розпізнавання багаточисельних антигенів, біологічно активних речовин [36].

Після диференціації моноцитів в макрофаги вони набувають наступні особливості [36,65]:

- клітини значно зростають в розмірах, до 50 мкм, збільшується кількість мітохондрій в цитоплазмі, піноцитозних везикул, лізосом, структур комплексу Гольджі;

- структурно перебудовується плазматична мембрана з підвищенням числа мікрворсинок, на ній зростає кількість рецепторів до IgG та C3b-компоненту комплементу;

- активність дихальних та лізосомальних ферментів зростає, а вміст пероксидази зменшується;

- значно збільшується метаболічна активність в клітинах, прояви мікробіцидності, зростають прояви адгезії, піно- та фагоцитозу.

Макрофаги активуються класичним та альтернативним шляхами. Перший відбувається за рахунок впливу на макрофаги активованих лімфоцитів Th1 [36,40,65]. Активований Th1-лімфоцит виробляє прозапальні цитокіни (в першу чергу, INF- γ); при цьому на мембрані Th1 експресується ліганд CD40. Ці речовини зв'язуються з конгруентними мембранними рецепторами макрофагів і, таким чином, активують їх. У активованого макрофага [36,40,65,185]:

- ✓ суттєво підвищуються захисні властивості, за допомогою яких він здатний знешкоджувати патогенні агенти;
- ✓ зростає здатність стимулювати імунну відповідь.

Така підвищена захисна здатність активованих макрофагів реалізується за рахунок продукції цією клітиною значної кількості активних форм кисню (АФК) та оксиду азоту (NO), які забезпечують цитотоксичний вплив макрофага на патогенні агенти. Збільшення вироблення оксиду азоту забезпечується активацією індукцибельної NO-синтази (iNOS). На мембрані активованого макрофага також підвищується швидкість експресії CD40 та рецепторів до TNF- α . Макрофаг розпочинає активно виробляти цей прозапальний цитокін, який, в свою чергу, впливає на рецептори, що розташовані на поверхні макрофагів з подальшою їх активацією [40,54,65,160,176].

Активовані макрофаги розподіляються на субпопуляції M1 та M2. Даний розподіл відповідає класифікації активованих T-лімфоцитів на типи (Th1 і Th2),

що обумовлює зв'язок макрофагів визначеного фенотипу з реалізацією цілеспрямованого шляху імунної відповіді [4,188,189,262].

Активованиий класичним шляхом макрофаг відноситься до субпопуляції M1 (прозапальний фенотип). Клітини фенотипу M1 являються активними продуцентами прозапальних цитокінів (TNF- α , INF- γ , IL-1, IL-6, IL-12, IL-23), безпосередньо виступають в якості індукторних ефektorних клітин в реакціях Th1 типу та мають потужні бактерицидні якості [36,40,189,248].

Альтернативний тип активації M2 (імуномодулюючий і тканинний ремоделюючий фенотип) відбувається під дією протизапальних цитокінів IL-4, IL-10, IL-13, імунних комплексів, вітаміну D3, глюкокортикоїдів [4,160,209]. Макрофаги M2-фенотипу мають на поверхні мембрани значну кількість манозних та фагоцитарних рецепторів, рецепторів галактозного типу; в метаболізмі аргініну відбувається зсув у бік вироблення орнітину та поліамінів за рахунок активної дії аргінази [102,146,270].

Активовані M2-макрофаги, в свою чергу, активують імунні реакції Th2 типу, в тому числі алергічні реакції реагінового типу та імунні реакції при паразитарній інвазії. Вони мають підвищену фагоцитарну активність та спрямовують еозинофіли до вогнища запалення [36,40,179,270].

Коли ми ведемо мову про існування субпопуляцій макрофагів M1 та M2, треба мати на увазі, що такий поділ не свідчить про абсолютну відмінність цих фенотипів один від одного. В дійсності існують макрофаги з певними відмінностями функціональних станів, при яких є клітини, що переважно стимулюють запальний процес, і клітини, що посилюють регенерацію тканин після їх пошкодження запальним процесом. Але і та, і інша субпопуляції макрофагів зберігають властивість активної відповіді на різноманітні стимули, що впливають на них, в залежності від первинної поляризації та ступеню диференціації. Така здатність макрофагів змінювати свої властивості називається пластичністю макрофагального фенотипу [36,40,101,112,214].

Материнський імунітет при вагітності в певній мірі пригнічується внаслідок існування плода – алогенного трансплантату. Адаптація імунної системи жінки до вагітності здійснюється, в значній мірі, на місцевому рівні.

Фагоцити мають переважну роль в імунологічних процесах під час вагітності [48,65,81]. Фізіологічний перебіг вагітності забезпечується толерантністю імунної відповіді, що виникає як результат пригнічення її цитотоксичної складової.

Материнсько-плодовий інтерфейс складається з клітин трофобласту плода, децидуальних стромальних клітин (материнського походження) та материнських імунних клітин [18,36,112,116].

Натепер питання про походження плацентарних макрофагів однозначно не вирішено. З початком настання вагітності плацентарні макрофаги диференціюються з мезенхімальних клітин стромы ворсин хоріона. Однак після 4-5 тижнів вагітності попередники плацентарних макрофагів утворюються і в жовтковому мішку та печінці плода. Тому однією з можливих причин фенотипової та функціональної гетерогенності плацентарних макрофагів є їх походження з різних тканин плідного яйця [36,112].

Морфологічно плацентарні макрофаги являють собою великі клітини (10-40 мкм) округлої, еліпсоїдної чи неправильної форми. У зрілих макрофагах ядро розташовано ексцентрично і гетерохроматин розташований під каріолею. В цитоплазмі плацентарних макрофагів наявні рибосоми та полісоми, недостатньо розвинений комплекс Гольджі, мітохондрії мають добре виражені кристи. Вакуолізація цитоплазми, значна кількість фагосом, мікропіноцитозних везикул та електронно-щільних гранул лізосомального походження є суттєвою ознакою зрілих макрофагів [99]. Збільшення розмірів плацентарних макрофагів та їх вакуолізація спричинені, вірогідно, поглинанням великого об'єму рідини. На мембрані таких клітин мають місце мікроросинки, ламелоподії, які функціонально здатні вступати у взаємодію з позаклітинним матриксом та клітинами, що їх оточують [65].

Плацентарні макрофаги розташовуються як вільно посеред колагенових волокон, так і всередині стромальних каналів, де вони мають здатність пересуватись та мігрувати через їх стінки [65,112].

Після настання вагітності, тобто, імплантації ембріона, відбуваються зміни складу та властивостей імунних клітин матки. Так, в цей період вагітності

переважну кількість клітин децидуальної оболонки складають лейкоцити (до 40%) [83,137]. В подальшому, в I триместрі вагітності, базовими імунними клітинами матки стають натуральні кілери (NK) та макрофаги (до 20-30% всіх клітин децидуа), які відіграють універсальну роль у формуванні процесів як вродженого, так і набутого імунітетів [36]. Макрофаги децидуальної оболонки матки локалізуються біля трофобласта, який інфільтрує гладком'язевий шар стінки спіральних артерій матки.

Ефективність імуномодуляції в організмі вагітних при цьому можна пояснити пластичністю макрофагів, їх здатністю до швидкого реагування на зміни мікрооточення, до змін процесів презентації антигенів та продукції цитокінів; тому макрофаги грають значну роль в процесах формування толерантності організму вагітної до алогенного плода, до інвазії трофобласта і до ремоделювання судин та тканин жінки [18,65,101].

Збільшення кількості макрофагів децидуальної оболонки пояснюється міграцією моноцитів з периферичної крові до ендометрію та децидуа під контролем хемокінів CCL2(MCP-1), CCL3(MIP-1 α), CCL5(RANTE S), CXCL16, M-CSF, які секретуються з клітин материнсько-плодового інтерфейсу (децидуальної тканини, натуральних кілерів та клітин трофобласта). Хемокіни, в свою чергу, контактують з рецепторами VEGF-R1 (Flt-1) на поверхні моноцитів, підсилюючи експресію інтегринів (CD11a, CD11b, CD18, CD51), мРНК, TNF- α , IL-1 β , MCP-1, IL-8, MIP-1 β та стимулюють процес їх трансендотеліальної міграції [36,65,101,176,182]. В крові вагітних зменшується продукція моноцитами прозапальних цитокінів Th1 (внаслідок інгібування NF- κ B та посилення вироблення цитокінів Th2). Основними факторами таких змін продукції цитокінів моноцитами є вплив на їх функціонування гормонів організму вагітної жінки [13,31,34,36,54].

Вироблення макрофагами протизапальних цитокінів Th2 (IL-4, IL-10) стимулюється прогестероном, естрогенами та глюкокортикоїдами [31,160], концентрація яких в крові вагітних жінок значно зростає. Одночасно названі гормони пригнічують активність ЦОГ-2 та вироблення макрофагами NF- κ B-залежних прозапальних цитокінів (IL-1, IL-2, IL-3, IL-5, IL-8, IFN γ і TNF- α).

Особливе значення в цих процесах має стимулювання секреції протизапального цитокіну IL-10, який відіграє суттєве значення в пригніченні локальних запальних процесів при вагітності [36,197].

Підсумовуючи наведені дані, можна стверджувати, що макрофаги приймають активну участь в забезпеченні фізіологічного перебігу вагітності, включаючи імунну толерантність до напівалогенного плода, супроводжують трофобластичну трансформацію спіральних артерій матки, сприяють розвитку ембріона та плода, нормальному перебігу пологової діяльності [112,248].

Набуття імунної толерантності, яка забезпечує фізіологічний перебіг вагітності, в значній мірі пов'язана з диференціацією децидуальних макрофагів до субпопуляції M2 [65,248,270]. Разом з тим, набуття макрофагами переважно прозапального (M1) або протизапального (M2) фенотипу обумовлюється терміном вагітності, оскільки в нормі протягом всього розвитку гестації полярність децидуальних макрофагів між M1 та M2 фенотипами закономірно змінюється:

- M1-макрофаги переважають під час періоду періімплантації, включаючи I триместр вагітності [54,65,83,270];
- в ранню фазу II триместру вагітності відбувається перехід системи диференціації макрофагів до змішаного фенотипу M1/M2 (в цей час трофобластичні клітини занурюються у строму ендометрію та локалізуються в ньому);
- протягом пізньої фази II триместру і ранньої фази III триместру у здорових вагітних домінує фенотип M2, який перешкоджає відторгаючому впливу на плід субпопуляції M1;
- пологи, з точки зору імунологічної системи, є прозапальним процесом (внаслідок переважання в децидуальній тканині макрофагів фенотипу M1), що сприяє розвитку пологової діяльності, правильному перебігу пологів та своєчасній інволюції матки у післяпологовому періоді [83,138,188,189].

Невідповідність поляризації макрофагів під час вагітності асоціюється з самовільним викиднем, передчасними пологами, дисфункцією плаценти, синдромом затримки розвитку плода, прееклампсією та ін. [4,36,83,195].

1.5. Співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів у вагітних з прееклампсією

Дискусії щодо імунологічних особливостей розвитку фізіологічної вагітності тривають протягом в'сього існування імунології як науки і до цього часу не завершені. Разом з тим, більшість дослідників дійшла згоди, що перебіг вагітності можна охарактеризувати як стан помірного системного запального процесу; такий процес відбувається, вірогідно, внаслідок активації, в першу чергу, вродженого імунітету та реакції ендотелію судин [4,36,44,76,77,91,109,113,168].

Існує думка, що системні зміни при прееклампсії можна розглядати як надмірній прояв тих же процесів, які відбуваються і при фізіологічному перебігу гестації. Тобто, прееклампсія – це «надмірне запалення» (на відміну від «помірного запалення», притаманного нормальній вагітності), яке спричинено ендотеліальною дисфункцією з порушеннями роботи згортаючої системи крові, гемодинаміки, метаболічних процесів та ін. [4,27,28,38,52,60,72,91,168]. Причому першочергове значення в розвитку прееклампсії мають локальні імунологічні порушення, які реалізуються в плаценті (порушення процесів плацентації) [18,47,69,79] з подальшою генералізацією процесу. В цьому провідною є продукція патологічно зміненою плацентою надлишку прозапальних цитокінів, які сприяють розвитку системної запальної відповіді [114,141,86,91,95,151,178].

При прееклампсії диференціація децидуальних макрофагів зміщується в бік переважання субпопуляції M1, тоді як в нормі в II та початку III триместрів вагітності повинна переважати субпопуляція M2 [65,83,102,155]. До виникнення та прогресування гестозу виробить порушення другої хвилі інвазії трофобласта до спіральних артерій матки, які кровопостачають плаценту. Підвищення апоптозу клітин трофобласта сприяє руйнації трофобластичних клітин, внаслідок чого блокується необхідна

внутрішньосудинна інвазія нормального трофобласта [76,83,86,89,164]. Подальшому розвитку преекламписії може сприяти активний індуктор макрофагальної диференціації GM-CSF; збільшення його концентрації в децидуальній оболонці сприяє підвищеній продукції прозапальних цитокінів (TNF- α та IL-1 β) макрофагами та дендритними клітинами [114,160,185,186], що посилює запальну відповідь, хоча в нормі після завершення цими клітинами фагоцитозу некротичних та апонекротичних трофобластів синтез прозапальних цитокінів повинен значно зменшитися [34,176,197].

До прогресування преекламписії призводять й інші сигнальні компоненти децидуальної тканини (клітинний дебрис та мікрочастки плацентарного генезу, судинні фактори, компоненти ренін-ангіотензинової системи та інші), які сприяють генералізації системної запальної відповіді та ініціації системної дисфункції ендотелію [3,4,182,197].

При преекламписії децидуальні макрофаги здатні трансформувати продукцію плацентою рівнів M-CSF, GM-CSF, IL-15. Клінічні прояви преекламписії багато в чому спричинені дисбалансом про- та антиангіогенних факторів з переважанням антиангіогенних речовин [21,22,37,41]. При гестозі в кровоплинні матері зростає вміст розчинного рецептора sVEGFR1 (sFlt-1) та ендогліну, в той час як експресія ліганд VEGFR1 знижується [70,79,107,108,164,169,271]. Децидуальні макрофаги здатні виробляти також інші медіатори ангіогенезу, тому, без сумніву, ці макрофаги вносять свій вклад в формування дисбалансу ангіогенних факторів (VEGF і sVEGFR1) у жінок з преекламписією. На зміни морфофункціональних властивостей моноцитів і макрофагів в організмі жінок з преекламписією також впливає наявність у них тканинної гіпоксії [65,134,164,176].

Морфофункціональні патологічні зміни плаценти при преекламписії пов'язані з процесами системного запалення через підвищений рівень циркулюючих в крові мікрофрагментів синцитіотрофобласту; утворення таких мікрофрагментів відбувається в процесах апоптозу плацентарних клітин [76,77,168]. В разі виникнення преекламписії має місце активація апоптозу клітин трофобласта за рахунок того, що місцева гіпоксія є тригером синтезу

проапоптичних факторів [4,34,44,48]. Враховуючи провідне значення децидуальних макрофагів в регуляції процесів апоптозу клітин трофобласта та участь макрофагів у фагоцитозі трофобластного дебрису, приходимо до висновку щодо важливої ролі цих клітин в реалізації системних ефектів, притаманних преєклампсії [47,65,76,106,112,130,132].

При імуногістохімічному дослідженні плацентарної тканини жінок з преєклампсією, розроджених достроково (в II та на початку III триместрів вагітності), виявлено підвищення інфільтрації цієї тканини клітинами CD68+, які асоціюються з фенотипом M1 [188,189,209,267].

Таке збільшення концентрації субпопуляції децидуальних макрофагів фенотипу M1 (за рахунок того, що макрофаги, стимульовані хемоаттрактантами MCP-1, продукція яких, в свою чергу, активується прозапальними цитокінами TNF α і IL-1 β) індукує апоптоз клітин трофобласта та пригнічує їх міграцію, перешкоджаючи трофобластичній трансформації спіральних судин матки [95,101,176,220,267].

При цьому в плацентарній тканині знижується рівень експресії CD163+, що є одним з маркерів активації макрофагів субпопуляції M2 [36,83,175,188,189,209]. Такий дисбаланс співвідношення фенотипів макрофагів M1/M2 із зсувом в бік прозапального M1, без сумніву, прямо впливає на розвиток преєклампсії.

Переважаання децидуальних макрофагів субпопуляції M1 в плацентарній тканині при розвитку гестозу сприяє порушенню інвазії трофобласта в спіральні артерії матки, що призводить до недостатньої перфузії плаценти з подальшим розвитком системних проявів преєклампсії [36,83,122,130].

Ускладнення преєклампсією II триместру вагітності відбувається на фоні зниження експресії декількох маркерів генів ворсинчастого хоріону, які стимулюють активацію макрофагів за M2-типом, в першу чергу, фолатного рецептора FR- β (базовий макрофагальний транспортер фолієвої кислоти та її похідних), скевенджер-рецептора CD163+ та манозного рецептора CD206+ [58,153,163,175,255]. В цілому, такий зсув диференціації децидуальних

макрофагів на користь прозапального фенотипу M1 може бути одним з основних патофізіологічних механізмів розвитку прееклампсії.

Підсумовуючи наведені дані, вважаємо, що децидуальні макрофаги відіграють суттєву роль у фізіологічному перебігу вагітності за рахунок їх пластичності та імуносупресивних властивостей, участі у ремоделюванні тканин та судин на ранніх термінах вагітності, здатності формування місцевого адаптивного імунітету. Розвиток же прееклампсії пов'язаний з неадекватним ремоделюванням спіральних артерій матки внаслідок дисбалансу децидуальних макрофагів під час пізньої фази I та на ранній фазі II триместру вагітності, внаслідок переважання макрофагів фенотипу M1 [65,81,82,220].

Крім того, дисбаланс субпопуляцій децидуальних макрофагів, вірогідно, є значущою ланкою у виникненні інших ускладнень вагітності, зокрема невиношуванні, плацентарній дисфункції та затримці розвитку плода [112].

Проте, на сьогоднішній день ще відсутня достатня систематичність досліджених даних, що перешкоджає формуванню цілісної та об'єктивної картини, яка б описувала роль децидуальних макрофагів у процесах гестації. Особливості синтезу цитокінів, характер фенотипових та морфофункціональних змін макрофагів при фізіологічному і патологічному перебігу вагітності вивчені недостатньо, що обмежує розуміння патогенетичної ролі децидуальних макрофагів при прееклампсії. Не вивчена ефективність профілактики прееклампсії шляхом стимуляції диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів до фенотипу M2 [175,188,189].

Опубліковані результати досліджень обумовлюють доцільність та актуальність подальшого вивчення етіопатогенезу прееклампсії, вдосконалення знань імунологічних механізмів розвитку даної акушерської патології (з урахуванням особливостей диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів із формуванням фенотипів M1 та M2) та визначають потребу в розробці нових методик раннього формування груп вагітних високого ризику по прееклампсії, шляхів вторинної профілактики захворювання, які б дали можливість розробити ефективну тактику ведення вагітних з прееклампсією,

цілеспрямовано направлену на зниження показників материнської і перинатальної захворюваності та смертності.

Результати аналізу наукової літератури, викладені в даному розділі, опубліковані в наступній науковій праці автора:

Likhachov V, Vashchenko V, Shymanska Ya. Features of structure and functions of decidual macrophages in healthy pregnancy and preeclampsia (Особливості будови та функції децидуальних макрофагів у здорових вагітних та у жінок з прееклампсією)//Проблеми екології та медицини. 2019; №5-6 (23): 50-55.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальний дизайн дослідження

Для вирішення поставлених задач були використані методи дослідження, що дозволили отримати дані про відсутність інфікування статевих шляхів вагітних жінок, інтенсивність кровоплину в маткових, спіральних артеріях, судинах пуповини та середній мозковій артерії плода, біофізичний профіль плода, дані про стан плода, отримані за допомогою КТГ. Визначались показники загального та місцевого імунного статусу організму вагітних, включаючи дослідження рівня про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизі. Досліджувались показники активності індукцйбельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу залежно від терміну та перебігу вагітності. Оцінювалась ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку прееклампсії.

Дослідження було виконано на клінічній базі кафедри акушерства і гінекології №2 Полтавського державного медичного університету – у Перинатальному центрі КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР».

Планування програми дослідження та формування клінічних груп було здійснено відповідно до сучасних вимог клінічної епідеміології за єдиними стандартами презентації результатів, з чіткою регламентацією застосування статистичних методів. При виконанні наукової роботи керувались Правилами гуманного ставлення до пацієнта згідно з вимогами Токійської декларації Всесвітньої медичної асоціації, Міжнародними рекомендаціями Гельсинської декларації з прав людини, Конвенцією Ради Європи щодо прав людини і біомедицини, Законами України, наказами МОЗ України та вимогами Етичного Кодексу лікаря України.

Керівництво медичних закладів та обстежувані жінки були інформовані щодо мети даного дослідження в повному обсязі. Всі пацієнтки письмово погодились на проведення дослідження, яке було схвалено Комісією з етичних

питань та біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії (витяг з протоколу №159 від 22.11.2017 року).

Жінки були розподілені на три клінічні групи:

- **контрольна група – КГ (здорові вагітні)** (30 осіб) з відсутністю факторів ризику виникнення преєклампсії, непорушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (другий УЗД-скринінг згідно Наказу МОЗ України №417 від 15.07.2011 року), у яких не було виявлено інфекції в цервікальному каналі. Матеріал для імуногістохімічного визначення субпопуляцій макрофагів М1 та М2 в плаценті (в якості контролю, для порівняння із даними в основній групі) отримували в ІІ триместрі вагітності при плановому розродженні здорових жінок із монохоріальною моноамніотичною двійнею без акушерської та екстрагенітальної патології (яких оперували за протоколом в 32 тижні вагітності); статистична обробка проводилась за результатами імуногістохімічного дослідження зрізів плаценти у цих жінок та підрахунку М1- та М2-клітин в 50 полях зору.
- **основна група (ОГ)** – (91 вагітна) жінки групи підвищеного ризику по виникненню преєклампсії, з ІМТ>25, з порушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20⁺⁶ тижнів вагітності без інфікування нижніх відділів статевого тракту. Ця категорія вагітних була поділена на дві підгрупи:
 - ОГ-I** – 32 вагітні, які не отримували удосконаленої вторинної профілактики преєклампсії, тому вони приймали профілактичні заходи згідно нормативним настановам (75 мг ацетилсаліцилової кислоти та 2 г кальцію в перерахунку на діючу речовину), починаючи з 20 тижнів вагітності;
 - ОГ-II** – 59 вагітних, які отримували запропоновану нами вторинну профілактику преєклампсії (метформін, вітамін D3 та корвітин), починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

У всіх обстежених жінок в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності виявляли наявність анамнестичних факторів ризику виникнення прееклампсії, розраховували ІМТ, доплерометричним методом визначали інтенсивність маткового та плодового кровоплину, показники клітинно-гуморального імунітету та біохімічних параметрів крові. В подальшому, в 28-34 тижні визначали материнсько-плодовий кровоплин, вивчався стан загального та місцевого імунітету, включаючи дослідження рівнів про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизу. Досліджувались показники активності індукцибельної NO-синтази та аргінази цервікального слизу. Ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку прееклампсії оцінювалась з урахуванням клінічних даних, наведених клініко-лабораторних обстежень, результатів кардіотокографічних та ультразвукових досліджень стану плода.

Дослідження балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті було проведено за допомогою імуногістохімічного методу визначення маркерів CD68 та CD163 [65,69,82].

Відбір жінок для дослідження проводився серед вагітних з наступними факторами ризику по виникненню прееклампсії:

А. Нами методом розрахунку співвідношення шансів були виділені п'ять основних анамнестичних факторів ризику виникнення прееклампсії у обстежених жінок:

- перинатальні втрати в анамнезі (ВШ 4,23; 95%ДІ [2,17-7,62], $p < 0,05$);
- прееклампсія при попередніх пологах (ВШ 7,04; 95%ДІ [3,28-9,15] $p < 0,05$);
- сімейний анамнез прееклампсії (ВШ 5,77; 95%ДІ [3,00-6,30], $p < 0,05$);
- хронічна артеріальна гіпертензія (ВШ 11,82; 95%ДІ [4,77-18,01], $p < 0,05$);
- надлишкова вага жінки і ожиріння (ІМТ \geq 25)(ВШ 3,44; 95%ДІ [1,08-6,54], $p < 0,05$).

Б. Крім цього, враховувались інші, менш вагомні, анамнестичні фактори ризику виникнення прееклампсії [46,60,133,134]:

- ускладнений гінекологічний анамнез (самовільні або штучні аборти перед першими пологами, порушення менструальної функції в ювенільному періоді)(ВШ 1,23; 95% ДІ [1,07-4,53], $p < 0,05$);
- перша вагітність (ВШ 2,04; 95% ДІ [1,00-3,62], $p < 0,05$)
- ускладнений акушерський анамнез (затримка розвитку плода, передчасні пологи)(ВШ 3,11; 95% ДІ [1,18-6,05], $p < 0,05$);
- жінки молодого (до 18 років) та старшого (після 35 років) репродуктивного віку (ВШ 1,79; 95% ДІ [1,06-4,00], $p < 0,05$);
- незбалансоване харчування (ВШ 1,32; 95% ДІ [1,10-3,81], $p < 0,05$).

Критеріями включення жінок групи ризику по виникненню прееклампсії в дослідження були: підвищений ризик виникнення прееклампсії (за даними анамнезу), ІМТ>25, зниження кровоплину в спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки під час другого скринінгового УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності [62].

Критеріями виключення жінок із дослідження були:

- інфікування нижніх відділів статевого тракту;
- гострі та підгострі соматичні інфекційні захворювання на момент обстеження;
- тяжкі екстрагенітальні захворювання;
- наявність алергічних станів;
- спадкові та набуті тромбофілії;
- шкідливі звички (зловживання алкоголем, тютюнопаління, наркотична залежність);
- ускладнення даної вагітності (загрозливий викидень у пізньому терміні, резус-ізоsensibilізація, ознаки внутрішньоутробного інфікування плода).

2.2. Застосований метод вторинної профілактики виникнення прееклампсії

Дослідження клініко-імунологічних механізмів розвитку прееклампсії у жінок з групи високого ризику її виникнення (анамнестично виявлені фактори ризику, ІМТ>25, виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності), з подальшим вивченням імунологічних показників (загальна імунограма крові; рівень про- та протизапальних цитокінів і дослідження активності індукцибельної NO-синтази та загальної аргіназної активності у слизу цервікального каналу, імуногістохімічне дослідження субпопуляцій плацентарних макрофагів M1 та M2) дозволило нам сформуванати наступний патогенетичний ланцюжок розвитку даного захворювання:

- ендотеліальна дисфункція, притаманна прееклампсії (виникає внаслідок порушення процесу трофобластичної модифікації спіральних артерій матки) [36,48,83,225] сприяє переключенню T-клітин на імунну відповідь Th1 типу, при якому продукуються прозапальні цитокіни, в першу чергу TNF α та IFN γ . Цитокін IFN γ , в свою чергу, є індуктором диференціації децидуальних макрофагів в бік субпопуляції M1 [112,114];
- збільшення рівня M1-макрофагів у плаценті призводить до вироблення значної кількості NO за рахунок активації iNOS в цервікальному слизу, що сприяє цитолізу клітин плаценти;
- в I триместрі вагітності M1-макрофаги сприяють формуванню плаценти, але в подальшому перебігу фізіологічної вагітності їх кількість та функціональна активність повинна різко зменшитись, щоб забезпечити подальше виношування вагітності при протективній дії M2-макрофагів (в II триместрі та в ранню фазу III триместру фізіологічної вагітності в плаценті повинна переважати саме субпопуляція макрофагів M2, які надають тканині плаценти протективну підтримку та перешкоджають відторгненню плода до самих пологів) [65,102,155];

- у жінок з преєклампсією в II триместрі та на початку III триместру вагітності нами виявлено значне зниження кількості макрофагів M2 з переважанням субпопуляції M1;
- таке нефізіологічне зменшення субпопуляції M2 у плаценті в період виношування плода призводить до зниження продукції протизапального цитокіна IL-10 [126,160,175,197] та падіння рівня аргінази у цервікальному слизу [146] із відповідною альтернативною активацією iNOS та подальшою стимуляцією диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 [101,188];
- ці порушення фізіологічного балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 призводять до подальшого порушення кровоплину в спіральних артеріях матки (яке почалось ще в I триместрі вагітності внаслідок неповноцінності процесів інвазії трофобласту до цих артерій), прогресування ендотеліальної дисфункції, поглиблення проявів преєклампсії з подальшим погіршенням кровотоку в судинах плода, виникненням затримки його розвитку та дистресу [48,62,80,108,122,130,204].

Отже, для проведення ефективної вторинної профілактики виникнення та прогресування преєклампсії у жінок групи високого ризику по цьому захворюванню в II та початку III триместра необхідно:

- змінити баланс M1- та M2-макрофагів у плаценті на користь субпопуляції M2;
- активізувати кровоплин в спіральних артеріях матки для попередження виникнення дистресу та затримки розвитку плода.

Для вирішення цих задач ми застосували комплекс медикаментозних заходів, що мають здатність до інгібування диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 (метформін) [17,51,158,177,190,238,251], стимулюють диференціацію M2-макрофагів (вітамін D3) [253,267] та покращують інтенсивність кровоплину спіральних артерій матки (корвітин) [24,25,68]. Контроль прийому препаратів проводився лікарями та акушерками

жіночих консультацій, в яких спостерігались вагітні, включені в дослідження. За умови маніфестації преєклампсії наприкінці II - у III триместрі вагітності також призначалось протокольне лікування, яке передбачало застосування антигіпертензивних препаратів та, при необхідності, магнезійної терапії.

Для початку вторинної профілактики преєклампсії існує «терапевтичне вікно» (кінець I - початок II триместрів вагітності) [56]. В цей час відбувається активний дисморфоз спіральних судин матки в матково-плацентарні судини (за рахунок реалізації другої хвилі інвазії клітин трофобласту в стінку спіральних артерій матки в області плацентарної площадки). Тому ми розпочинали розроблені нами профілактичні заходи саме в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

Метформін, окрім гіпоглікемічної дії, пригнічує вивільнення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TNF- α в макрофагах і ендотеліоцитах людини; покращує ендотеліальну функцію та стимулює вироблення протизапальних цитокінів (ІЛ-10); пригнічує секрецію TNF- α з наступним зменшенням диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 [17,51,158,177,190,238]. Досконаліше механізми дії метформіну по зменшенню вироблення прозапальних цитокінів, покращенню ендотеліальної функції в умовах протизапальних ефектів цитокінів та зниженню диференціації M1-макрофагів описані в підрозділі 5.1.

Щодо можливості застосування метформіну у вагітних. В листопаді 2019 року пройшла зустріч дослідницької групи Північної Америки з питань гестаційного цукрового діабету (ГЦД) (Diabetes in Pregnancy Study Group of North America — DPSG-NA), на якій розглянуто питання призначення метформіну при ГЦД. Товариство материнської та перинатальної медицини США (The Society for Maternal-Fetal Medicine — SMFM) вважає, що метформін є безпечною альтернативою інсуліну у вагітних. Клінічні настанови American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) 2017 та 2018 років рекомендують метформін як альтернативу для жінок з ГЦД, які не можуть правильно і безпечно застосовувати інсулін. Американська діабетична асоціація (American Diabetes Association — ADA) та SMFM в настанові 2018 року з фармакотерапії при ГЦД, вказують, що пероральні гіпоглікемічні засоби (в

тому числі метформін) в монотерапії ефективні у більше ніж половині випадків вагітностей, обтяжених ГЦД. SMFM вважають, що останні дослідження демонструють ефективність і безпеку метформіну при застосуванні у вагітних [131,170].

Можливість призначення метформіну вагітним також обґрунтовується багаточисельними рандомізованими дослідженнями, результати яких підсумовані в огляді Кокранівської бібліотеки («Метформін у жінок з надлишковою масою тіла або ожирінням під час вагітності для покращення результатів у матерів та немовлят», виконавці Джоді М. Додд, Розалі М. Гривелл та Андреа Р. Деуссен. Оприлюднена версія: 24 липня 2018 р. (<https://doi.org/10.1002/14651858.CD010564.pub2>). Ними був проведений пошук в Кокранівському реєстрі досліджень по вагітності та пологах Clinical Trials.gov, Міжнародній платформі реєстра клінічних досліджень ICTRP Всесвітньої організації охорони здоров'я (11 жовтня 2017 року) та в довідкових списках знайдених досліджень [33].

Проводився аналіз результатів трьох досліджень за участі 1099 рандомізованих учасників (Chiswick 2015; PACTR 201505001142202; Syngelaki 2016). Враховувались дані щодо наявності надлишкової ваги тіла та ожиріння при вагітності, які зустрічаються приблизно у 50% жінок в країнах з низьким рівнем доходів (Chu, 2009; Scheil, 2015), які підвищують ризик гестаційної гіпертензії, прееклампсії і гестаційного діабету [33].

Показано, що метформін знижує ризик розвитку гестаційної гіпертензії у жінок (ВШ 1,02, 95%ДІ [0,54-1,94]; 3 дослідження, 1040 жінок); та прееклампсії (ВШ 1,74, 95%ДІ [0,53-6,28]; 2 дослідження, 840 жінок). Він також покращує загальне метаболічне здоров'я жінок при гестації та знижує ризик негативних наслідків вагітності. Не виявлено суттєвої різниці між метформіном та плацебо у відношенні частоти кесаревого розтину, пологів до 37 тижнів вагітності, дистоції плечиків, розривів промежини та післяпологових кровотеч. Не знайдено різниці у новонароджених щодо частоти гіпоглікемії та гіпербілірубінемії. Оцінка по шкалі Апгар на п'ятій хвилині після народження

дитини в обох групах обстежених, частота мертвонароджень і неонатальної смертності також не відрізнялась між собою [33].

Ми призначали метформін вагітним з наявними анамнестичними факторами ризику по виникненню преєклампсії, з ІМТ>25, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, до розродження жінки. Препарат призначався по 500 мг на добу.

Вітамін Д3, окрім регуляції метаболізму кальцію та фосфатів, бере участь у функціонуванні імунної системи. Активний метаболіт вітаміну D (1,25[ОН]2D) є регулятором децидуального імунітету, а плацента є однією з основних ланок для екстраниркового синтезу 1,25[ОН]2D. Показано, що 1,25[ОН]2D не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1 [253,267].

Тому ми застосовували по 2000 МО вітаміну D3 на добу вагітним з наявними анамнестичними факторами ризику по виникненню преєклампсії, з ІМТ>25, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності і до розродження жінки.

Корвітин є комплексом кверцетину з повідоном. Препарат гальмує продукцію прозапальних цитокінів, що зменшує дисбаланс вазодилаторів і вазоконстрикторів. У вагітних з преєклампсією, у яких відбувається ендотеліальне пошкодження спіральних артерій, знижується концентрація вазодилаторів (простацикліну, оксиду азоту) і підвищується рівень судинозвужувачів (тромбоксану, ендотеліну-1). Тому здатність кверцетину нормалізувати баланс вазопресорів та вазодилаторів, за рахунок чого відновлюється регіональний кровоток, дозволить, вірогідно, збільшити знижений кровоплин в спіральних артеріях матки у вагітних з преєклампсією.

Цей препарат застосовується у вагітних в Україні, починаючи з 2012 року [24,25,26,68]. У жінок з гіпертензивними розладами цей препарат, в комплексній терапії, сприяє зменшенню розладів гемодинаміки в системі мати-плацента-плід, покращує стан плода при плацентарній недостатності, зменшує частоту

асфіксії новонароджених. Негативних впливів на стан вагітної, плода та новонародженого не було виявлено.

Ми застосовували корвітин шляхом внутрішньовенних крапельних інфузій по 500 мг препарату, розчиненого в 100 мл фізрозчину 1 раз на добу протягом 10 днів. Курс лікування цим препаратом повторювався двічі за вагітність, через 6 тижнів.

2.3. Методи дослідження

2.3.1 Клініко-лабораторний метод

Клінічне обстеження жінок проводилось згідно загальноприйнятих методів. У всіх жінок під час збору анамнезу особливу увагу приділяли наступним пунктам: менструальна та репродуктивна функції, соціальний статус, спадковість, застосовані раніше методи контрацепції, перенесені гінекологічні, загальні та інфекційні захворювання, стан статевої сфери до настання даної вагітності, особливості перебігу попередніх вагітностей і пологів.

Зріст визначали за допомогою ростоміра в метрах, масу тіла – в кілограмах із застосуванням медичних вагів. Для оцінки ступеня надлишкової маси тіла визначали індекс маси тіла (ІМТ) за формулою:

$$\text{ІМТ} = \text{маса тіла (кг)} / \text{зріст (м)}^2.$$

Проводились об'єктивні клінічні обстеження основних органів та систем, загальноклінічні лабораторні обстеження: загальний аналіз крові та сечі, біохімічне дослідження крові, коагулограма, бактеріоскопічне та бактеріологічне (за показаннями) дослідження виділень із піхви, цервікального каналу [27,29]. Для виключення інфікування організму вагітних збудниками групи TORCH проводилось дослідження крові методом ІФА. Проводили УЗД органів малого тазу в терміни, визначені Наказом МОЗ України №417. Отримані дані вносились в спеціально розроблені карти спостереження.

2.3.2. Мікробіологічні методи дослідження

Мікроскопія виділень з піхви. Комплексне мікробіологічне дослідження включало в себе оцінку мікробіоценозу піхви за даними мікроскопії вагінальних виділень. Забір матеріалу для дослідження проводився із заднього склепіння піхви, дослідження виконували під імерсійним мікроскопом зі

збільшенням у 90 разів, оцінюючи кількість лейкоцитів, тип мікрофлори, наявність патогенних мікроорганізмів (трихомонад, гонококів, грибів роду Кандида); при необхідності їх подальшої диференціації проводилось забарвлення мазків за Грамом [35,121].

Діагностика бактеріального вагінозу проводилася відповідно до комплексу діагностичних критеріїв Амсея: наявність гомогенних піхвових виділень, виявлення ключових клітин, рН піхви $\geq 4,5$, позитивний аміновий тест [30].

Бактеріологічні дослідження [121] проводилися в бактеріологічному відділенні клініко-діагностичної лабораторії КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР». Досліджуваним матеріалом був вміст верхньої третини бокової стінки піхви, цервікального каналу та уретри. Первинний посів здійснювали на заздалегідь підготовлені поживні середовища. У процесі роботи були застосовані диференційно-діагностичні середовища: «Середовище для контролю стерильності», середовище Ендо, Сабуро, жовтково-сольовий агар, рисовий агар, тіогліколеве середовище, глюкозний бульйон. Ідентифікація мікроорганізмів проводилася за їх культуральними та морфологічними ознаками. Визначення мікроорганізмів проводилось згідно «Визначника бактерій Берджі».

2.3.3. Імунологічні методи дослідження [47,121,129]

Визначення цитокінів у цервікальному слизу. Дослідження про- та протизапальних цитокінів (TNF- α , INF γ , IL-10) у цервікальному слизу проводили в імунологічному відділенні клініко-діагностичної лабораторії КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР».

Забір цервікального слизу проводили за допомогою стерильної щіточки під час огляду шийки матки у дзеркалах, розчиняли його у буферному розчині та зберігали в замороженому вигляді при температурі -40°C до моменту дослідження.

Визначення концентрації цитокінів здійснювали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням відповідних стандартних комерційних наборів реактивів фірми «Вектор БЕСТ» згідно інструкцій фірми

виробника. Концентрацію цитокінів в досліджуваних пробах визначали по побудованим калібровочним кривим.

Визначення показників загального імунітету [36,129]. Вивчали імунологічні показники, що характеризують функціональний стан клітинної та гуморальної ланок імунітету та фагоцитуючих клітин. Фенотипування лімфоцитів периферичної крові для визначення показників клітинного імунітету проводилося методом непрямой імуофлюоресценції після їх специфічного з'єднання з моноклональними антитілами (МКАТ) до поверхневих антигенів – кластерів диференціації. Були використані сертифіковані в Україні комерційні еритроцитарні діагностикуми антитіл класів CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD22+ ТОВ НВЛ «Гранум» (Україна, Харків). При цьому МКАТ класу CD3+ вважали такими, що характеризують тотальну популяцію Т-лімфоцитів, CD4+ – популяцію Т-хелперів/індукторів, CD8+ – Т-супресорів/кілерів, CD22+ – В-клітин. Вираховували імуnoreгуляторний індекс CD4/CD8, який трактували як співвідношення лімфоцитів з хелперною та супресорною активністю. Функціональну активність Т-лімфоцитів вивчали за допомогою реакції бластотрансформації лімфоцитів (РБТЛ) за допомогою мікрометоду з використанням ФГА в якості неспецифічного мітогену [129].

Рівень основних класів сироваткових Іg визначали за допомогою тест-системи за принципом конкурентного імуноферментного аналізу з іммобілізованими антигенами (Іg А, М і G), вносячи досліджувані зразки та кон'югати (анти-Іg А, анти-Іg М, анти-Іg G, мічені пероксидазою) [36.129].

Концентрацію циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в сироватці крові вивчали методом імунного турбометричного аналізу (набір реагентів фірми «ЦІК-ХЕМА»). Було враховано, що за рівнем ЦІК можна судити про вираженість синдрому імунотоксикозу, також взято до уваги той факт, що ЦІК порівняно швидко елімінуються внаслідок їх фагоцитозу клітинами макрофагально-фагоцитарної системи [36].

Таблиця 2.1

**Показники клітинно-гуморального імунітету у здорових невагітних жінок
(M±m) [31]**

Назва показника	Одиниці виміру	Показники у % та г/л	Референтні значення
CD3 ⁺	%	69,3±1,6	63-72
	г/л	1,32±0,05	1,1-1,35
CD4 ⁺	%	45,3±1,3	42-49
	г/л	0,85±0,03	0,7-1,0
CD8 ⁺	%	22,1±0,7	18-24
	г/л	0,42±0,02	0,38-0,44
CD4/CD8		2,05±0,06	1,9-2,1
CD22 ⁺	%	22,5±1,3	20-25
	г/л	0,42±0,03	0,36-0,45
ЦІК загальні	г/л	1,88±0,09	1,75-2,0
Ig A	г/л	1,65±0,1	1,45-2,25
Ig M	г/л	1,82±0,09	1,6-1,97
Ig G	г/л	12,8±0,9	10,5-14,2

2.3.4. Дослідження активності індукбельної NO-синтази та загальної аргіназної активності в слизу цервікального каналу [6,53,98,146]

Визначення активності індукбельної NO-синтази. Забір цервікального слизу проводився за допомогою стерильної щітки під час огляду шийки матки у дзеркалах. Активність NO-синтази визначали за різницею концентрації нітритів до та після інкубації забраного матеріалу. Концентрацію нітритів встановлювали шляхом визначення діазосполук, утворених внаслідок реакції з сульфаніловою кислотою, після чого проводили реакцію з α -нафтиламином (реактив Грісса-Ілосвая). У результаті цієї реакції утворюються похідні червоного кольору (азобарвники). Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації нітритів.

Аміногуанідин є селективним інгібітором індукбельної форми NO-синтази, тому додавання до інкубаційної суміші аміногуанідину (фірма Sigma) дозволяє визначити активність конститутивних форм NO-синтази. Інтенсивність забарвлення визначали шляхом фотометрирування в кюветі 5 мм проти дистильованої води при довжині хвилі 530 нм. Активність індукбельної

форми NO-синтази визначали як різницю між загальною активністю NO-синтази та активністю її конститутивних форм.

Визначення загальної аргіназної активності в цервікальному слизу.

Метод базується на визначенні різниці концентрації L-орнітину до та після інкубації у фосфатному буферному розчині, що містить L-аргінін. Концентрацію L-орнітину визначали за кольором продукту, утвореного внаслідок реакції із реактивом Chinard у модифікації Храмова.

Активність аргінази визначали за формулою:

$$ARG=1000 \times (C_2 - C_1) / (T \times N), \text{ де}$$

ARG – загальна активність аргінази,

T – час інкубації (20 годин = 1200 хв),

N – концентрація білка в г/л, розрахована біуретовим методом,

C₁ – концентрацію L-орнітину в гомогенаті,

C₂ – концентрація стандартної кількості L-орнітину в контрольній пробі.

Одиниці виміру – мкмоль/хв×г білка; 1000 – перерахунок на 1 л гомогенату.

2.3.5. Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині [65,69,82,101,188]

Матеріалом для дослідження слугували ділянки плацент, отримані у жінок ОГ-I та ОГ-II в результаті самовільних передчасних пологів (або кесаревого розтину) в II та в ранній фазі III триместру вагітності (переважно в 28-34 тижні гестації). Матеріал для імуногістохімічного визначення субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плаценті здорових жінок (в якості контролю) отримували в II триместрі вагітності при плановому розродженні таких жінок із монохоріальною моноамніотичною двійнею без акушерської та екстрагенітальної патології (яких оперували за протоколом в 32 тижні вагітності).

Після народження (вилучення) дитини плацента самовільно народжувалась без активного відділення рукою. З участка плаценти, розташованого поблизу місця відходження пуповини, вирізали шматочки розмірами 2x2x3 см та фіксували в 10% нейтральному формаліні. Шматочки плацент проводились за загальноприйнятою гістологічною схемою, готувались

зрізи товщиною 5-7 мікрон і забарвлювались гематоксиліном та еозином. Після попереднього прогляду забарвлених мікропрепаратів відбирали ті блоки, в яких були в наявності необхідні нам компоненти плацент (тканина ворсин та децидуальна тканина). З цих блоків виготовляли додаткові зрізи, на яких і здійснювалась імунопероксидазна візуалізація факторів, що досліджувались.

Субпопуляції плацентарних макрофагів M1 та M2 визначались шляхом непрямого біотин-екстравідин-пероксидазного методу на парафінових зрізах товщиною 5-6 мкм. Метод базується на взаємодії тканьового антигену та специфічних антитіл і виконується за таким зразком:

- виготовлення парафінових блоків з біоптатів плаценти, відібраних одразу після народження посліду, при чому забір біоптатів проводився із залученням як материнської, так і плодової частин плаценти;
- виснаження ендогенної пероксидази 0,3% розчином перекису водню (10 хв) на адаптованих зрізах. Після відмивки – нанесення на зрізи антитіл до маркерів CD68 та CD163 (NovaCastra, UnitedKingdom) та інкубація їх у вологій камері протягом 1 години при температурі +37°C;
- після триразової відмивки (по 10 хв) забуференим фізрозчином (ЗФР) – інкубація з вторинними антитілами (NovaCastra, UnitedKingdom) протягом 30 хв та відмивання у ЗФР;
- обробка зрізів екстравідином, кон'югованим із пероксидазою хрому (NovaCastra, UnitedKingdom);
- візуалізація реакції за допомогою проявної суміші з 3-аміно-9-етілкарбазолом (фірма SIGMA, США);
- дозabarвлення препаратів гемалауном Майєра (дозволяє оцінити співвідношення виявлених імуноцитів до гістологічної будови плаценти);
- документація та архівація: клітини підраховували за допомогою мікроскопу морфометричним методом стандартних площ у 10 полях зору при збільшенні у 400 разів, що дозволяє з'ясувати

кількість, типову локалізацію та взаєморозташування імуніцитів; фотографування одержаних препаратів цифровою фотокамерою.

Імуногістохімічне дослідження субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 проводилось у патоморфологічній лабораторії «CSDHealthCare» (м. Київ), яка є членом європейської системи контролю якості NordiQC.

2.3.6. Ультразвукові методи контролю функціонування фетоплацентарного комплексу

Для визначення терміну вагітності, проведення фетометрії, дослідження локалізації та структури плаценти, визначення особливостей матково-плацентарно-плодового кровообігу та оцінки стану плода проводили серію досліджень на ультразвуковому сканері «MyLabClassC» («Esaote», Італія) із застосуванням конвексного трансабдомінального датчика з частотою 2-7 МГц з використанням пакетів відповідного програмного забезпечення. Дослідження виконувалось згідно загальноприйнятих методик.

Оцінку біофізичного профілю плода (БПП) проводили з урахуванням чотирьох основних параметрів: тонус кінцівок, дихальна та рухова активність плода, об'єм амніотичної рідини. Оцінка БПП в 8-7 балів характеризує стан плода як задовільний, 6-5 балів – сумнівний, 4 і нижче – незадовільний стан (Наказ МОЗ України №900 від 27.12.2006 року).

Тонус плода розцінюється як здатність в процесі рухів до розгинання кінцівок та хребта з наступним повним поверненням у вихідне згинальне положення. Дихальні рухи плода, що проявляються переміщенням грудної клітки та вираженими рухами передньої черевної стінки, особливо в епігастральній ділянці, реєструються протягом 30 хвилин спостереження. При нормальному стані плода за період спостереження реєструється один або більше епізодів дихальних рухів тривалістю 60 секунд і більше.

Рухова активність плода оцінюється з урахуванням кількості епізодів і характеру рухів тулуба та кінцівок. Нормальними вважаються три та більше епізодів ротаційних рухів тулуба одночасно з кінцівками (генералізовані рухи) протягом 30 хвилин спостереження.

Об'єм навколоплідних вод при УЗД вважається нормальним при середній висоті кожної з «водних кишень» в межах 2–8 см. За виражене маловоддя приймали наявність вільної «кишені» висотою менше 1 см [8,61].

При УЗ-скануванні відмічали структурні зміни плаценти, а саме наявність кістозних змін (ознакою яких були ехонегативні утворення різної величини), локальне розширення міжворсинчастого простору (неправильної форми зі звитими краями, що розташовувались в субхоріальній або суббазальній зоні), відкладення солей кальцію на ділянках міжворсинчастого простору і в базальному шарі (наявність включень підвищеної щільності) [60].

Доплерометричне дослідження матково-плацентарно-плодового кровотоку [8,51,53] проводилось за допомогою ультразвукового цифрового сканеру «MyLabClassC». При поздовжньому скануванні в ділянці бокової стінки малого тазу маткову артерію візуалізували за характерним для неї спектром – високою діастолічною швидкістю кровотоку з плавним невеликим зниженням до кінця діастолічної фази та характерним аудіосигналом, який нагадує шум прибою. Кроволин в спіральних артеріях матки оцінювали в області плацентарної площадки [62].

Кроволин в артеріях пуповини та середній мозковій артерії плода оцінювали тільки в період його дихального та рухового спокою. Кроволин в артеріях пуповини визначали в ділянці входження пуповини до черевної порожнини плода. Як правило, одержували криві швидкостей кровотоку в обох артеріях пуповини плода (по 4–5 кардіоциклів у кожній судині) з наступним вичисленням середніх показників. Середню мозкову артерію плода візуалізували в площині виміру біпаріетального розміру голівки поблизу виличної кістки в ділянці «сільвієвої» борозни.

Для оцінки отриманих кривих швидкостей кровотоку використовували якісні показники – кутово-незалежні індекси судинного опору (ІСО): систоло-діастолічне відношення С/Д (відношення максимальної систолічної швидкості кровотоку до кінцевої діастолічної), індекс резистентності ІР (відношення різниці максимальної систолічної та кінцевої діастолічної швидкостей до максимальної систолічної швидкості кровотоку) та пульсаційний індекс ПІ

(відношення різниці максимальної систолічної та кінцевої діастолічної швидкостей до середньої швидкості кровотоку) [51]:

$$\frac{C}{D} = \frac{МСШК}{КДШК},$$

$$IP = \frac{МСШК - КДШК}{МСШК},$$

$$PI = \frac{МСШК - КДШК}{СШК}, \text{ де}$$

МСШК – максимальна систолічна швидкість кровотоку,

КДШК – кінцева діастолічна швидкість кровотоку,

СШК – середня швидкість кровотоку.

Кардіотокографічне дослідження серцевої діяльності плода здійснювали за допомогою кардіомонітора типу SonicaidCareTeam фірми SonicaidLtd (UnitedKingdom); запис кардіотокограми (КТГ) проводили у положенні вагітної на лівому боці, використовуючи стрічку зі швидкістю руху 1 см/хв до моменту досягнення відповідності критеріїв Доуса-Редмана; при необхідності додатково проводилась оцінка КТГ за шкалою Фішера з визначенням базальної частоти серцевих скорочень, частоти та амплітуди миттєвих осциляцій, кількості та характеру акцелерацій і децелерацій (Наказ МОЗ України №900 від 27.12.2006 року).

2.3.7. Методи статистичної обробки даних

Отримані у процесі обстеження пацієнток кількісні показники обробляли методами математичної статистики з розрахунком середніх вибірових значень (M), дисперсії (σ) та помилок середніх значень (m) [74].

Параметричні методи застосовували для показників, розподіл яких відповідав критеріям нормальності. Перевірку нормальності виконували методом Шапіро-Уїлкса [64]. Вірогідність відмінностей отриманих кількісних результатів для різних груп та для зв'язаних вибірок визначалася за допомогою t-критерію Ст'юдента (p). Відмінності вважали вірогідними при загальноприйнятій у медико-біологічних дослідженнях ймовірності помилки $p < 0,05$. Ймовірність помилки оцінювали за таблицями Ст'юдента з урахуванням розміру експериментальних груп. Вірогідність відмінностей для

імуногістохімічних показників аналізували за допомогою метода Уїлкоксона для зв'язаних вибірок.

Для аналізу взаємозв'язків вивчених кількісних параметрів визначали коефіцієнт парної кореляції (r) Пірсона. Коефіцієнт кореляції вважали вірогідним у разі ймовірності помилки $p < 0,05$, яка визначалась шляхом співставлення із критичним значенням за таблицею залежності розмірів дослідної групи, коефіцієнтів кореляції та ймовірності помилок. Значення коефіцієнту кореляції характеризує ступінь близькості залежності між величинами до лінійної функціональної, якій відповідають значення ± 1 коефіцієнта кореляції. Якщо $r_{xy} > 0$, то кореляція позитивна; це означає, що при зростанні однієї з величин друга також зростає. У випадку коли $r_{xy} < 0$ – кореляція негативна, тобто при зростанні однієї з величин друга знижується. За відсутності статистичного зв'язку між величинами коефіцієнт кореляції дорівнює нулю. Рівень p -критерію (ймовірність помилки) залежить як від величини коефіцієнта кореляції, так і від розміру експериментальної групи, для якої він визначається. Чим більша група, тим менші значення коефіцієнта кореляції, що забезпечує надійність оцінки залежності на заданому рівні ймовірності помилки.

Для визначення ступеню ризику виникнення прееклампсії (за даними анамнезу) у обстежених жінок були проаналізовані фактори, що впливають на збільшення її частоти (фактори атрибутивного ризику) за допомогою розрахунків відношення шансів (ВШ) виникнення захворювання у обстежених вагітних.

Можливий зв'язок прееклампсії та фактору ризику

	Наявність фактора ризику	Відсутність фактора ризику
Прееклампсія є (основна група)	A	B
Прееклампсії немає (контрольна група)	C	D

$$\text{ВШ} = (A/B)/(C/D)$$

Розраховувались також нижня та верхня межа 95% довірчого інтервалу (ДІ). Розрахунок параметрів відношення шансів виконувався за допомогою онлайн калькулятора (<https://medstatistic.ru/calculators/calccodds.html>).

Отримані результати обробляли на ПК «Asus F3Ke» за допомогою пакету прикладних програм «MS Excel XP» та статистичної програми «STATISTIC ASPSS 10.0 for Windows» («StatSoftInc.», США).

Результати досліджень, викладені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

1. O.Makarov, V.Likhachov, O.Taranovskaya, L.Dobrovolska, V.Vashchenko. Role of uterine blood flow disturbances in the developmen to flate gestosis (Роль порушень маткового кровотоку у розвитку пізнього гестозу)// Wiadomosci Lekarskie. 2018; LXXI (9):1719-1721. (Scopus).

2. Ліхачов В.К., Тарановська О.О., Добровольська Л.М., Ващенко В.Л. Спосіб доклінічного прогнозування преєклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Патент України на корисну модель №132404,МПК А61В 17/42.- Номер заявки 201809448.-Дата заявки.-19.09.2018.-Чинні права на корисну модель з 25.02.2019.- Опубліковано 25.02.2019.- Бюл.№4.

3. Ліхачов В.К., Тарановська О.О., Добровольська Л.М., Ващенко В.Л. Спосіб доклінічного прогнозування преєклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку//Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної науки у сфері охорони здоров'я (Випуск 6).- Київ,2020.- Реєстровий №21/06/19.- С.22.

РОЗДІЛ 3

ЗАГАЛЬНА КЛІНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСТЕЖЕНИХ ЖІНОК

При включенні в дослідження у всіх обстежених жінок збирали загальний та спеціальні анамнези (гінекологічний та акушерський); дані соціального та родинного статусу; виявляли методи контрацепції, якими раніше користувалась жінка; з'ясовували перенесені загальні, гінекологічні та інфекційні захворювання; стан статевої сфери до настання вагітності; виясняли особливості перебігу та результати попередніх вагітностей і пологів.

Визначали індекс маси тіла (ІМТ). Проводили об'єктивне клінічне обстеження та загальноклінічне лабораторне дослідження (загальний аналіз крові та сечі, рівень глюкози крові натще та глюкозо-толерантний тест в 24 тижні вагітності, біохімічне дослідження крові, коагулограма, бактеріоскопічне та бактеріологічне дослідження виділень із піхви, цервікального каналу). Визначали показники клітинно-гуморального імунітету в крові. Для виключення інфікування організму вагітних збудниками групи TORCH проводилось дослідження крові методом ІФА. За показаннями проводили УЗД внутрішніх статевих органів. Отримані дані заносились в спеціально розроблені карти спостереження.

Була обстежена 121 вагітна: 30 здорових вагітних (контрольна група – КГ) з відсутністю факторів ризику виникнення прееклампсії, непорушеним кровотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20+6 тижнів вагітності, у яких не було виявлено інфекції в цервікальному каналі; та основна група (ОГ) – 91 вагітна групи підвищеного ризику по виникненню прееклампсії, ІМТ>25 та порушеним кровотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності без інфікування нижніх відділів статевих шляхів, яка була поділена на дві підгрупи: 32 вагітні (ОГ-I), які не отримували удосконалену вторинну профілактику прееклампсії і 59 вагітних (ОГ-II), які приймали запропоновану нами вторинну профілактику прееклампсії (метформін, вітамін D3 та корвітин).

Таблиця 3.1

Вік обстежених вагітних та їх соціальний статус

Вік обстежених та їх соціальний статус	Група контролю n=30		Основна група n=91		Відношення шансів
	абс.число	%	абс.число	%	
Від 17 до 20 років	5	16,7	11	12,1	ВШ 0,68 95%ДІ [0,22-2,17] P>0,05
Від 21 до 25 років	12	40,0	25	27,5	ВШ 0,57 95%ДІ [0,24-1,35] P>0,05
	9	30,0	31	34,0	ВШ 1,21 95%ДІ [0,50-2,95] P>0,05
Від 26 до 30 років	4	13,3	20	22,0	ВШ 1,83 95%ДІ [0,57-5,86] P>0,05
Від 31 до 35 років	-	-	4	4,4	-
Від 36 до 40 років	12	40,0	46	50,5	ВШ 1,53 95%ДІ [0,66-3,55] P>0,05
Розумова праця	7	23,3	16	17,6	ВШ 0,70 95%ДІ [0,26-1,91] P>0,05
Домогосподарки	11	36,7	29	31,9	ВШ 0,81 95%ДІ [0,34-1,92] P>0,05

Примітка: в таблицях 3.1-3.4 P – достовірність розбіжностей між показниками (абс.число) контрольної групи та основної групи обстежених жінок.

Таблиця 3.2

Анамнез (загальні та гінекологічні захворювання у обстежених жінок)

№ п/п	Групи	Група контролю n=30	Основна група n=91	Відношення шансів
1	Дитячі інфекції	12	23	ВШ 0,51 95%ДІ [0,21-1,21] P>0,05
2	Тонзиліти	3	10	ВШ 1.51 95%ДІ [0,29-4,34] P>0,05
3	Вірусні інфекції	7	29	ВШ 1,83 95%ДІ [0,57-5,86] P>0,05
4	Соматична патологія	2	8	ВШ 1,35 95%ДІ [0,27-6,74] P>0,05
5	Оперативні втручання	4	7	ВШ 0,54 95%ДІ [0,15-1,99] P>0,5
6	Хр.сальпінгофорити	1	4	ВШ 1,33 95%ДІ [0,14-12,42] P>0,5
7	Дисплазії ш/матки	3	6	ВШ 0,64 95%ДІ [0,15-2,71] P>0,05
8	Неплідність в анамнезі	-	3	-
9	Порушення менстр. циклу	3	9	ВШ 1,13 95%ДІ [0,28-4,47] P>0,05
10	Інші гін.захворювання	1	3	ВШ 0,99 95%ДІ [0,10-9,88] P>0,5
11	Гінекологічні операції	-	2	-

Таблиця 3.3

Менструальна функція у обстежених жінок

Групи	Група контролю n=30		Основна група n=91		Відношення шансів
	абс.число	%	абс.число	%	
Вік менархе:					
до 12 років	8	26,7	30	33,0	ВШ 1,35 95%ДІ [0,54-3,39] P>0,05
12-14 років	19	63,3	49	53,8	ВШ 0,68 95%ДІ [0,29-1,58] P>0,5
після 14 років	3	10,0	12	13,2	ВШ 1,37 95%ДІ [0,36-5,21] P>0,05
Менструальна функція:					
Нерегулярні менструації	2	6,7	7	7,7	ВШ 1,17 95%ДІ [0,23-5,95] P>0,05
Гіпоменструальний синдром	3	10	7	7,7	ВШ 0,75 95%ДІ [0,18-3,10] P>0,05
Болючі менструації	5	16,7	16	17,6	ВШ 1,07 95%ДІ [0,36-3,21] P>0,05

3.1. Анамнез, перебіг вагітності та пологів у жінок контрольної групи

Із групи здорових вагітних (КГ) 5 жінок були віком від 17 до 20 років (16,7%), 12 жінок – віком від 21 до 25 років (40,0%), 9 жінок – віком від 26 до 30 років (30,0%) і 4 жінки – віком від 31 до 35 років (13,3%) (табл. 3.1).

Нормостенічну конституцію мали 17 жінок (56,6%), гіперстенічну – 8 (26,7%) (3 з них мали ожиріння 1 ступеню) і астенічну – 5 жінок (16,7%). Робітниця розумової праці склали групу з 12 жінок (40,0%), фізичної праці – 7 осіб (23,3 %), домогосподарки – 11 жінок (36,7 %) (табл. 3.1).

Із загальних захворювань 12 жінок перенесли дитячі інфекції, 3 – тонзиліт, 7 – вірусні захворювання; соматична патологія була у 2 жінок, оперативні втручання у 4 жінок (табл. 3.2). Гінекологічними захворюваннями страждали 8 жінок: 1 вагітна мала в анамнезі сальпінгоофорит, 3 – дисплазію шийки матки, 3 – порушення менструального циклу, 1 – іншу гінекологічну патологію. Гінекологічних операцій не було ні у однієї жінки цієї групи (мал. 3.1).

Менархе до 12 років було у 8 жінок (26,7%), з 12 до 14 років – у 19 обстежених (63,3%), після 14 років – у 3 жінок (10,0%). Нерегулярні місячні спостерігалися у 2 жінок, болючі менструації – у 5 обстежених, гіпоменструальний синдром – у 3 жінок, гіперменструальний синдром не спостерігався ні у однієї жінки (табл. 3.3).

Першовагітних у цій групі було 18 жінок (60,0%), повторновагітних – 12 (40,0%). З числа повторновагітних 7 жінок (23,3%) мали в анамнезі від 1 до 3 вагітностей і 5 жінок – від 4 до 6 вагітностей (16,7%) (табл. 3.4). Пологи в анамнезі були у 9 жінок (30,0%), а у 21 (70,0%) жінки пологів не було (мал. 3.2). Штучних абортів в анамнезі не було у 16 обстежених (53,3%), один штучний аборт в анамнезі був виконаний у 6 жінок (20,0%), 2-3 аборти були у 5 жінок (16,7%), 4 і більше абортів було у 3 жінок (10,0%) (мал. 3.3). Самовільних викиднів в цій групі обстежених не було.

Дана вагітність завершилася своєчасними пологами у 28 обстежених жінок (93,3%) та передчасними пологами – у 2 жінок (6,7%) (мал. 3.8). Запізнілих пологів в цій групі обстежених не було. Пологи ускладнилися: в 2 випадках (6,7%) – передчасним розривом плодових оболонок, в 2 випадках (6,7%) – слабкістю пологової діяльності, і в 1 випадку (3,3%) – асфіксією новонародженого (мал. 3.9). Частота оперативних втручань становила: кесарів розтин – 2 (6,7%), епізіотомія – 2 (6,7%) та ручна допомога при сідничному передлежанні – 1 (3,3%) (мал. 3.10). Інші оперативні втручання в групі здорових вагітних не зустрічались (табл. 3.8).

В стані по шкалі Апгар 7-10 балів на 1-ій хвилині життя народилось 29 дітей (96,7%), 1 дитина (3,3%) народилась в стані легкої асфіксії (табл. 3.8). Перинатальних втрат в цій групі жінок не було.

16 (53,4%) новонароджених контрольної групи мали вагу тіла в межах 2500 - 3500г, 11 дітей (36,6%) – 3501-4000 г, 2 новонароджених (6,7%) – більше 4000 г і 1 дитина (3,3%) народилась з вагою менше 2500 грамів (табл. 3.8, мал. 3.11).

3.2. Анамнез вагітних основної групи (високого ризику виникнення прееклампсії)

Основна група вагітних (ОГ) – 91 вагітна групи ризику по виникненню прееклампсії, з ІМТ>25, з порушенням кровотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності без інфікування нижніх відділів статевих шляхів. Ця група була поділена на дві підгрупи:

- 32 вагітні (ОГ-I), які не приймали удосконаленої вторинної профілактики прееклампсії;
- 59 вагітних (ОГ-II), які отримували запропоновану нами вторинну профілактику прееклампсії (метформін, вітамін D3 та корвітин).

В основній групі вагітних 11 жінок були віком від 17 до 20 років (12,1% проти 16,7% в КГ; $P>0,05$), 25 – віком від 21 до 25 років (27,5% проти 40,0% в КГ; $P>0,05$), 31 обстежена – віком від 26 до 30 років (34,0% проти 30,0% в КГ; $P>0,05$), 20 жінок – віком від 31 до 35 років (22,0% проти 13,3% в КГ; $P>0,05$) і

4 – віком від 36 до 40 років (4,4%) (табл. 3.1). В контрольній групі жінок віком від 21 до 35 років було 83,3%, а в основній – 83,5%, тобто, вікові показники в двох групах обстежених були повністю співставні.

Серед обстежених жінок КГ нормальну статуру (ІМТ<25) мали 27 жінок (90%), а підвищену масу тіла (ІМТ>25) – тільки 3 жінки (10%), тоді як всі жінки ОГ мали підвищену масу тіла.

Розумовою працею займалися 46 жінок основної групи (50,5% проти 40,0% в КГ; $P>0,05$), фізично працювали 16 жінок (17,6% проти 23,3% в КГ; $P>0,05$), домогосподарками були 29 жінок (31,9% проти 36,7% в КГ; $P>0,05$) (табл. 3.1). Приходимо до висновку, що в контрольній групі працівниці розумової праці та домогосподарки розподілились приблизно порівну, а в групі високого ризику по виникненню прееклампсії переважали жінки, які займаються розумовою працею (в основному, з вищою освітою).

Із загальних захворювань 23 жінки основної групи перенесли дитячі інфекції, на тонзиліт хворіли 10 жінок, на вірусні інфекції – 29 обстежених. Соматична патологія була у 8 вагітних. Оперативні негінекологічні втручання (переважно апендектомію) перенесли 7 жінок. При розрахунку відношення шансів по всіх наведених анамнестичних показниках достовірних відмінностей між жінками КГ та ОГ виявлено не було (табл. 3.2, мал. 3.1).

В анамнезі обстежених жінок ОГ мав місце хронічний сальпінгофорит – у 4 жінок (в КГ – 1 жінка; ВШ 1,33, $P>0,5$), дисплазії шийки матки – у 6 жінок (в КГ – 3 жінки; ВШ 0,64, $P>0,05$), непліддя в анамнезі було у 3 вагітних (в КГ не було), порушення менструального циклу мали 9 обстежених (в КГ – 3 жінки; ВШ 1,13, $P>0,05$), гінекологічні операції перенесли 2 жінки ОГ (в КГ не було) (табл. 3.2, мал. 3.1). Отже, частота загальних та гінекологічних захворювань в анамнезі у жінок ОГ та КГ за результатами розрахунків ВШ достовірно не відрізнялась між собою.

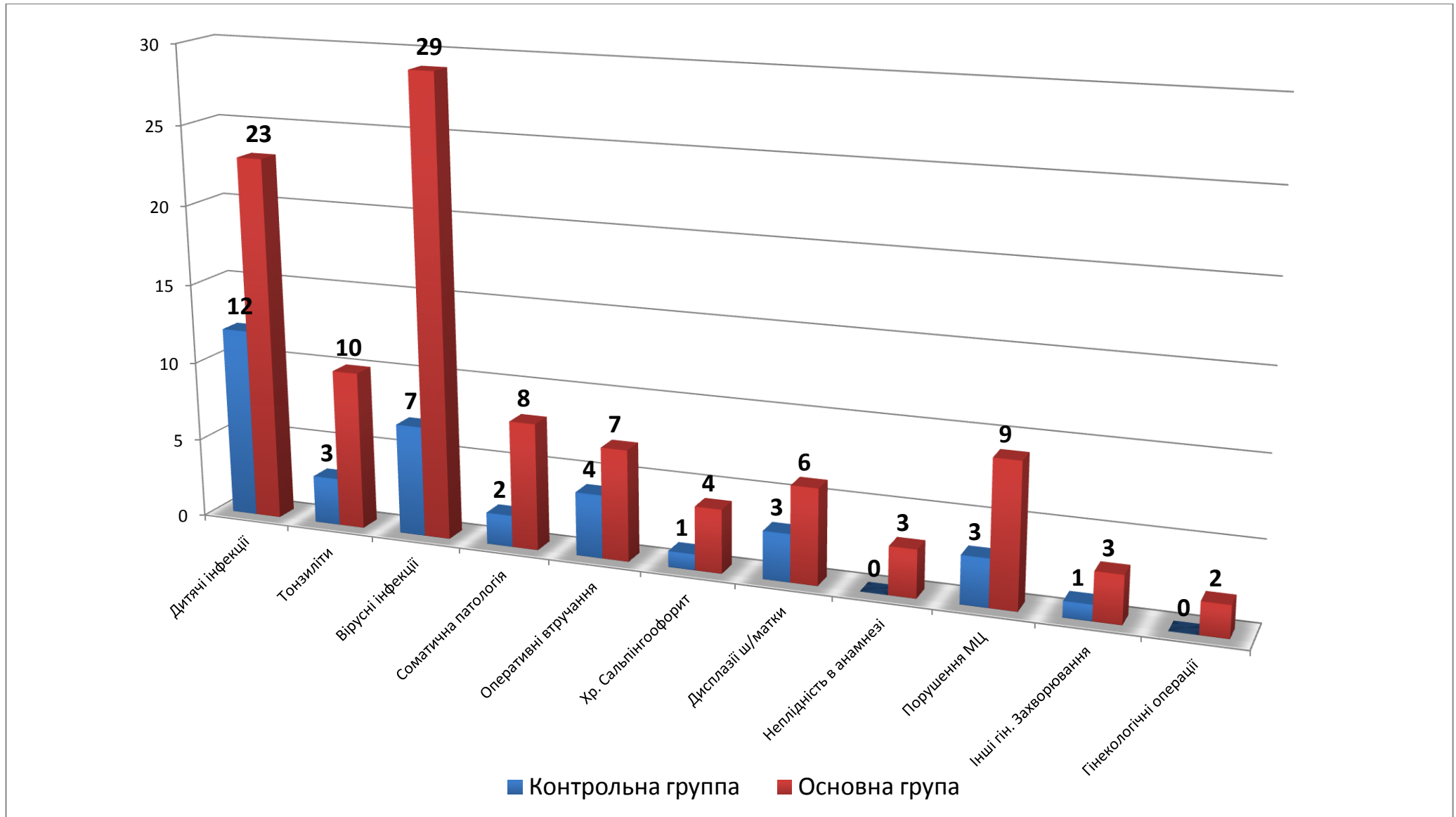
В основній групі обстежених появу менархе до 12 років відмічали 30 жінок (33,0% проти 26,7% в КГ; $P>0,05$), з 12 до 14 років – 49 жінок основної групи (53,8% проти 63,3% в КГ; $P>0,5$), пізнє менархе було у 12 обстежених (13,2% проти 10,0% в КГ; $P>0,05$) (табл. 3.3). По показнику раннього та

запізнілого менархе недостовірно переважали жінки основної групи (46,2% проти 36,7% у жінок контрольної групи).

У 7 жінок основної групи були нерегулярні місячні (7,7% проти 6,7% в КГ; $P>0,05$), у 16 обстежених (17,6% проти 16,7% в КГ; $P>0,05$) спостерігались болючі менструації, у 7 жінок (7,7% проти 10,0% в КГ; $P>0,05$) – гіпоменструальний синдром (табл. 3.3). Гіперменструальний синдром не спостерігався ні у однієї обстеженої жінки.

В основній групі обстежених першовагітних було 44 (48,3% проти 60,0% в КГ; $P>0,05$), повторновагітних – 47 (51,7% проти 40,0% в КГ; $P>0,05$): від 1 до 3 вагітностей мали 40 осіб (44,0% проти 23,3% в КГ; $P>0,05$), від 4 до 6 вагітностей мали 7 обстежених (7,7% проти 16,7% в КГ; $P>0,05$) (табл. 3.4). Ці вагітності завершилися: пологами у 56 вагітних ОГ (61,5% проти 30,0% в КГ; $P<0,05$), штучними абортами – у 52 жінок ОГ (57,1% проти 46,7% в КГ; $P>0,05$), самовільними абортами – у 7 вагітних (7,7%). (табл. 3.4, мал. 3.3.). Звертає на себе увагу той факт, що у вагітних основної групи, порівняно із вагітними КГ, спостерігалась тенденція до більшої частоти штучних абортів.

При включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності всім жінкам (121 особі) був виконаний біохімічний аналіз крові для визначення у ній показників, які є маркерами діяльності життєво важливих органів (печінки, підшлункової залози та нирок). Виявилось, що концентрація глюкози крові натще, ферментів АЛАТ та АсАТ, загального білка, білірубіна (загального, прямого та непрямого), а також креатиніну у жінок всіх трьох груп обстежених (КГ, ОГ-I, ОГ-II) в цей термін вагітності достовірно не відрізнялись між собою і відповідали нормальним показникам (табл. 3.5).

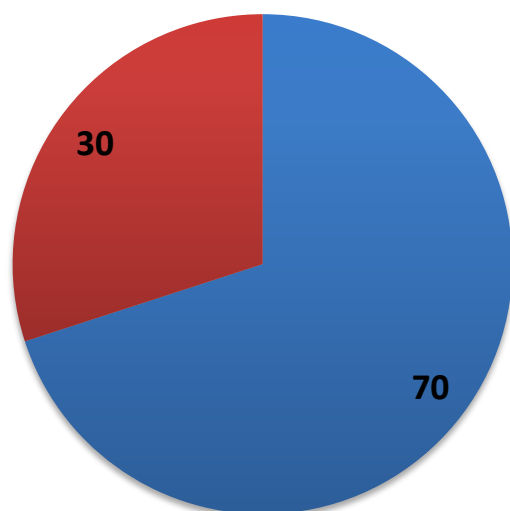
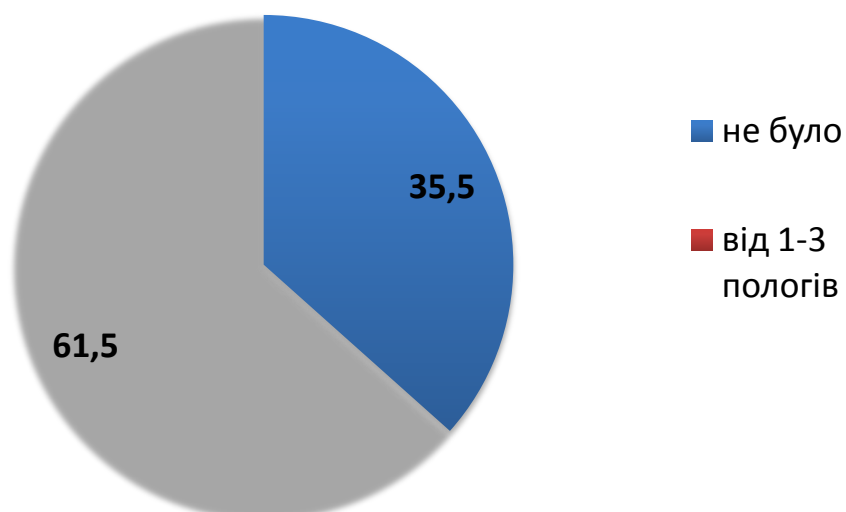


Мал. 3.1. Загальний і гінекологічний анамнез обстежених жінок

Таблиця 3.4

Особливості дітонароджувальної функції в анамнезі у обстежених жінок

№ п/п	Показники	Група контролю n=30		Основна група n=91		Відношення шансів
		абс.число	%	абс.числ о	%	
1.	Вагітності в анамнезі:					
	• не було	18	60,0	44	48,3	ВШ 0,62 95%ДІ [0,27-1,44] P>0,05
	• від 1 до 3	7	23,3	40	44,0	ВШ 2,58 95%ДІ [0,98-6,61] P>0,05
	• від 4 до 6	5	16,7	7	7,7	ВШ 0,42 95%ДІ [0,12-1,43] P>0,05
2.	Пологи в анамнезі:					
	• не було	21	70,0	35	38,5	ВШ 0,27 95%ДІ [0,11-0,65] P>0,05
	• 1-3 пологів	9	30,0	56	61,5	ВШ 3,73 95%ДІ [1,54-9,07] P<0,05
3.	Штучні аборти в анамнезі:					
	• не було	16	53,3	39	42,9	ВШ 0,66 95%ДІ [0,29-1,50] P>0,05
	• 1 аборт	6	20,0	21	23,1	ВШ 1,20 95%ДІ [0,43-3,32] P>0,05
	• 2-3 аборти	5	16,7	19	20,8	ВШ 1,32 95%ДІ [0,45-3,91] P>0,05
	• 4 і більше абортів	3	10,0	12	13,2	ВШ 1,37 95%ДІ [0,36-5,21] P>0,05

Контрольна група**Основна група**

Мал. 3.2. Кількість пологів в анамнезі у обстежених жінок
(% до всіх жінок в групі)



Мал. 3.3. Кількість штучних абортів в анамнезі у обстежених жінок
(% до всіх жінок в групі)

Таблиця 3.5

**Результати біохімічного аналізу крові у вагітних
при включенні їх в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності**

Показники		Групи обстежених		
		Контрольна група n=30	Основна група I n=32	Основна група II n=59
Глюкоза крові натще (ммоль/л)		4,53±0,38	4,85±0,32 P ₁ >0,2	4,39±0,28 P ₁ P ₂ >0,5
АлАТ (ОД/л)		24,4±1,19	26,0±1,23 P ₁ >0,2	25,1±1,16 P ₁ P ₂ >0,5
АсАТ (ОД/л)		28,6±1,15	25,4±1,9 P ₁ >0,2	26,4±1,51 P ₁ P ₂ >0,5
Білок загальний (г/л)		68,0±4,1	69,7±3,5 P ₁ >0,5	70,3±3,8 P ₁ P ₂ >0,5
Білірубін (мкмоль/л)	загальний	7,61±0,44	8,23±0,50 P ₁ >0,2	7,92±0,52 P ₁ P ₂ >0,5
	прямий	2,50±0,18	2,68±0,20 P ₁ >0,5	2,29±0,13 P ₁ >0,2 P ₂ >0,1
	непрямий	5,11±0,27	5,54±0,31 P ₁ >0,2	5,62±0,40 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5
Креатинін (мкмоль/л)		63,5±3,7	66,9±4,1 P ₁ >0,5	65,2±3,9 P ₁ P ₂ >0,5

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

Також при включенні жінок в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності у них досліджувались показники клітинно-гуморального імунітету (табл. 3.6). Кількість лейкоцитів в досліджуваних групах коливалась від 6,87±0,41 на 10⁹/л в ОГ-I до 7,03±0,38 на 10⁹/л в КГ, статистично не відрізняючись між собою. Так само статистично не відрізняються між собою показники загальної кількості лімфоцитів в крові обстежених жінок (2,11±0,13 на 10⁹/л в КГ, 1,97±0,10 на 10⁹/л в ОГ-I та 1,92±0,15 на 10⁹/л в ОГ-II) і загальної кількості Т-лімфоцитів (CD3+) (1,32±0,08 на 10⁹/л в КГ, 1,17±0,09 на 10⁹/л в ОГ-I та 1,21±0,06 на 10⁹/л в

ОГ-II). При визначенні кількості Т-хелперів (CD4+) знайдена тенденція до зменшення їх концентрації в ОГ-I ($0,55 \pm 0,05$ на $10^9/\text{л}$; $P_1 > 0,2$) і ОГ-II ($0,51 \pm 0,03$ на $10^9/\text{л}$; $P_1 > 0,05$; $P_2 > 0,2$) порівняно із КГ ($0,60 \pm 0,04$ на $10^9/\text{л}$). При цьому вміст Т-супресорів/кілерів (CD8+) мав тенденцію до збільшення (статистично недостовірну): в КГ – $0,36 \pm 0,03$ на $10^9/\text{л}$; в ОГ-I – $0,38 \pm 0,03$ на $10^9/\text{л}$ ($P_1 > 0,5$); в ОГ-II – $0,41 \pm 0,04$ на $10^9/\text{л}$ ($P_1 > 0,2$; $P_2 > 0,5$). Кількість В-лімфоцитів (CD22+) практично не відрізнялась в усіх групах обстежених ($0,55 \pm 0,04$ на $10^9/\text{л}$ в КГ, $0,58 \pm 0,05$ на $10^9/\text{л}$ в ОГ-I та $0,52 \pm 0,03$ на $10^9/\text{л}$ в ОГ-II).

За рахунок тенденції до зниження концентрації Т-хелперів та тенденції до зростання Т-супресорів/кілерів в крові жінок ОГ-I та ОГ-II показник імунорегуляторного індексу $CD4^+/CD8^+$ у них знизився і становив в ОГ-I $1,45 \pm 0,07$, а в ОГ-II – $1,42 \pm 0,08$ проти $1,67 \pm 0,09$ в КГ. При цьому різниця між показниками не сягнула межі достовірності (табл. 3.6).

Були вивчені також показники гуморального імунітету (досліджувались концентрації в крові імуноглобулінів класів А, М і G, та вміст циркулюючих імунних комплексів). При цьому концентрація імуноглобулінів в усіх трьох групах обстежених жінок в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності практично не відрізнялись між собою. Так, концентрація IgA становила: в КГ – $1,60 \pm 0,10$ г/л; в ОГ-I – $1,71 \pm 0,08$; в ОГ-II – $1,64 \pm 0,07$; розбіжності недостовірні. Вміст Ig M був: в КГ – $1,90 \pm 0,12$ г/л; в ОГ-I – $1,95 \pm 0,10$; в ОГ-II – $1,89 \pm 0,13$; розбіжності недостовірні. А концентрація Ig G становила: в КГ – $12,9 \pm 0,8$ г/л; в ОГ-I – $13,0 \pm 0,7$; в ОГ-II – $12,1 \pm 0,9$; розбіжності недостовірні. Концентрація ЦІК також достовірно не відрізнялась в усіх групах обстежених: в КГ вона становила $90,2 \pm 4,9$ од/мл; в ОГ-I – $92,0 \pm 5,1$ од/мл; в ОГ-II – $94,9 \pm 6,0$ од/мл.

Виходячи з наведених даних щодо показників клітинно-гуморального імунітету у обстежених вагітних в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, приходимо до висновку, що в усіх трьох групах вагітних, включених в дослідження в цей термін, не виявлено достовірних розбіжностей у вивчених показниках імунітету, які в ОГ-I та ОГ-II не відрізнялись від таких в КГ.

Таблиця 3.6

**Показники клітинно-гуморального імунітету у вагітних
при включенні їх в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності**

Показники клітинного імунітету	Групи жінок					
	Контрольна група n=30		Основна група-I n=32		Основна група-II n=59	
	абс. цифри	%	абс. цифри	%	абс. цифри	%
Лейкоцити (10 ⁹ /л)	7,03±0,38	-	6,87±0,41 P ₁ >0,5	-	6,91±0,36 P ₁ P ₂ >0,5	-
Лімфоцити (10 ⁹ /л)	2,11±0,13	30,0±1,8	1,97±0,10 P ₁ >0,2	28,8±1,4 P ₁ >0,5	1,92±0,15 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5	27,9±1,9 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,32±0,08	62,4±3,9	1,17±0,09 P ₁ >0,5	59,6±4,0 P ₁ >0,5	1,21±0,06 P ₁ P ₂ >0,5	63,0±3,9 P ₁ P ₂ >0,5
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,60±0,04	45,1±2,5	0,55±0,05 P ₁ >0,2	47,0±2,6 P ₁ >0,5	0,51±0,03 P ₁ >0,05 P ₂ >0,2	42,2±3,0 P ₁ >0,2 P ₂ >0,1
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,36±0,03	27,5±1,4	0,38±0,03 P ₁ >0,5	32,4 ±1,7 P ₁ <0,05	0,41±0,04 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5	34,0±2,1 P ₁ <0,05 P ₁ >0,2

CD22 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,55±0,04	26,1±1,4	0,58±0,05 P ₁ >0,5	29,3±1,9 P ₁ >0,1	0,52±0,03 P ₁ P ₂ >0,5	27,4±1,6 P ₁ P ₂ >0,5
Імунорегуляторний індекс (ІРІ) CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,67±0,09		1,45±0,07 P ₁ >0,05		1,42±0,08 P ₁ >0,05 P ₂ >0,5	
IgA, г/л	1,60±0,10		1,71±0,08 P ₁ >0,2		1,64±0,07 P ₁ P ₂ >0,5	
Ig M, г/л	1,90±0,12		1,95±0,10 P ₁ >0,5		1,89±0,13 P ₁ P ₂ >0,5	
Ig G, г/л	12,9±0,8		13,0±0,7 P ₁ >0,5		12,1±0,9 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2	
ЦК, од/мл	90,2±4,9		92,0±5,1 P ₁ >0,5		94,9±6,0 P ₁ P ₂ >0,5	

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;

P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

Таблиця 3.7

Перебіг даної вагітності у обстежених жінок

№ п/ п	Показники		Група контрол ю n=30		Основна група-I n=32		Відношення шансів (ВШ ₁)	Основна група-II n=59		Відношення шансів (ВШ ₁ , ВШ ₂)
			абс. чис ло	%	абс. чис ло	%		абс. число	%	
1.	Виникло пreekлам псій	усього	1	3,3	14	43,8	ВШ ₁ 22,56 95% ДІ [2,73-186,48] P ₁ <0,05	18	30,5	ВШ ₁ 12,73 95%ДІ [1,61-100,81] P ₁ <0,05 ВШ ₂ 0,56 95%ДІ [0,23-1,38] P ₂ >0,05
		з помірн. проява ми	1	3,3	10	71,4	ВШ ₁ 13,18 95% ДІ [1,57- 110,82] P ₁ <0,05	16	88,9	ВШ ₁ 10,79 95%ДІ [1,36-85,90] P ₁ <0,05 ВШ ₂ 0,82 95%ДІ [0,32-2,10] P ₂ >0,05
		тяжких	-	-	5	28,6	-	2	11,1	ВШ ₂ 5,28 95%ДІ [1,01-28,97] P ₂ <0,05
2.	Термін першої клінічної маніфеста ції пreekлам псії	в 24-26 тижнів	-	-	4	28,6	-	-	-	-
		в 27-30 тижнів	-	-	9	64,3	-	5	27,8	ВШ ₂ 4,23 95%ДІ [1,28-13,99] P ₂ <0,05
		в 31-34 тижні	1	3,3	1	7,1	ВШ ₁ 0,94 95%ДІ [0,06- 15,6] P ₁ >0,05	13	72,2	ВШ ₁ 8,20 95%ДІ [1,02-66,0] P ₁ <0,05 ВШ ₂ 8,76 95%ДІ [1,09-70,4] P ₂ <0,05

3.	Інші ускладнення вагітності	ЗРП	-	-	3	9,4	-	2	3,4	ВШ ₂ 2,95 95%ДІ [0,47-18,6] P ₂ >0,05
		дистрес плода	-	-	7	21,9	-	3	5,1	ВШ ₂ 5,23 95%ДІ [1,25-21,9] P ₂ <0,05
		ПВНРП	-	-	1	3,1	-	-	-	-

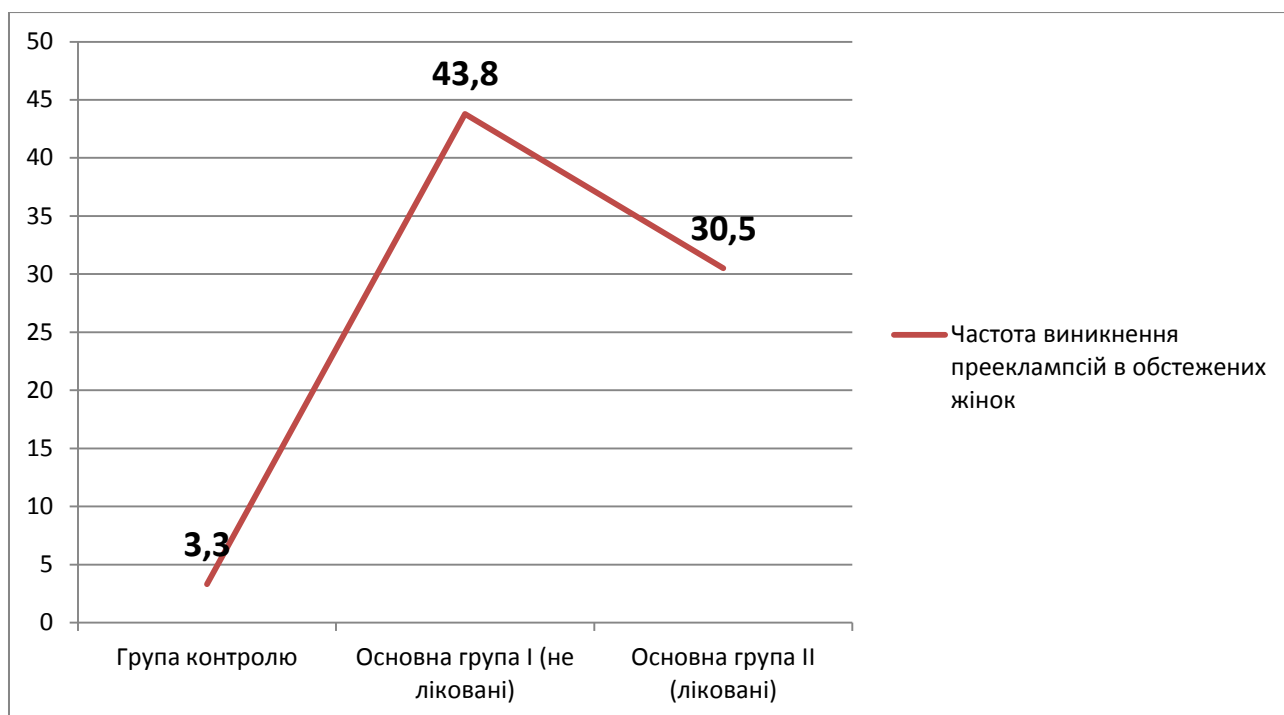
Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками контрольної групи та ОГ-I і ОГ-II обстежених жінок;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ-I і ОГ-II обстежених жінок.

3.3 Перебіг даної вагітності та її завершення у обстежених жінок першої і другої основних груп

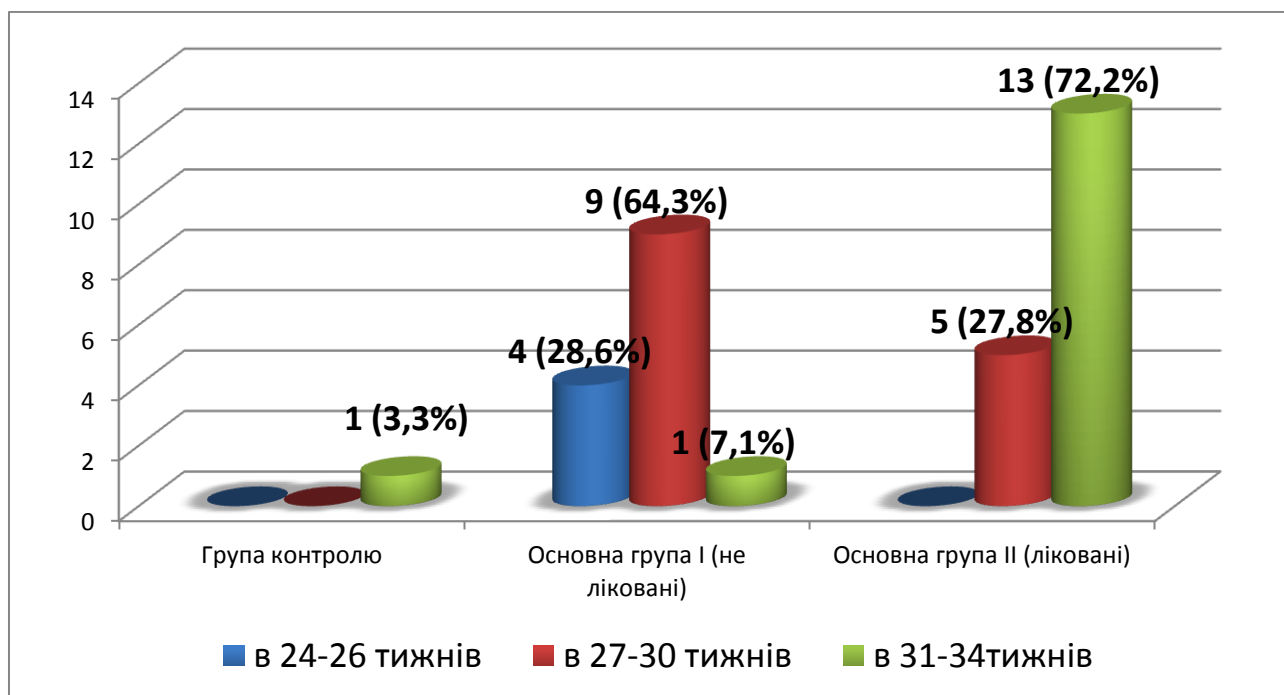
При аналізі ускладнень вагітності у обстежених жінок (табл. 3.7) було виявлено, що в ОГ-I (32 вагітні групи ризику по виникненню прееклампсії, з порушеним кровоотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності без наявності інфекції в нижніх відділах статевих шляхів на момент обстеження, які не приймали запропоноване профілактичне лікування), в 43,8% випадків виникла прееклампсія (ВШ₁ 22,56 95%ДІ [2,73-186,48] $P_1 < 0,05$), тоді як в ОГ-II (59 вагітних, які приймали препарати для вторинної профілактики прееклампсії), цей показник становив 30,5% (в 1,4 рази менше) (ВШ₁ 12,73 95%ДІ [1,61-100,81] $P_1 < 0,05$) (мал. 3.4). Причому перша маніфестація прееклампсії в ОГ-I у 92,9% жінок сталася до 30 тижнів вагітності, а у вагітних ОГ-II в ці терміни маніфестувалось лише 27,8% прееклампсій (в 3,3 разів менше) (ВШ₂ 4,23 95%ДІ [1,28-13,99] $P_2 < 0,05$) (мал. 3.5). Звертає на себе увагу, що в ОГ-I тяжка прееклампсія виникла у 5 жінок (28,6%), а в ОГ-II – тільки у 2 вагітних (11,1%), тобто, в 2,6 рази менше (ВШ₂ 5,28 95%ДІ [1,01-28,97] $P_2 < 0,05$) (мал. 3.6).

Із інших суттєвих ускладнень вагітності в ОГ-I у 3 жінок (9,4%) виникла затримка розвитку плода, у 7 жінок (21,9%) – дистрес плода під час вагітності, у однієї вагітної (3,1%) – передчасне відшарування нормально розташованої плаценти. У жінок ОГ-II затримка розвитку плода сталась у 2 жінок (3,4%) (ВШ₂ 2,95 95%ДІ [0,47-18,6] $P_2 > 0,05$), а дистрес плода під час вагітності виник у 3 жінок (5,1%) (ВШ₂ 5,23 95%ДІ [1,25-21,9] $P_2 < 0,05$) (мал. 3.7).

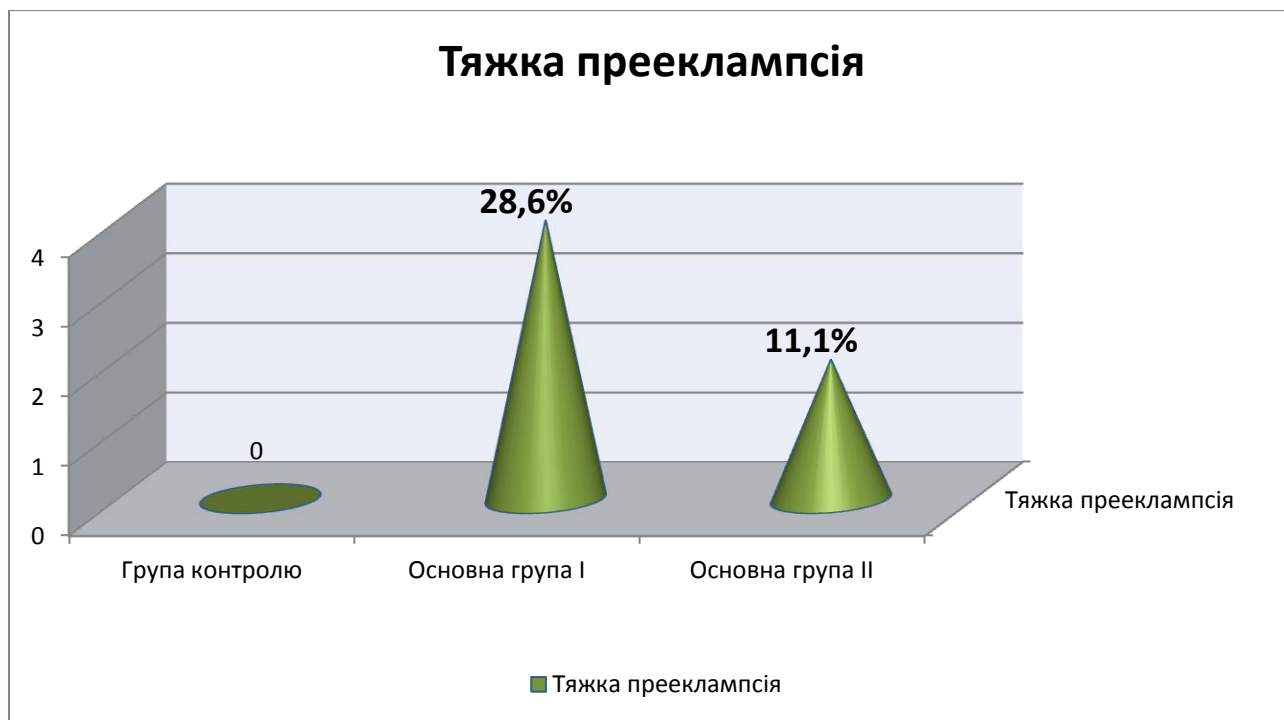
Приходимо до висновку, що у вагітних ОГ-I частіше виникала прееклампсія, яка маніфестувалась раніше і мала більш тяжкий перебіг, ніж у жінок ОГ-II. Також в ОГ-I під час вагітності частіше виникали інші ускладнення (затримка розвитку плода, дистрес плода та передчасне відшарування нормально розташованої плаценти).



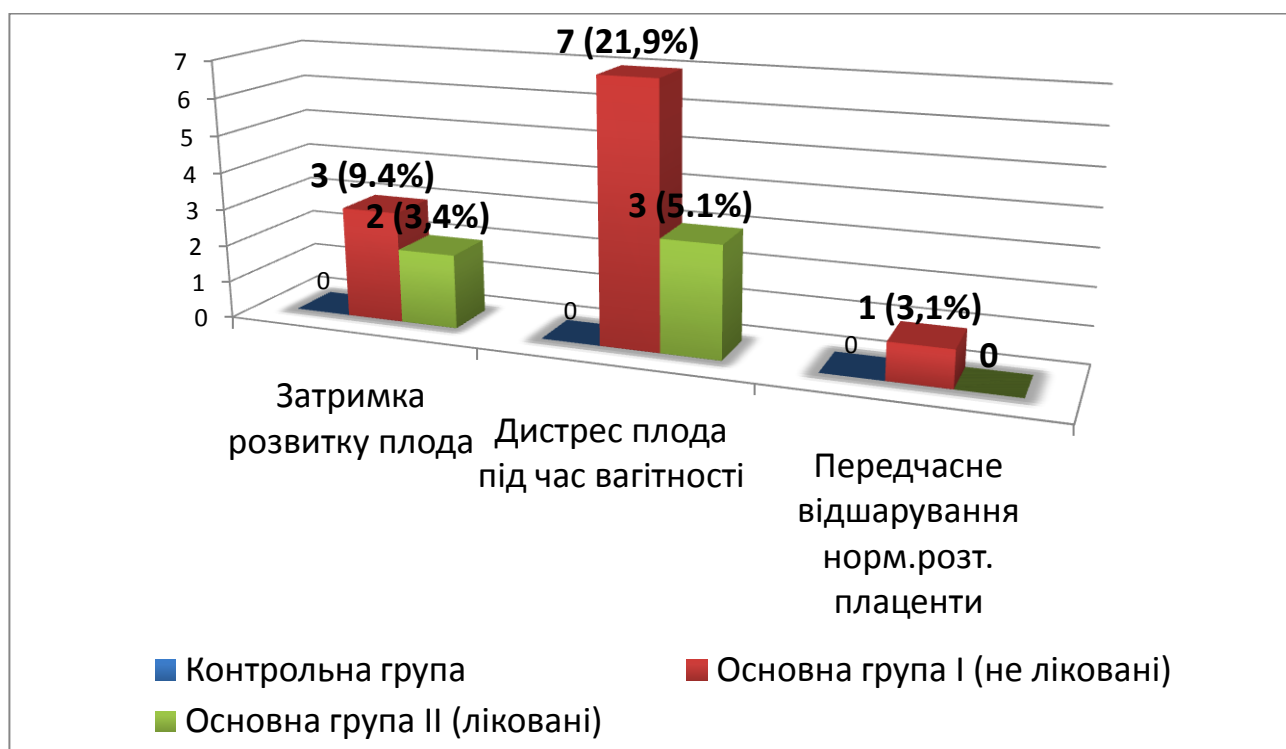
Мал. 3.4. Частота виникнення преєклампсій в обстежених жінок (у % до загальної кількості жінок в групах)



Мал. 3.5. Термін першої клінічної маніфестації преєклампсії у обстежених жінок



Мал. 3.6. Частота виникнення тяжкої прееклампсії у обстежених жінок (у % до загальної кількості жінок в групах)



Мал. 3.7. Інші ускладнення вагітності

Таблиця 3.8

Особливості перебігу пологів у обстежених жінок

№ п / п	Показники		Група контролю n=30		Основна група-I n=32		Відношення шансів (ВШ ₁)	Основна група-II n=59		Відношення шансів (ВШ ₁ , ВШ ₂)
			абс. чис ло	%	аб с.ч ис ло	%		абс. чис ло	%	
1 ·	Пологи	Своєчасні	28	93,3	15	46,9	ВШ ₁ 15,87 95%ДІ [3,22-78,1] P ₁ < 0,05	45	76,3	ВШ ₁ 0,21 95%ДІ [0,05-1,0] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 3,40 95%ДІ [1,37-8,43] P ₂ < 0,05
		Передчасні: усього	2	6,7	17	53,1	ВШ ₁ 15,7 95%ДІ [3,19-78,0] P ₁ < 0,05	14	23,7	ВШ ₁ 4,36 95%ДІ [0,92-20,06] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 3,64 95%ДІ [1,46-9,12] P ₂ < 0,05
		в 22-28 тиж	-	-	5	29,4	-	-	-	-
		в 29-34 тиж	-	-	8	47,1	-	5	35,7	ВШ ₂ 3,60 95%ДІ [1,07-12,15] P ₂ < 0,05
		в 35-36 тиж	2	6,7	4	23,5	ВШ ₁ 0,50 95%ДІ [0,09-2,95] P ₁ >0,05	9	64,3	ВШ ₁ 2,52 95%ДІ [0,51-12,5] P ₁ >0,05; ВШ ₂ 1,26 95%ДІ [0,36-4,45] P ₂ >0,05

2	Ускладнення пологів	передчасний розрив плодових оболонок	2	6,7	7	21,9	ВШ ₁ 3,92 95%ДІ [0,74-20,6] P ₁ >0,05	5	8,5	ВШ ₁ 1,30 95%ДІ [0,24-7,11] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 3,02 95%ДІ [0,87-10,5] P ₂ >0,05
		слабкість пологової діяльності	2	6,7	8	25,0	ВШ ₁ 4,67 95%ДІ [1,09-24,1] P ₁ <0,05	8	13,6	ВШ ₁ 2,20 95%ДІ [0,44-11,1] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 0,47 95%ДІ [0,16-1,41] P ₂ >0,05
		крововтрата >0,5% від маси тіла	-	-	3	9,4	-	2	3,4	ВШ ₂ 2,95 95%ДІ [0,47-18,6] P ₂ >0,05
		гіпоксія плода	1	3,3	9	28,1	ВШ ₁ 11,35 95%ДІ [1,34-96,2] P ₁ < 0,05	7	11,9	ВШ ₁ 3,90 95%ДІ [0,46-33,3] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 2,91 95%ДІ [1,07-8,76] P ₂ < 0,05
		перинатальна смертність	-	-	2	62,5	-	2	33,9	ВШ ₂ 1,90 95%ДІ [0,26-14,2] P ₂ >0,05
3	Оперативні втручання в пологах	кесарів розтин	2	6,7	9	28,1	ВШ ₁ 5,48 95%ДІ [1,08-27,9] P ₁ < 0,05	10	16,9	ВШ ₁ 2,86 95%ДІ [0,58-13,9] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 1,92 95%ДІ [0,69-5,36] P ₂ >0,05
		епізіотомія	2	6,7	10	31,3	ВШ ₁ 6,36 95%ДІ [1,26-32,1] P ₁ < 0,05	11	18,7	ВШ ₁ 3,21 95%ДІ [0,66-15,5] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 1,98 95%ДІ [0,73-5,36] P ₂ >0,05
		акушерські лещата	-	-	1	3,3	-	1	1,7	ВШ ₂ 1,87 95%ДІ [0,11-30,9] P ₂ >0,05

		ручне відокремлення плаценти/обст еж.порожнини матки	-	-	2	6,3	-	2	3,4	ВШ ₂ 1,90 95%ДІ [0,26-14,2] P ₂ >0,05
		ручна допомога при сідничних передлеж.	1	3,3	1	3,1	ВШ ₁ 1,07 95%ДІ [0,06-17,9] P ₁ >0,05	2	3,4	ВШ ₁ 1,02 95%ДІ [0,09-11,7] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 1,09 95%ДІ [0,10-12,5] P ₂ >0,05
4	Стан дитини за Апгар на 1-ій хвилині життя	без асфіксії (7-10 балів)	29	96,7	22	68,7	ВШ ₁ 13,18 95%ДІ [1,57-110,8] P ₁ < 0,05	55	93,2	ВШ ₁ 0,47 95%ДІ [0,05-4,44] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 6,25 95%ДІ [1,77-22,0] P ₂ < 0,05
		асфіксія легкого ступеню (4-6 балів)	1	3,3	6	18,8	ВШ ₁ 6,69 95%ДІ [0,76-59,3] P ₁ >0,05	4	6,8	ВШ ₁ 2,11 95%ДІ [0,23-19,6] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 4,14 95%ДІ [0,44-39,3] P ₂ >0,05
		асфіксія тяжкого ступеню (3 і < балів)	-	-	4	12,5	-	-	-	
5	Вага дитини	< ніж 1000 г	-	-	4	12,5	-	-	-	-
		1001-1500 г	-	-	10	31,3	-	5	8,5	ВШ ₂ 4,91 95%ДІ [1,51-16,0] P ₂ < 0,05
		1501-2500 г	1	3,3	4	12,5	ВШ ₁ 4,14 95%ДІ [0,43-39,3] P ₁ >0,05	7	11,9	ВШ ₁ 3,90 95%ДІ [0,48-33,3] P ₁ >0,05 ВШ ₂ 0,94 95%ДІ [0,25-3,50] P ₂ >0,05
		2501-3500 г	16	53,4	9	28,1	ВШ ₁ 3,05	42	71,2	ВШ ₁ 2,16 95%ДІ [0,87-5,38]

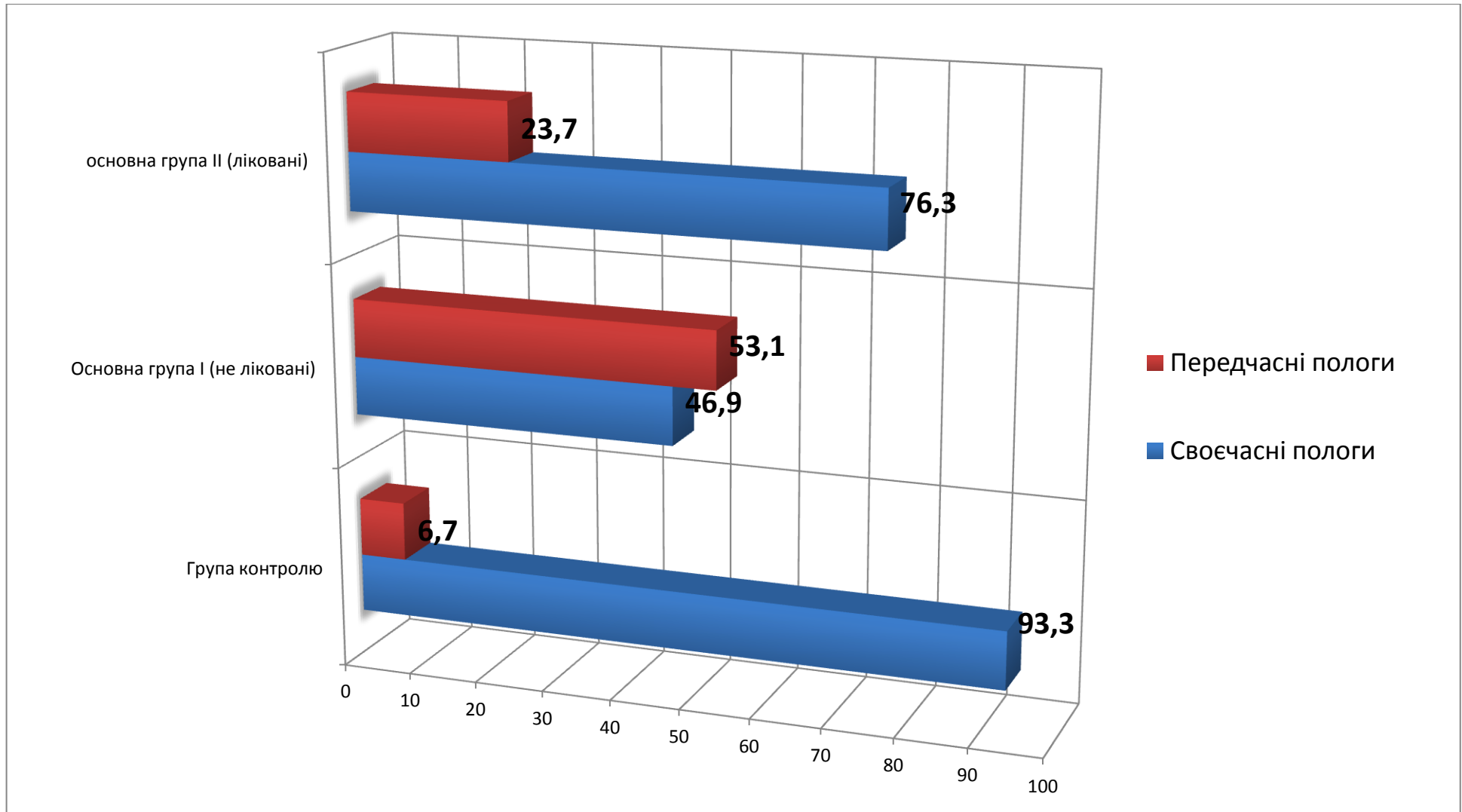
						95%ДІ [1,07-8,71] $P_1 < 0,05$			$P_1 > 0,05$ ВШ ₂ 6,31 95%ДІ [2,43-16,4] $P_2 < 0,05$
	3501-4000 г	11	36,6	5	15,6	ВШ ₁ 3,13 95%ДІ [0,93-10,4] $P_1 > 0,05$	5	8,5	ВШ ₁ 6,25 95%ДІ [1,92-20,3] $P_1 < 0,05$ ВШ ₂ 2,00 95%ДІ [0,53-7,51] $P_2 > 0,05$
	4001 г і >	2	6,7	-	-	-	-	-	-

Примітка: P_1 – достовірність розбіжностей між показниками контрольної групи та ОГ-I і ОГ-II обстежених жінок;
 P_2 – достовірність розбіжностей між показниками ОГ-I і ОГ-II обстежених жінок.

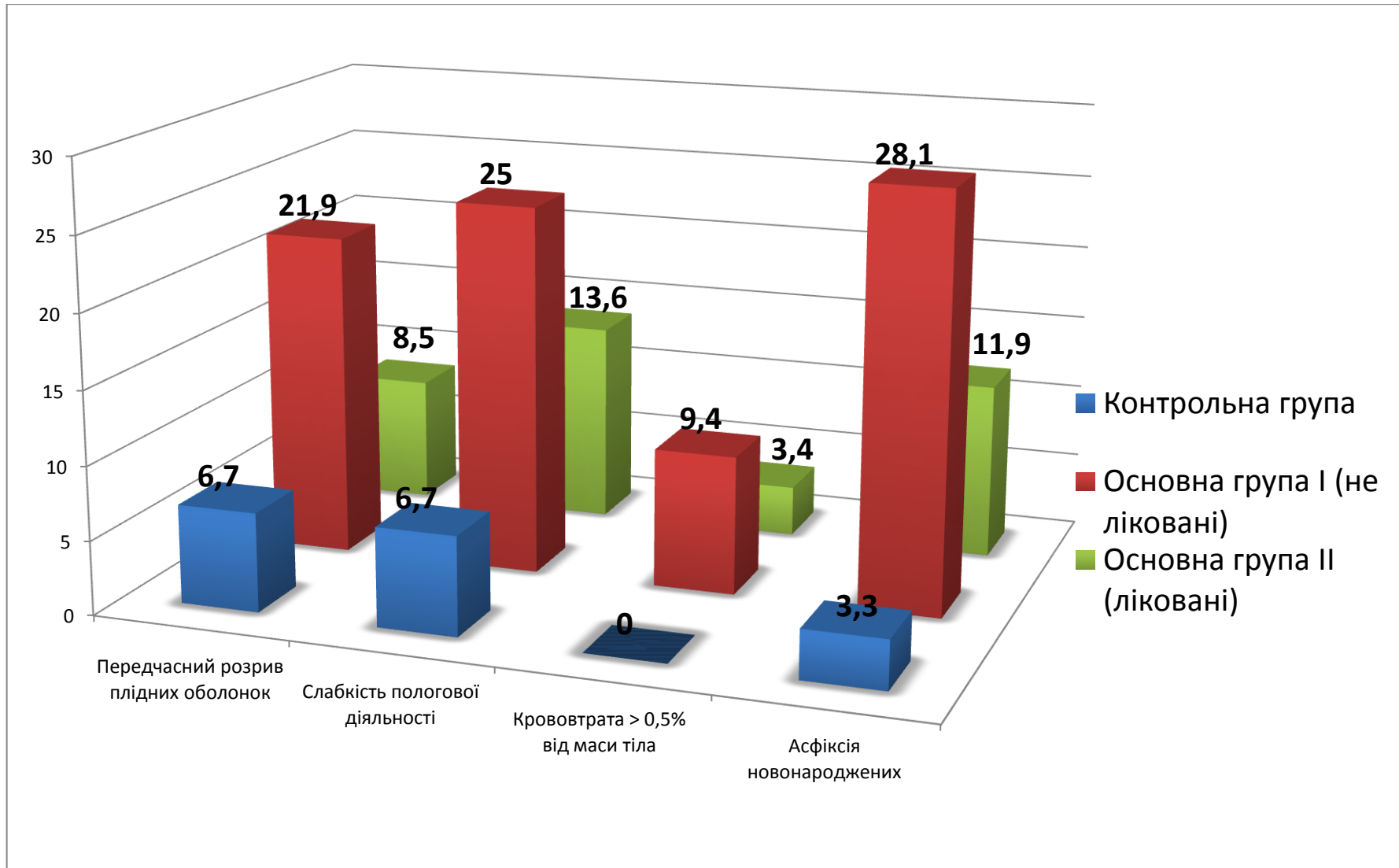
В ОГ-I тільки 46,9% жінок народили своєчасно (при 93,3% у здорових вагітних) ($VШ_1$ 15,87 95%ДІ [3,22-78,1] $P_1 < 0,05$). У жінок ОГ-II цей показник склав 76,3%, що достовірно не відрізняється від такого в КГ ($VШ_1$ 0,21 95%ДІ [0,05-1,0] $P_1 > 0,05$), тоді як в порівнянні з аналогічним показником ОГ-I розбіжність достовірна ($VШ_2$ 3,40 95%ДІ [1,37-8,43] $P_2 < 0,05$) (табл 3.8, мал 3.8).

Відповідно наведеним даним, в ОГ-I зросла питома вага передчасних пологів (53,1% проти 6,7% в КГ) ($VШ_1$ 15,7 95% ДІ [3,19-78,0] $P_1 < 0,05$). Цей показник в ОГ-I був в 2,2 рази вищий за показник в ОГ-II (23,7%; $VШ_2$ 3,64 95%ДІ [1,46-9,12] $P_2 < 0,05$). Крім того, в ОГ-I п'ять жінок (29,4% до всіх передчасно народжених дітей) народили до 28 тижнів глибоко недоношених дітей з екстремально низькою вагою, в той час як в ОГ-II в такому терміні не народилася ні одна дитина; переважна кількість недоношених дітей в ОГ-II з'явилась на світ в 35-36 тижнів (64,3% до всіх передчасно народжених дітей в цій групі).

В ОГ-I спостерігалась висока частота ускладнень пологів (табл. 3.8; мал. 3.9): передчасний розрив плодових оболонок мав місце у 21,9% жінок (в КГ – 6,7%; $VШ_1$ 3,92 95%ДІ [0,74-20,6] $P_1 > 0,05$); слабкість пологової діяльності – у 25,0% роділь (в КГ – 6,7%; $VШ_1$ 4,67 95%ДІ [1,09-24,1] $P_1 < 0,05$); акушерські кровотечі сталися у 9,4% жінок; гіпоксія плода в пологах виникла у 28,1% пацієнток (в КГ – 3,3%; $VШ_1$ 11,35 95%ДІ [1,34-96,2] $P_1 < 0,05$). Перинатальна смертність в ОГ-I відбулась у 2 породіль (62,5% в порівнянні з 33,9% в ОГ-II; $VШ_2$ 1,90 95%ДІ [0,26-14,2] $P_2 > 0,05$). Аналогічні ускладнення в ОГ-II спостерігались відповідно в 2,6 рази, 1,8 рази, 2,8 рази, 2,9 рази рідкісніше.



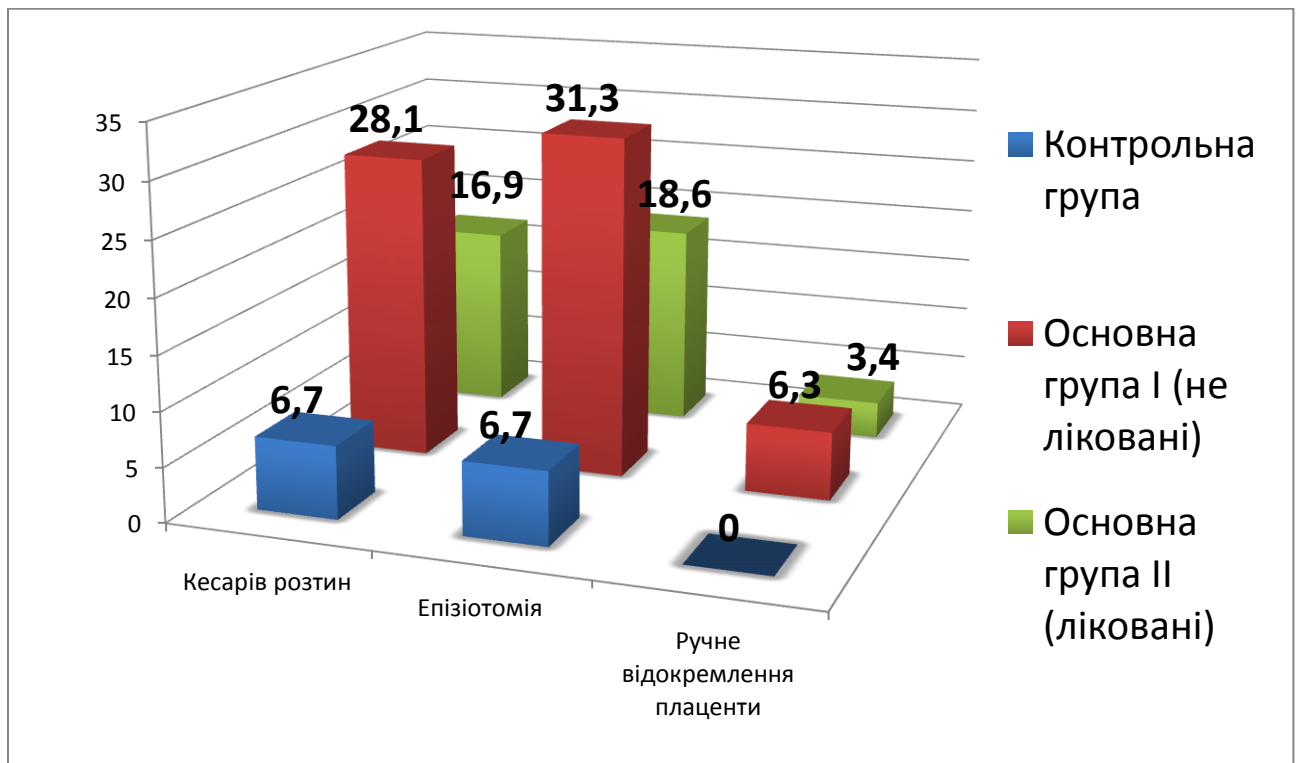
Мал 3.8. Частота своєчасних та передчасних пологів у обстежених жінок



Мал. 3.9. Ускладнення пологів в групах обстежених жінок(у % до загальної кількості жінок в групах)

При аналізі структури оперативних втручань (табл. 3.8; мал. 3.10) виявлено, що кесарів розтин в ОГ-I виконувався в 4,2 разів частіше, ніж в КГ (ВШ₁ 5,48 95%ДІ [1,08-27,9] P₁< 0,05) і в 1,7 разів частіше, ніж в ОГ-II (ВШ₂ 1,92 95%ДІ [0,69-5,36] P₂>0,05).

Епізіотомія в ОГ-I виконувалась в 31,3% пологів, тоді як в КГ – тільки в 6,7% пологів (ВШ₁ 6,36 95%ДІ [1,26-32,1] P₁<0,05), а в ОГ-II – в 18,7% розроджень жінок (ВШ₂ 1,98 95%ДІ [0,73-5,36] P₂>0,05) (мал. 3.10). Частота виконань операцій накладення акушерських лещат, ручного відокремлення плаценти і обстеження порожнини матки, ручної допомоги при сідничному передлежанні в ОГ-I та ОГ-II практично не відрізнялась між собою (табл. 3.8).



Мал. 3.10. Оперативні втручання в пологах (у % до загальної кількості жінок в групах)

Без асфіксії в КГ народилось 96,7% дітей, в ОГ-I – 68,7% дітей (ВШ₁ 6,69 95%ДІ [0,76-59,3] P₁>0,05), а в ОГ-II – 93,2% дітей (ВШ₁ 0,47 95%ДІ [0,05-4,44] P₁>0,05; ВШ₂ 6,25 95%ДІ [1,77-22,0] P₂< 0,05). Відповідно, в ОГ-I 31,3% дітей були народжені в асфіксії, причому 12,5% – в тяжкій асфіксії, тоді як в ОГ-II в

асфіксії народилось в 4 рази менше дітей (6,8%), причому всі вони були в стані легкої асфіксії (табл 3.8).

З вагою, меншою 1000 грамів в ОГ-I народилося 4 дітей (12,5%), а в ОГ-II з такою екстремально низькою вагою – ні однієї дитини. З вагою, від 1001 до 2500 грамів в ОГ-I народилось 14 дітей (43,8%), тоді як в ОГ-II – 12 дітей (20,4%), що в 2,1 разів менше, ніж в ОГ-I (ВШ₂ 4,91 95%ДІ [1,51-16,0] P₂<0,05) (мал. 3.11).

Таким чином, у 91 вагітної основної групи (високого ризику виникнення прееклампсії, до розподілу її на дві підгрупи), порівняно із 30 жінками контрольної групи (здорові вагітні):

- в групі високого ризику по виникненню прееклампсії переважали жінки, які займаються розумовою працею (в основному, з вищою освітою);
- вагітні основної групи частіше, ніж здорові вагітні, мали ускладнений інфектологічний анамнез, захворювання соматичних органів, хронічні запальні процеси жіночих статевих органів в анамнезі;
- жінки основної групи переважали по показнику раннього та запізненого менархе (46,2% проти 36,7% у жінок контрольної групи);
- в анамнезі у жінок основної групи частіше спостерігався ускладнений акушерський анамнез (штучні аборти, в тому числі при першій вагітності).

При проведенні біохімічного аналізу крові під час включення жінок в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, показники, які є маркерами діяльності печінки, підшлункової залози та нирок, не відрізнялись достовірно між собою в трьох групах обстежених (КГ, ОГ-I та ОГ-II) і відповідали нормі. Також не знайдено в цей термін вагітності достовірних розбіжностей у вивчених показниках клітинно-гуморального імунітету, які в ОГ-I та ОГ-II не відрізнялись від таких в КГ.

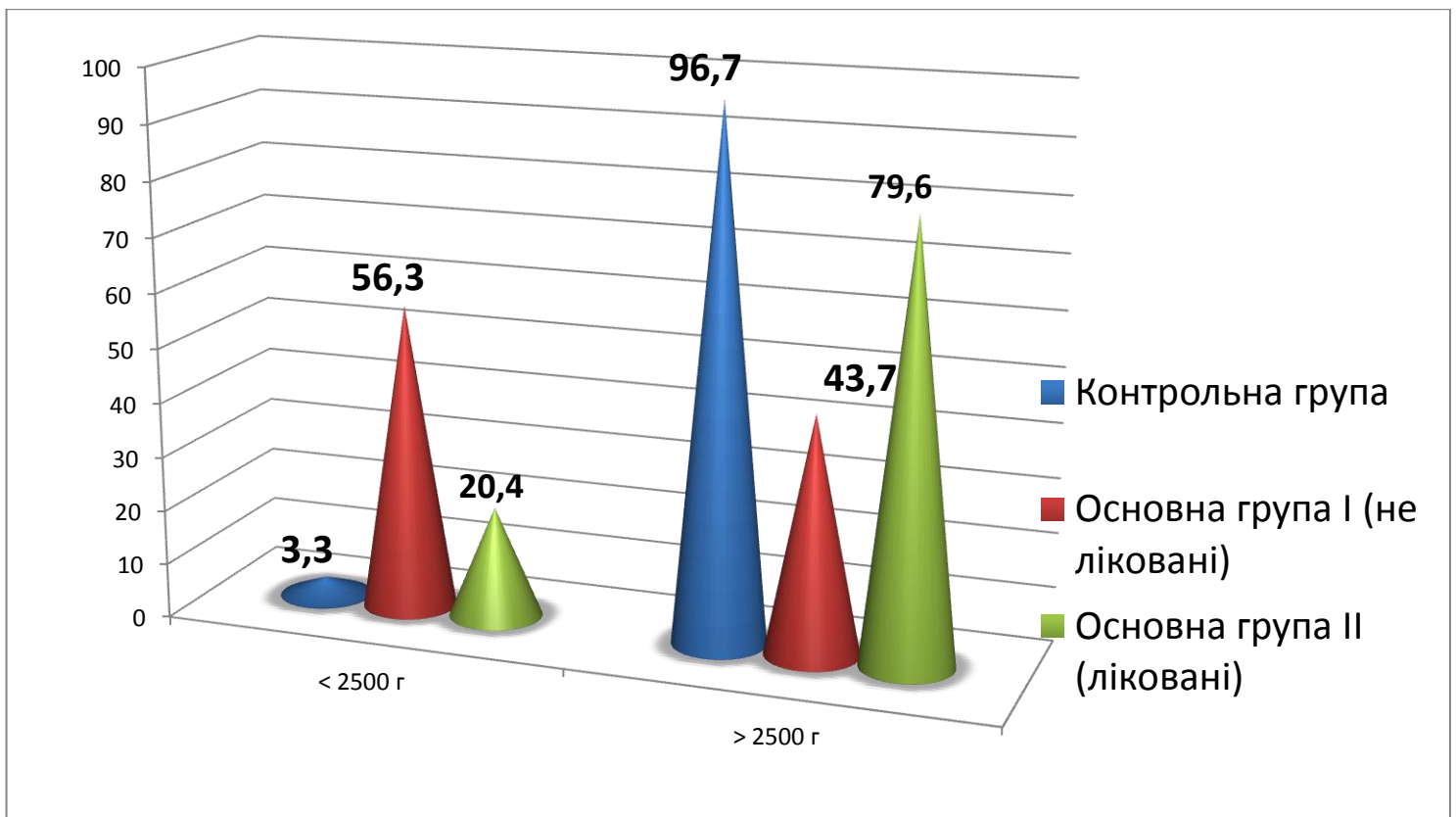
В основній групі вагітних (в цілому, до розподілу її на дві підгрупи) порівняно із контрольною групою, зростала питома вага жінок з надмірною масою тіла; жінок, що займались розумовою працею; з пізнім менархе та порушеною менструальною функцією; з ускладненим інфектологічним анамнезом; частіше зустрічалися екстрагенітальні захворювання та хронічні запальні процеси жіночих статевих органів; в анамнезі у таких жінок мали місце аборти при першій вагітності. У жінок основної групи також була вищою частота передчасних пологів, передчасного розриву плодових оболонок, кровотеч в послідовому та ранньому післяпологовому періодах. Вищою була частота оперативних втручань в пологах, частіше спостерігалася асфіксія новонароджених, наявність дітей з екстремально низькою вагою. Був вищий показник перинатальної смертності.

При аналізі особливостей перебігу вагітності та пологів по підгрупах основної групи обстежених, в ОГ-I (вагітні групи високого ризику по виникненню прееклампсії, які не приймали запропоноване профілактичне лікування) в порівнянні з ОГ-II (вагітні, що приймали метформін, корвітин та вітамін Д3 для вторинної профілактики виникнення прееклампсії) виявились наступні відмінності:

- у вагітних ОГ-I, порівняно із ОГ-II, в 1,4 рази частіше виникала прееклампсія, яка маніфестувалась раніше і мала більш тяжкий перебіг (тяжка прееклампсія виникала у них в 2,6 рази частіше) ($P < 0,05$); при цьому в ОГ-I маніфестація прееклампсії до 30 тижнів вагітності відбулась в 2,3 рази частіше, ніж в ОГ-II ($P < 0,05$);
- в ОГ-I під час вагітності частіше виникали інші ускладнення (затримка розвитку плода, дистрес плода);
- в ОГ-I також спостерігалась висока питома вага передчасних пологів (53,1%, проти 23,7% в ОГ-II; $P < 0,05$), тобто, цей показник в ОГ-I був в 2,2 рази вищий за показник в ОГ-II. Крім того, в ОГ-I 5 жінок (15,6%) народили до 28 тижнів вагітності глибоко недоношених дітей з

екстремально низькою вагою, в той час як в ОГ-II в такому терміні не народилася ні одна дитина; переважна кількість недоношених дітей в ОГ-II з'явилась на світ в 35-36 тижнів;

- в ОГ-I порівняно із жінками ОГ-II спостерігалась більш висока частота ускладнень пологів: передчасний розрив плодових оболонок спостерігався в 2,6 рази частіше, слабкість пологової діяльності – в 1,8 рази частіше, акушерські кровотечі – в 2,8 рази, гіпоксія плода виникала в 2,9 рази частіше ($P < 0,05$);
- перинатальна смертність в ОГ-I відбулась в 1,8 разів частіше, ніж у жінок ОГ-II (62,5‰ проти 33,9‰);
- кесарів розтин в ОГ-I виконувався в 1,7 разів частіше, ніж в ОГ-II;
- в ОГ-I в асфіксії народилось в 4 рази більше дітей, ніж в ОГ-II (31,3% проти 6,8%; $P < 0,05$);
- з вагою, меншою 2500 грамів, в ОГ-I народилось 14 дітей (56,3%), тоді як в ОГ-II – 12 дітей (20,4%), що в 2,8 рази менше, ніж в ОГ-I ($P < 0,05$) (мал. 3.11).



Мал. 3.11. Вага новонароджених дітей в обстежуваних групах

Підсумовуючи загальну клінічну характеристику обстежених жінок основної групи, робимо висновок, що за віком, конституціональними типами, характером виробничої діяльності, соматичним і акушерсько-гінекологічним анамнезами вагітні обох підгруп ОГ є повністю співставні. А за особливостями перебігу вагітності, частотою та характером ускладнень і оперативними втручаннями в пологах, характеристиками народжених дітей досліджені підгрупи жінок (ОГ-I та ОГ-II) є типовими для даних патологічних станів.

Результати досліджень, викладені в даному розділі, опубліковані в наступній науковій праці автора:

Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Тарановська ОО. Перебіг вагітності та її завершення у жінок групи високого ризику по виникненню прееклампсії. Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020; Том 20. Випуск 1 (69).106-110.

РОЗДІЛ 4

МЕХАНІЗМИ ЗМІН ДІЯЛЬНОСТІ ІМУННОЇ СИСТЕМИ І ПОЛЯРИЗАЦІЇ ДЕЦИДУАЛЬНИХ МАКРОФАГІВ У ЗДОРОВИХ ВАГІТНИХ, У ЖІНОК З ПРЕЕКЛАМПСІЄЮ ТА ЇХ ВПЛИВ НА МАНІФЕСТАЦІЮ І СТУПІНЬ ТЯЖКОСТІ ДАНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ

Відбір пацієнток для проведення проспективного обстеження проводився в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності при їх явці на другий УЗД-скринінг. Основну групу (ОГ) склали 91 вагітна групи високого ризику по виникненню прееклампсії, з ІМТ>25 та порушеним кровотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки, без інфікування нижніх відділів статевих шляхів. Контрольну групу (КГ) склали 30 здорових вагітних з відсутністю факторів ризику виникнення прееклампсії, непорушеним кровотоком у спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки, у яких не було виявлено інфекції в цервікальному каналі.

Факторами ризику по виникненню прееклампсії слугували:

- п'ять основних анамнестичних факторів ризику: перинатальні втрати в анамнезі (ВШ 4,23; 95%ДІ [2,17-7,62], $p<0,05$); прееклампсія при попередніх пологах (ВШ 7,04; 95%ДІ [3,28-9,15] $p<0,05$); сімейний анамнез прееклампсії (ВШ 5,77; 95%ДІ [3,00-6,30], $p<0,05$); хронічна артеріальна гіпертензія (ВШ 11,82; 95%ДІ [4,77-18,01], $p<0,05$); надлишкова вага жінки і ожиріння (ІМТ \geq 25) (ВШ 3,44; 95%ДІ [1,08-6,54], $p<0,05$);
- та ряд додаткових факторів ризику: ускладнений гінекологічний анамнез (самовільні або штучні аборти перед першими пологами, порушення менструальної функції в ювенільному віці); перша вагітність; ускладнений акушерський анамнез (затримка розвитку плода, передчасні пологи); жінки молодого та старшого репродуктивного віку; незбалансоване харчування (детальніше – розділ 2).

У цих 121 вагітних при включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності визначали біохімічні показники крові (які є маркерами діяльності печінки, підшлункової залози та нирок), параметри клітинно-гуморального імунітету в крові, виконувалось клініко-лабораторне обстеження, визначались дані щодо інтенсивності кровотоку в маткових та спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки. В 28-34 тижні вагітності вивчався стан загального та місцевого імунітету, включаючи дослідження рівнів про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу. Досліджувалась активність індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу. Проводилось клініко-лабораторне обстеження цих жінок, в тому числі визначення стану плода за даними УЗД і КТГ. Вивчали баланс субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті. Для порівняння з показниками результатів в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності повторно виконувалось біохімічне дослідження крові.

4.1. Особливості фетоплацентарного кровотоку у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії

Відбір до основної групи жінок проводився за критеріями наявності у них факторів високого ризику виникнення прееклампсії (анамнестично), ІМТ>25 та виявленню у них зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки під час другого УЗД-скринінгу в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (табл. 4.1). Так, у 91 жінки основної групи виявлене помірне зменшення інтенсивності кровотоку в маткових артеріях порівняно із КГ, про що свідчить збільшення у них індексів судинного опору (в середньому в 1,2 рази): С/Д з $1,93 \pm 0,10$ в контрольній групі вагітних підвищується до $2,38 \pm 0,09$ в основній групі ($P < 0,05$); ІР та ІІ збільшувались з $0,54 \pm 0,03$ та $0,65 \pm 0,04$ у здорових вагітних до $0,64 \pm 0,02$ і $0,78 \pm 0,03$ у вагітних основної групи відповідно (розбіжності достовірні).

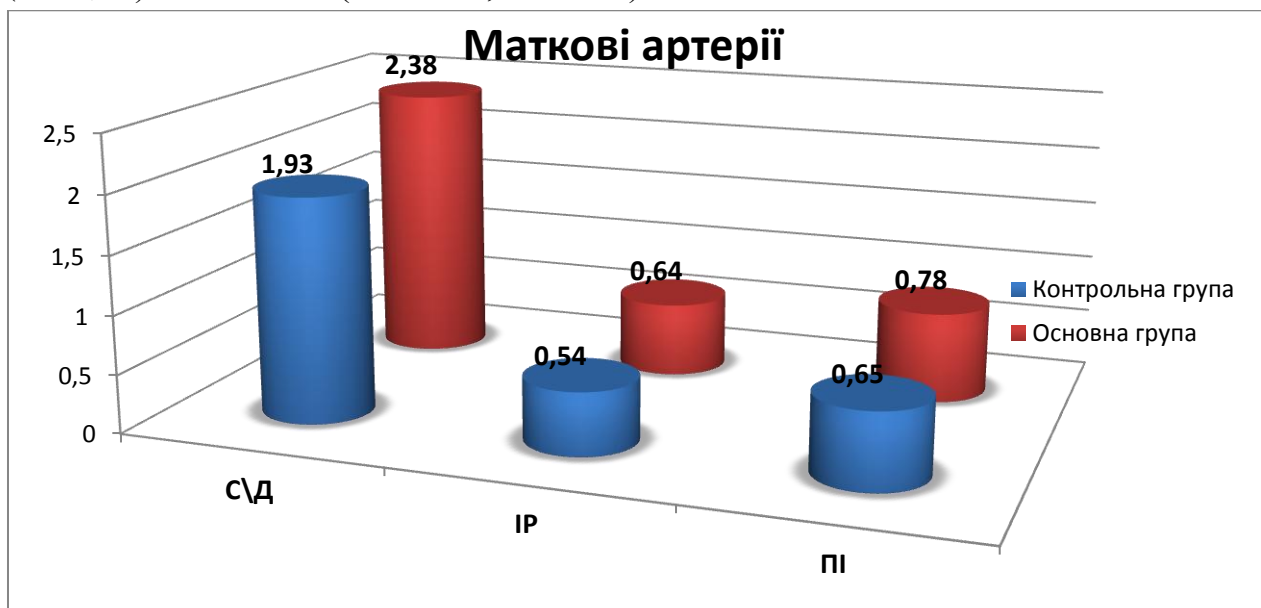
Таблиця 4.1

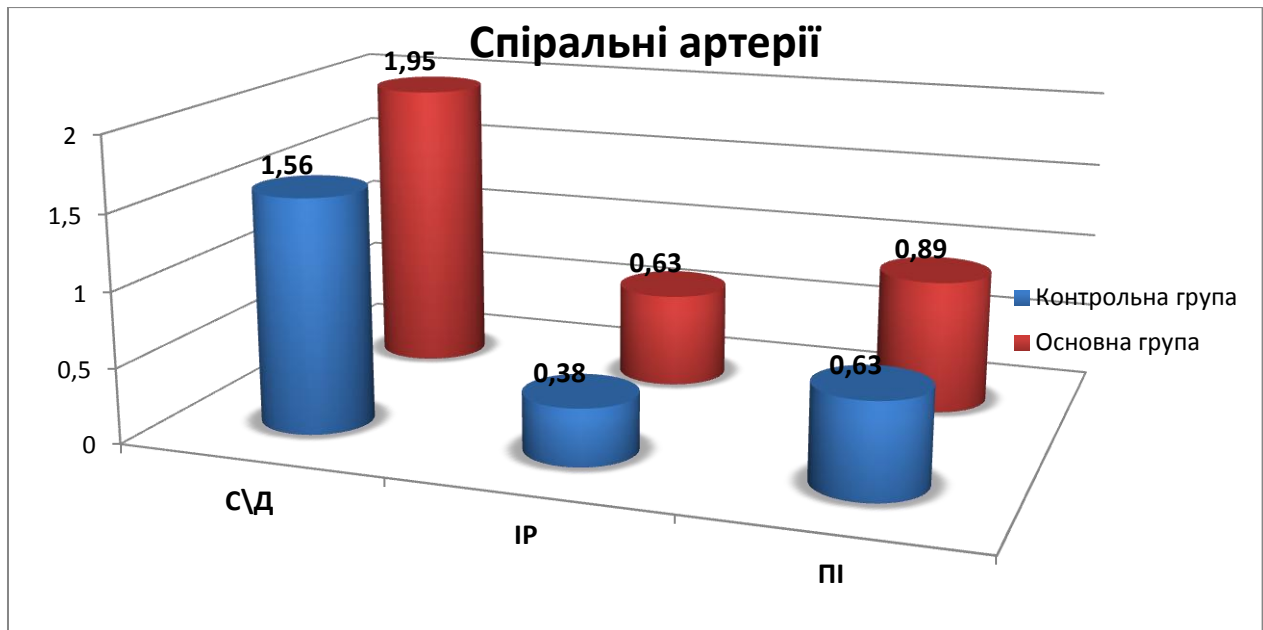
Показники кровоплину в маткових артеріях та спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки у обстежених вагітних в 18-20⁺тижнів вагітності

Судини	Індекси судинного опору	Групи жінок	
		Контрольна група n=30	Основна група n=91
Маткові артерії	С/Д	1,93±0,10	2,38±0,09 P ₁ <0,05
	IP	0,54±0,03	0,64±0,02 P ₁ <0,05
	ПІ	0,65±0,04	0,78±0,03 P ₁ <0,05
Спіральні артерії	С/Д	1,56±0,09	1,95±0,05 P ₁ >0,1
	IP	0,38±0,04	0,63±0,03 P ₁ <0,01
	ПІ	0,63±0,05	0,89±0,04 P ₁ <0,05

Примітки: С/Д – систоло-діастолічне відношення; IP – індекс резистентності; ПІ – пульсаційний індекс, P₁ – достовірність розбіжностей показників між КГ та ОГ.

В спіральних артеріях матки у вагітних ОГ інтенсивність кровотоку знижувалась в більшій мірі, ніж в маткових артеріях (в середньому в 1,25-1,4 рази): С/Д відношення становило 1,95±0,05; IP – 0,63±0,03, а ПІ – 0,89±0,03 порівняно із показниками КГ: 1,56±0,09; 0,38±0,04 (P₁<0,01) та 0,63±0,05 (P₁<0,05) відповідно (табл. 4.1, мал. 4.1).





Мал. 4.1. Показники кровоплину в маткових артеріях та спіральних артеріях матки (в області плацентарної площадки) у обстежених вагітних в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності

Таблиця 4.2

Показники кровоплину в судинах фетоплацентарного комплексу у вагітних, які не приймали запропоновану профілактику прееклампсії (ОГ-І), в 28-34 тижні вагітності

Судини	Індекси судинного опору	Групи жінок		
		Контрольна група n=30	Основна група-І (в цілому) n=32	Основна група-І (жінки з прееклампс.) n=14
Маткові судини	С/Д	2,03±0,12	2,31±0,11 P ₁ >0,05	2,77±0,10 P ₁ P ₂ <0,001
	ІР	0,50±0,04	0,61±0,03 P ₁ <0,05	0,74±0,04 P ₁ <0,01 P ₂ <0,001
	ПІ	0,61±0,05	0,74±0,03 P ₁ <0,05	0,90±0,05 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01
Спіральні артерії	С/Д	1,65±0,10	1,82±0,09 P ₁ >0,1	1,97±0,08 P ₁ <0,02 P ₂ <0,05
	ІР	0,41±0,03	0,50±0,04 P ₁ >0,05	0,56±0,04 P ₁ <0,01 P ₂ >0,1

	III	0,66±0,05	0,78±0,06 P ₁ >0,1	0,89±0,07 P ₁ <0,01 P ₂ <0,05
Артерії пуповини	С/Д	3,05±0,11	3,52±0,14 P ₁ <0,05	3,87±0,15 P ₁ <0,001 P ₂ >0,05
	IP	0,71±0,04	0,85±0,06 P ₁ =0,05	0,94±0,06 P ₁ <0,01 P ₂ >0,1
	III	0,80±0,05	0,94±0,08 P ₁ >0,1	1,05±0,07 P ₁ <0,01 P ₂ >0,2
СМАП	С/Д	2,98±0,15	3,18±0,11 P ₁ >0,2	3,29±0,16 P ₁ >0,1 P ₂ >0,2
	IP	0,69±0,05	0,81±0,06 P ₁ >0,1	0,90±0,04 P ₁ <0,02 P ₂ >0,2
	III	0,78±0,07	0,96±0,09 P ₁ >0,05	1,10±0,08 P ₁ <0,01 P ₂ >0,1

Примітки: С/Д – систоло-діастолічне відношення; IP – індекс резистентності; III – пульсаційний індекс. СМАП – середня мозкова артерія плода.

P₁ – достовірність розбіжностей між КГ і ОГ-I (в цілому) та ОГ-I (жінки з преєклампсією); P₂ – достовірність розбіжностей між ОГ-I (в цілому) та ОГ-I (жінки з преєклампсією).

При подальшому спостереженні (в 28-34 тижні вагітності) за особливостями кровотоку в фетоплацентарному комплексі у вагітних першої підгрупи основної групи вагітних (ОГ-I), які не приймали запропоновану нами

профілактику прееклампсії, також було виявлено погіршення кровотоку в фетоплацентарному комплексі, про що свідчило зростання індексів судинного опору порівняно із показниками контрольної групи. Причому особливо чітко спостерігалось зниження кровотоку у вагітних цієї групи, у яких маніфестувалась прееклампсія (табл. 4.2, мал. 4.2).

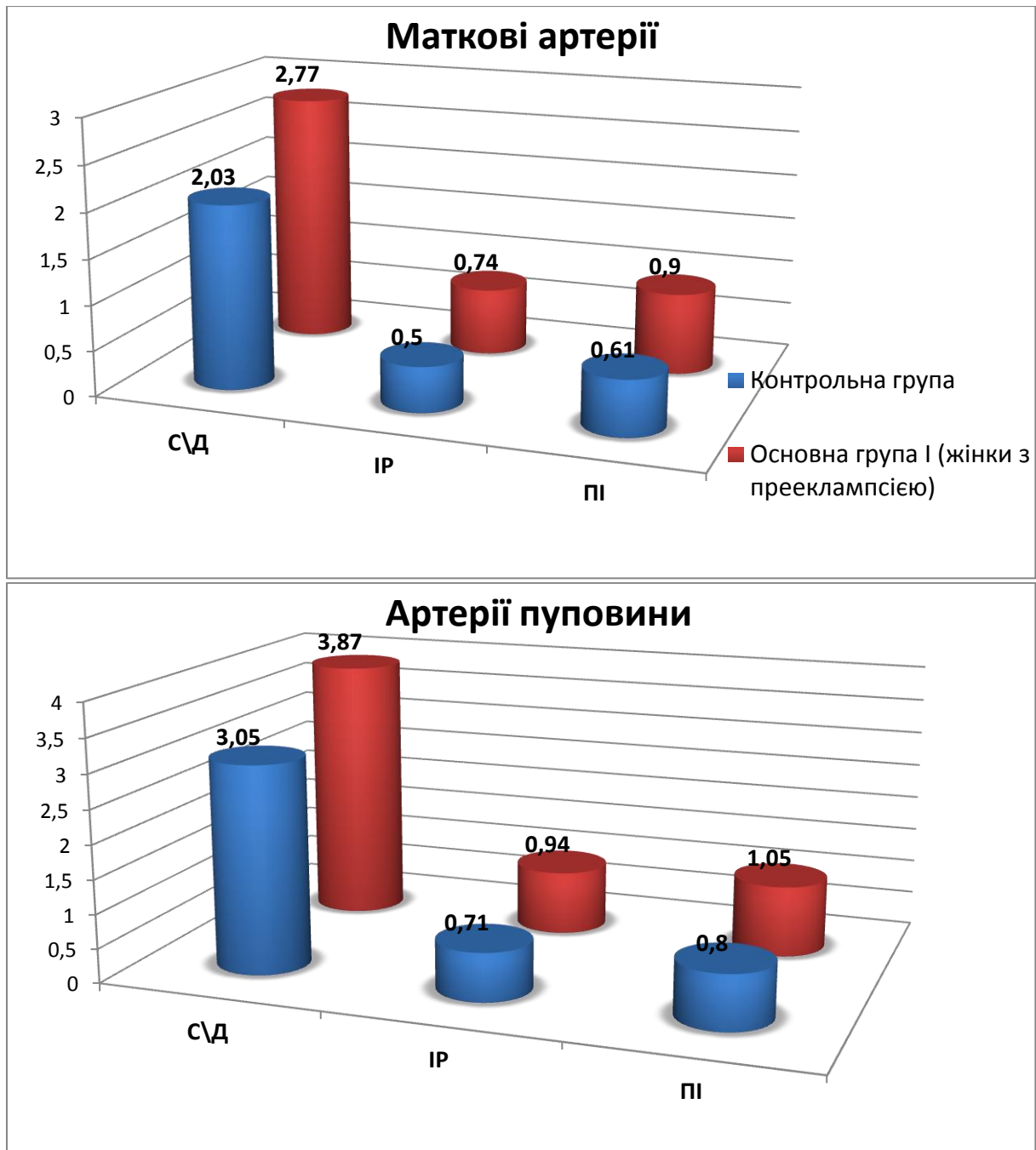
В ОГ-I (у жінок з прееклампсією) в маткових судинах показники С/Д, ІР та ПІ виросли до $2,77 \pm 0,10$; $0,74 \pm 0,03$ та $0,90 \pm 0,05$ в порівнянні із $2,03 \pm 0,12$; $0,50 \pm 0,04$ та $0,62 \pm 0,05$ у вагітних КГ (розбіжності достовірні).

В спіральних артеріях матки у вагітних ОГ-I (жінки з прееклампсією) С/Д становило $1,97 \pm 0,08$; ІР – $0,56 \pm 0,04$; ПІ – $0,89 \pm 0,07$ порівняно із С/Д $1,65 \pm 0,10$; ІР $0,41 \pm 0,03$; ПІ $0,66 \pm 0,05$ у вагітних КГ (всі розбіжності достовірні).

В артеріях пуповини у цієї групи вагітних С/Д виросло до $3,87 \pm 0,15$; ІР – до $0,94 \pm 0,06$; ПІ – до $1,05 \pm 0,07$ в порівнянні із С/Д $3,05 \pm 0,11$; ІР $0,71 \pm 0,04$; ПІ $0,80 \pm 0,05$ у вагітних з КГ (розбіжності достовірні).

Підвищення індексів судинного опору в середній мозковій артерії плода у жінок ОГ-I (з прееклампсією) (С/Д $3,29 \pm 0,16$; ІР $0,90 \pm 0,04$; ПІ $1,10 \pm 0,08$) також свідчить про зменшення в ній кровотоку порівняно із здоровими вагітними контрольної групи.

Виявилось, що при збільшенні індексу резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до показника 0,7 і більше, виявленому при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, в подальшому в 71% випадків виникає прееклампсія. Тому цю ознаку доцільно використовувати як прогностичний маркер високого ризику виникнення прееклампсії і призначати таким жінкам ранню вторинну профілактику цього захворювання.



Мал. 4.2. Показники кровоплину в судинах фетоплацентарного комплексу у вагітних ОГ-I, у яких маніфестувала преєклампсія, в 28-34 тижні вагітності

Отже, у жінок із високим ризиком виникнення преєклампсії, вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації цієї небезпечної патології, виникають явища гіперперфузії плаценти. По мірі прогресування вагітності у жінок, які не приймали запропоновану нами профілактику преєклампсії, порушення кровоплину прогресують як в матково-плацентарному, так і в плацентарно-плодовому сегменті. Це вказує на необхідність розпочинати

вторинну профілактику прееклампсії, починаючи із моменту виявлення зниження інтенсивності кровотоку в спіральних артеріях матки під час другого УЗД-скринінгу.

4.2. Зміни показників клітинно-гуморального імунітету у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії

Дослідження показників клітинно-гуморального імунітету у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії було виконане в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (при формуванні основної групи жінок) та в 28-34 тижні вагітності. Однак в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності основні вивчені показники імунітету достовірно не відрізнялись від таких в контрольній групі (розділ 3). Тому ми наводимо результати обстеження в 28-34 тижні вагітності, коли вже проявили себе зміни показників клітинно-гуморального імунітету у жінок ОГ-І, які не приймали запропоновану нами профілактику прееклампсії.

Показники кількості лейкоцитів в ОГ-І (в цілому) та в ОГ-І (у жінок з прееклампсією) практично не відрізнялись від групи здорових жінок.

При цьому виявилось, що розвиток прееклампсії супроводжується змінами у процесах розподілу популяцій лімфоцитів в периферійній крові (табл. 4.3, мал. 4.3) [43,83].

Абсолютна кількість лімфоцитів в обох підрозділах ОГ-І незначно коливалась навколо показника у здорових вагітних (КГ). Абсолютна кількість Т-лімфоцитів (CD3⁺) в дослідних групах мала тенденцію до зниження.

При аналізі субпопуляційного складу Т-клітин виявлено зниження концентрації клітин Т-хелперного ряду – CD4⁺, як в ОГ-І (в цілому) – $0,50 \pm 0,03$ на 10^9 /л ($P_1 > 0,05$), так і в ОГ-І (жінки з прееклампсією) – $0,40 \pm 0,02$ на 10^9 /л ($P_1 < 0,001$) (в контрольній групі – $0,58 \pm 0,03$ на 10^9 /л).

Рівень Т-супресорів/кілерів – CD8⁺ в ОГ-І поступово зростає, сягаючи достовірності в ОГ-І (жінки з прееклампсією) – $0,48 \pm 0,05$ на 10^9 /л ($P_1 < 0,05$); в КГ – $0,37 \pm 0,02$ на 10^9 /л. Відповідно, імунорегуляторний індекс (ІРІ) достовірно знижувався у жінок ОГ-І до $0,83 \pm 0,07$ у вагітних з прееклампсією (проти показника $1,56 \pm 0,10$ у здорових вагітних; $P_1 < 0,001$).

Виявлена тенденція до зниження абсолютної кількості CD22+ у жінок ОГ-І в цілому ($0,55 \pm 0,02$ на $10^9/\text{л}$) та при наявності у них преєклампсії ($0,57 \pm 0,04$ на $10^9/\text{л}$) порівняно з контролем ($0,60 \pm 0,03$ на $10^9/\text{л}$).

Отже, зміни клітинного імунітету у жінок ОГ-І, які не приймали запропоновану нами профілактику преєклампсії, і у яких в 43,8% випадків виникла преєклампсія, проявились його пригніченням у вигляді:

- тенденції до зниження абсолютної кількості Т-лімфоцитів (CD3+) та В-клітин (CD22+);
- зниження концентрації Т-хелперів (CD4+) при достовірному підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів (CD8+) із відповідним зменшенням показника імунорегуляторного індексу.

Було вивчено також особливості гуморального імунітету, а саме вміст імуноглобулінів класу А, М і G у сироватці крові в досліджуваних групах. Як видно з таблиці 4.4 та мал. 4.4, концентрація IgA, маючи тенденцію до зниження в ОГ-І ($1,89 \pm 0,04$ г/л проти $2,08 \pm 0,11$ г/л в КГ; $P_1 > 0,1$), не досягла рівня достовірності. Показник IgM в ОГ-І (у жінок з преєклампсією) був достовірно підвищений ($1,66 \pm 0,03$ г/л проти $1,49 \pm 0,06$ г/л в контрольній групі; $P < 0,02$). Підвищення рівня IgM (загальних) у неінфікованих жінок з преєклампсією може вказувати на наявність трофобластичної (антигенної) стимуляції імунної системи цих жінок [4,77,83,138].

Рівні IgG були достовірно знижені як в основній групі в цілому ($11,06 \pm 0,3$ г/л при показнику в КГ $13,97 \pm 0,4$ г/л; $P < 0,001$), так і у вагітних з преєклампсією ($9,28 \pm 0,4$ г/л; $P < 0,001$). Проведений нами кореляційний аналіз показав достовірний зв'язок між зниженням рівня В-лімфоцитів (CD22+) та падінням концентрації IgG як в ОГ-І в цілому ($r=0,47$; $P < 0,05$), так і у жінок цієї групи, у яких виникла преєклампсія ($r=0,58$; $P < 0,01$).

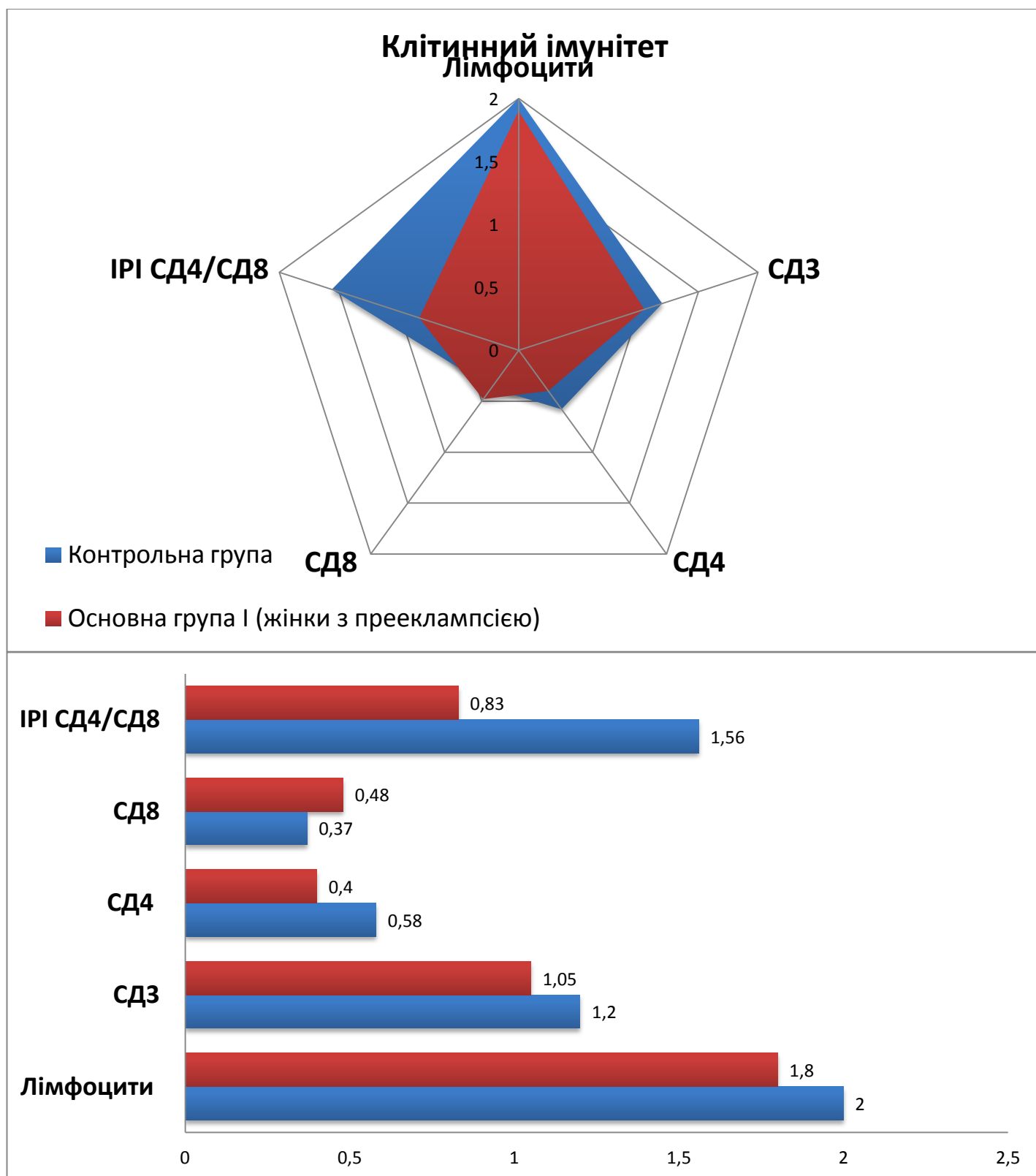
Таблиця 4.3

**Показники клітинного імунітету в крові у вагітних,
які не приймали запропоновану вторинну профілактику
пreeкламсії (ОГ-I)
(обстежених в 28-34 тижні вагітності)**

Показники клітинного імунітету	Групи жінок					
	Контрольна група n=27		Основна група-I (в цілому) n=26		Основна група-I (жінки з пreeклампс.) n=14	
	абс. цифри	%	абс. цифри	%	абс. цифри	%
Лейкоцити (10 ⁹ /л)	6,9±0,45	-	6,3±0,3 P ₁ >0,2	-	6,8±0,49 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2	-
Лімфоцити (10 ⁹ /л)	2,0±0,15	29,0±1,9	1,7±0,05 P ₁ >0,05	25,8±1,6 P ₁ >0,1	1,8±0,17 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5	26,5±2,0 P ₁ >0,2 P ₂ >0,5
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,2±0,07	60,0±3,6	1,0±0,04 P ₁ >0,5	58,8±3,8 P ₁ >0,5	1,05±0,08 P ₁ P ₂ >0,5	58,3±4,0 P ₁ P ₂ >0,5
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,58±0,03	48,3±1,7	0,50±0,03 P ₁ >0,05	50,0±2,9 P ₁ >0,5	0,40±0,02 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01	38,1±2,1 P ₁ P ₂ <0,001
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,37±0,02	30,8±1,8	0,41±0,03 P ₁ >0,2	41,0±2,2 P ₁ <0,002	0,48±0,05 P ₁ <0,05 P ₂ >0,1	45,7±2,7 P ₁ <0,001 P ₂ >0,2
CD22 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,60±0,03	30,0±1,6	0,55±0,02 P ₁ >0,1	32,4±1,8 P ₁ >0,05	0,57±0,04 P ₁ P ₂ >0,5	31,7±1,9 P ₁ >0,05 P ₂ >0,5
Імунорегуля торний індекс (ІРІ) CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,56±0,10		1,22±0,06 P ₁ <0,02		0,83±0,07 P ₁ P ₂ <0,001	

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з пreeклампсією);

P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з пreeклампсією).



Мал. 4.3. Показники клітинного імунітету в крові у вагітних ОГ-I, у яких маніфестувала преєклампсія, в 28-34 тижні вагітності

Таблиця 4.4

Показники гуморального імунітету в крові у вагітних, які не приймали запропоновану вторинну профілактику прееклампсії (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні вагітності)

Показники гуморального імунітету	Групи жінок		
	Контрольна група n=30	Основна група-I (в цілому) n=32	Основна група-I (жінки з прееклампс.) n=14
IgA, г/л	2,08±0,11	1,89±0,04 P ₁ >0,1	1,80±0,05 P ₁ >0,05 P ₂ >0,5
Ig M, г/л	1,49±0,06	1,26±0,05 P ₁ <0,05	1,66±0,03 P ₁ <0,02 P ₂ <0,001
Ig G, г/л	13,97±0,4	11,06±0,3 P ₁ <0,001	9,28±0,4 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01
ЦІК, од/мл	84,1±3,5	95,5±4,6 P ₁ <0,05	103,7±5,1 P ₁ <0,001 P ₂ <0,01

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з прееклампсією); P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з прееклампсією).

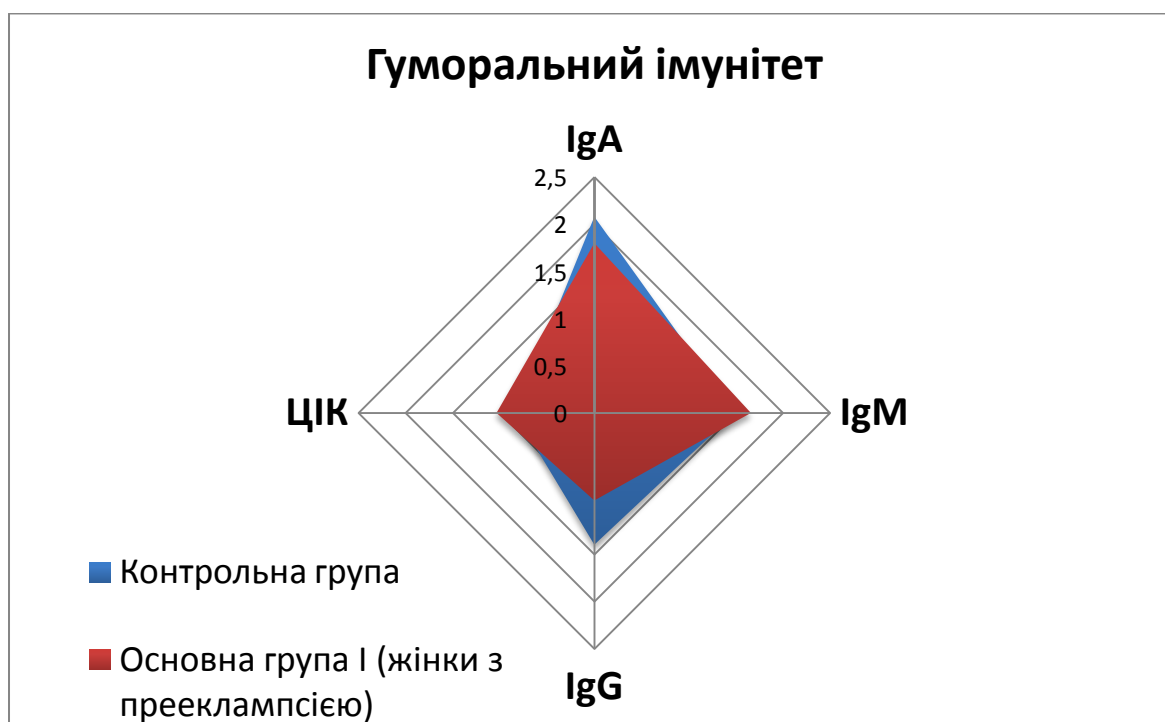
У здорових вагітних рівень IgG в сироватці крові зростає, що пов'язано з підвищеним синтезом даного імуноглобуліна для нейтралізації специфічного антигена трофобласта [26,29,31,34]. Відчутне падіння концентрації IgG у жінок з прееклампсією викликано, вірогідно, виснаженням реактивності гуморального ланки загального імунітету при цьому захворюванні [36,137].

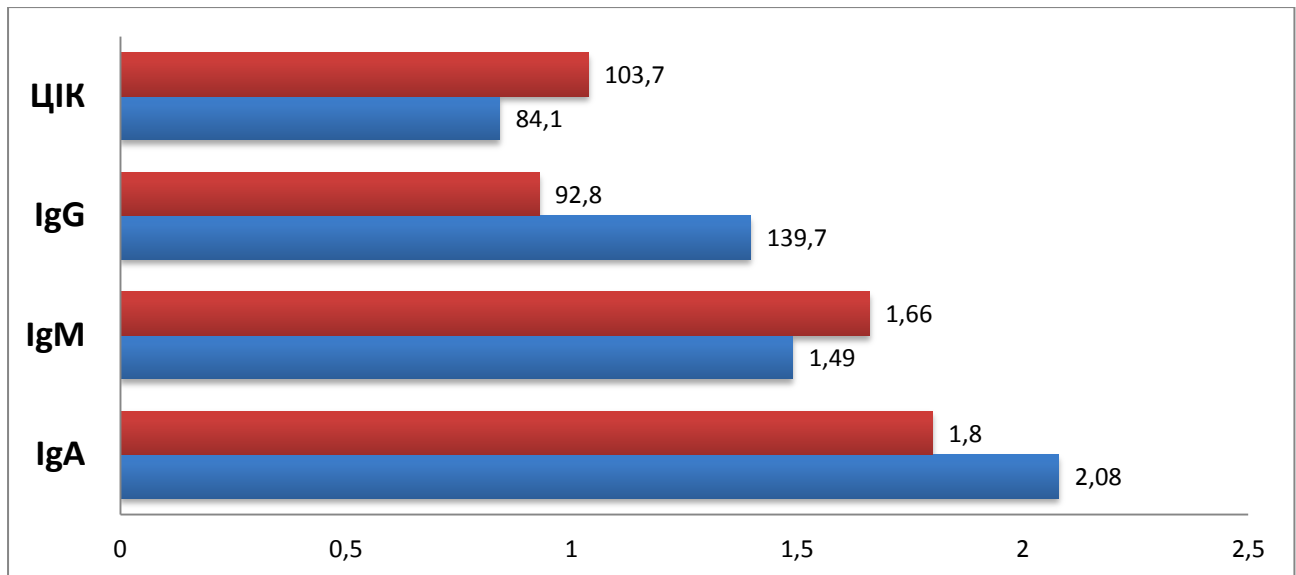
Нашим дослідженням продемонстровано збільшення циркулюючих імунних комплексів в ОГ-I (95,5±4,6 од/мл при показнику в КГ 84,1±3,5 од/мл; P<0,05), особливо у вагітних, у яких розвинулась прееклампсія (103,7±5,1 од/мл) (табл. 4.4; мал. 4.4). Цей факт свідчить про формування

імунокомплексних реакцій у жінок з прееклампсією, що і підтверджується високим рівнем загальних ЦІК у сироватці їх крові.

Представлені результати проведеного дослідження клітинно-гуморального імунітету показали, що у вагітних ОГ-I, які не отримували запропонованого нами лікувально-профілактичного комплексу препаратів (і у яких майже в половині випадків маніфестувала прееклампсія), поглибилися явища імуносупресії, притаманні вагітності в цілому [36,43,83]. Особливе значення у розвитку прееклампсії має зниження продукції протизапальних цитокінів (див. підрозділ 4.3) із вірогідною супресією Т-хелперів 2 типу.

І саме перевага імуносупресії чи імуноагресії під час вагітності, а також глибина цих порушень імунної рівноваги мають ключове значення у перебігу вагітності і розвитку ускладнень, в тому числі, прееклампсії [31,51]. Тому це питання вимагає, на нашу думку, подальших поглиблених досліджень задля кращого розуміння усіх патологічних процесів, що можуть виникнути в організмі вагітної жінки.





Мал. 4.4. Показники гуморального імунітету в крові у вагітних ОГ-І, у яких маніфестувала преєклампсія, в 28-34 тижні вагітності

4.3. Рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії

Вивчаючи динаміку змін показників прозапальних та протизапальних цитокінів при фізіологічній вагітності та вагітності, ускладненій преєклампсією, виявилось, що у вагітних з групи високого ризику по виникненню преєклампсії (ОГ-І) спостерігалось значне зростання рівнів прозапальних цитокінів $\text{INF-}\gamma$ та $\text{TNF-}\alpha$ (табл. 4.5). Так, концентрація $\text{INF-}\gamma$ в цервікальному слизу в ОГ-І становила $13,06 \pm 0,70$ пг/мл проти $10,42 \pm 0,51$ пг/мл в КГ ($P_1 < 0,01$), а вміст $\text{TNF-}\alpha$ в ОГ-І дорівнював $7,05 \pm 0,54$ пг/мл при показнику в КГ $3,40 \pm 0,24$ пг/мл ($P_1 < 0,001$). А у жінок ОГ-І, у яких виникла преєклампсія, рівень прозапальних цитокінів достовірно збільшився не тільки по відношенню жінок контрольної групи, а й по відношенню вагітних ОГ-І в цілому ($\text{INF-}\gamma$ становив у них $15,80 \pm 0,85$ пг/мл; $\text{TNF}\alpha$ – $8,79 \pm 0,48$ пг/мл) (всі розбіжності достовірні) (табл. 4.5, мал. 4.5).

На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів у обстежених вагітних, концентрація протизапального цитокіну IL-10 достовірно знижувалась (табл. 4.5), сягаючи величини $4,90 \pm 0,25$ пг/мл у жінок, у яких виникла преєклампсія (проти $9,56 \pm 0,63$ пг/мл в контрольній групі та $6,14 \pm 0,19$ пг/мл в ОГ-І в цілому; $P_1 P_2 < 0,001$).

Рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних, які не приймали запропоновану вторинну профілактику прееклампсії (ОГ-I), в 28-34 тижні вагітності

Рівень про- та протизапальних цитокінів	Групи жінок		
	Контрольна група n=27	Основна група-I (в цілому) n=26	Основна група-I (жінки з прееклампс.) n=14
INF- γ , пг/мл	10,42 \pm 0,51	13,06 \pm 0,70 P ₁ <0,01	15,80 \pm 0,85 P ₁ <0,001 P ₂ <0,02
TNF- α , пг/мл	3,40 \pm 0,24	7,05 \pm 0,54 P ₁ <0,001	8,79 \pm 0,48 P ₁ <0,001 P ₂ <0,05
IL-10, пг/мл	9,56 \pm 0,63	6,14 \pm 0,19 P ₁ <0,001	4,90 \pm 0,25 P ₁ P ₂ <0,001
TNF- α /IL-10	0,36 \pm 0,02	1,15 \pm 0,06 P ₁ <0,001	1,80 \pm 0,09 P ₁ P ₂ <0,001
INF- γ /IL-10	1,09 \pm 0,10	2,13 \pm 0,14 P ₁ <0,001	3,22 \pm 0,12 P ₁ P ₂ <0,001

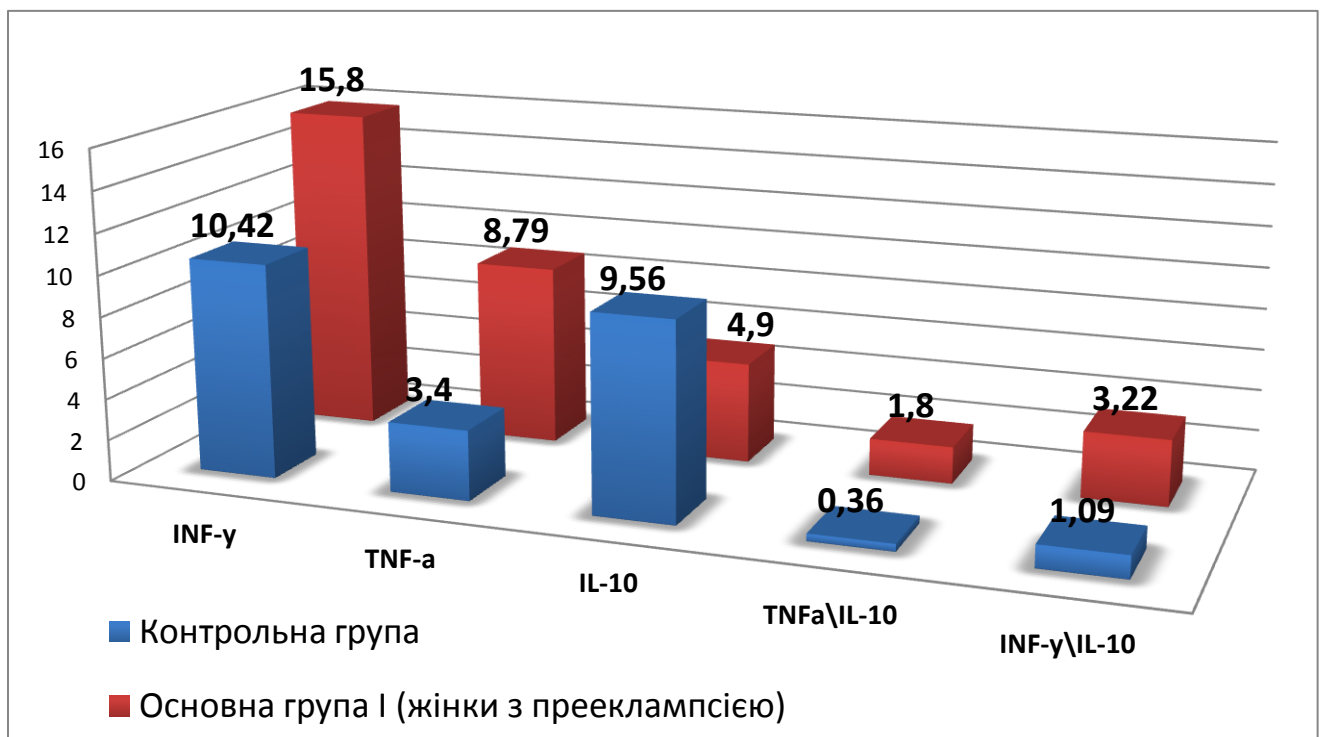
Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з прееклампсією); P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з прееклампсією).

Продемонстровані нашим дослідженням явища імунологічного дисбалансу у вагітних з прееклампсією сприяють, вірогідно, нездатності трофобластів виконати повноцінну інвазію в спіральні артерії матки з подальшим розвитком ендотеліальної дисфункції.

Відповідно протилежним змінам вмісту про- та протизапальних цитокінів, прогресивно зростав показник коефіцієнту TNF- α /IL-10 від величини 0,36 \pm 0,02 в КГ до 1,15 \pm 0,06 в ОГ-I в цілому (P₁<0,001) та до 1,80 \pm 0,09 у вагітних ОГ-I, у яких виникла прееклампсія (P₁P₂<0,001). Цей коефіцієнт зріс в 3,2 рази в ОГ-I в цілому та в 5 разів у жінок ОГ-I, у яких виникла прееклампсія.

Також значно збільшився коефіцієнт $INF-\gamma/IL-10$ від $1,09\pm 0,10$ в КГ до $2,13\pm 0,14$ в ОГ-I (в цілому) ($P_1 < 0,001$) та $3,22\pm 0,12$ в ОГ-I (жінки з преєклампсією) ($P_1 P_2 < 0,001$), що свідчить про вірогідну активацію НК-клітин у вагітних з преєклампсією, які відмовились від превентивного лікування [1].

Тобто, наші дослідження вмісту про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизу показали, що для жінок з преєклампсією характерне значне домінування прозапальних цитокінів (мал. 4.5).



Мал. 4.5. Рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних, які не приймали вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I, жінки з преєклампсією) в 28-34 тижні вагітності

Таким чином, надмірна запальна реакція материнського організму (у вигляді надлишкового вивільнення прозапальних цитокінів при дефіциті протизапальних цитокінів) [113,141], яка, вірогідно, спрямована проти чужорідних фетальних антигенів, призводить до ланцюга подій, включаючи неповноцінну інвазію трофобласта в спіральні артерії матки з подальшим формуванням системної ендотеліальної дисфункції [32,69,91,105,108,132,138,144].

4.4. Зміни активності індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії

Фізіологічний перебіг вагітності значною мірою залежить від адекватної адаптації до цього стану різних компонентів серцево-судинної системи, в першу чергу, ендотелію судин [9,80,91,94,100,272]. Зміна продукції ендотеліальних факторів починається на ранніх термінах вагітності, коли у здорових жінок посилюється вироблення факторів, що постійно утворюються – NO та простагліцину. Адекватна продукція NO забезпечує достатній плацентарний кровоток, трофіку та оксигенацію плода. Крім того, NO приймає безпосередню участь у регуляції тону судин, кровотоку, рівня артеріального тиску (АТ), системної та регіональної гемодинаміки [9,36,53].

Зниження рівня NO в організмі вагітної призводить до порушення процесів плацентарної та є причиною ембріо- та фетопатій, синдрому затримки розвитку і антенатальної загибелі плода [80,96,100].

Ферменти аргінази і NO-синтаза конкурують між собою за загальний субстрат – L-аргінін. Аргіназа здатна пригнічувати ендотеліальну NO-синтазу (eNOS), для протидії цьому компенсаторно активується інша форма NO-синтази – індукцибельна NO-синтаза (iNOS) [98,146,149,171,208].

На сьогодні доведено зв'язок iNOS та аргінази з диференціацією децидуальних макрофагів, при цьому iNOS сприяє утворенню саме субпопуляції M1, в той час як аргіназа – M2 [101,102]. Порушення балансу цих двох ферментів свідчить про виникнення дисбалансу субпопуляцій децидуальних макрофагів.

Нами були вивчена активність iNOS та аргінази в цервікальному слизу у здорових вагітних (група контролю) та у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії, які не приймали запропоновану їм вторинну профілактику прееклампсії (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Активність індукбельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних, які не приймали запропоновану вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I), в 28-34 тижні вагітності

Вміст iNOS та аргінази	Групи жінок		
	Контрольна група n=30	Основна група-I (в цілому) n=32	Основна група-I (жінки з преєклампс.) n=14
Активність iNOS, мкмоль/хв/ 1 г білка	1,24±0,16	2,90±0,27 P ₁ <0,001	3,28±0,35 P ₁ <0,001 P ₂ >0,02
Активність аргінази, мкмоль/хв/ 1 г білка	2,21±0,19	1,3±0,15 P ₁ <0,001	1,14±0,11 P ₁ <0,001 P ₂ >0,5

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з преєклампсією); P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I (в цілому) та ОГ I (жінки з преєклампсією).

Виявилось, що активність iNOS в ОГ-I (тобто в групі жінок високого ризику виникнення преєклампсії, які не приймали запропоновану профілактику преєклампсії) достовірно зростає (2,90±0,27 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-I проти 1,24±0,16 мкмоль/хв/1 г білка в групі контролю; P₁<0,001), сягаючи показника 3,28±0,35 мкмоль/хв/1 г білка у жінок ОГ-I, у яких виникла преєклампсія (P₁<0,001) (табл. 4.6; мал. 4.6).

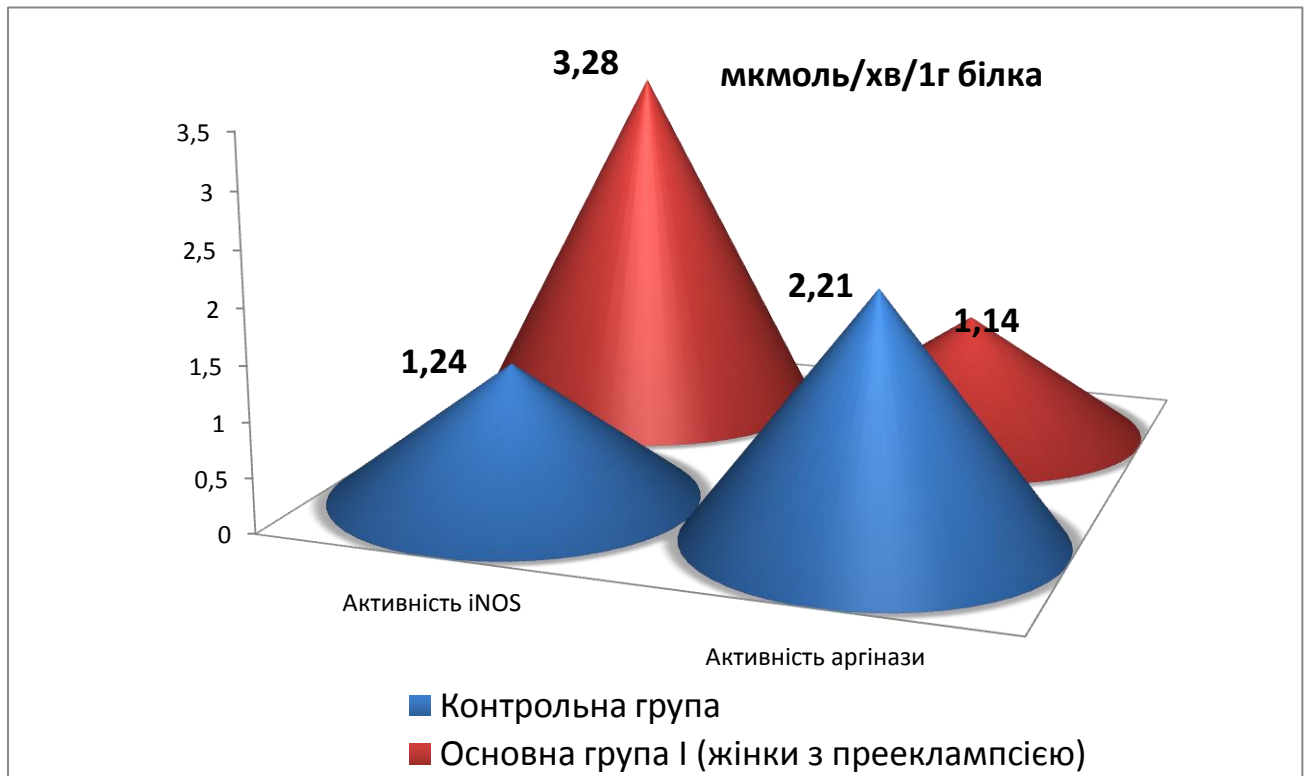
Були розраховані кореляції між активністю iNOS та рівнем про- і протизапальних цитокінів. Виявилась сильна позитивна кореляція між активністю iNOS та вмістом прозапального цитокіна TNF-α в цервікальному слизу (r=0,78; P<0,001) та помірно сильна кореляція між активністю iNOS та вмістом прозапального цитокіна INF-γ в цервікальному слизі (r=0,56; P<0,01). Тоді як кореляція між активністю iNOS та вмістом протизапального цитокіну IL-10 в цервікальному слизі виявилась з від'ємним направленням помірної сили (r=-0,49; P<0,05).

На противагу активації фермента iNOS, активність аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-I порівняно з контролем достовірно знижувалась (табл. 4.6): в 1,7 рази в ОГ-I в цілому і в 1,9 рази у жінок ОГ-I, у яких розвинулась прееклампсія ($P < 0,001$).

Знайдена від'ємна кореляція між зростанням активності iNOS та зниженням активності аргінази в цервікальному слизі у пацієток ОГ-I ($r = -0,41$; $P < 0,05$) і позитивна кореляція між падінням вмісту протизапального цитокіну IL-10 та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизу ($r = 0,54$; $P < 0,02$).

Спираючись на наведені дані, можна заключити, що у вагітних з прееклампсією порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF- α та INF- γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS. Активність же аргініну суттєво знижується.

Враховуючи той факт, що INF- γ та iNOS приймають участь в диференціації децидуальних макрофагів із стимуляцією субпопуляції M1, а IL-10 та аргінін сприяють виробленню субпопуляції M2, виникла нагальна потреба дослідити реальне співвідношення цих субпопуляцій децидуальних макрофагів в плацентах породіль, які перенесли прееклампсію під час вагітності, методом імуногістохімії. Результати цього дослідження наведені в підрозділі 4.5.



Мал. 4.6. Вміст індукбельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних, які відмовились від запропонованого лікування (ОГ-I, жінки з преєклампсією), в терміні вагітності 28-34 тижні

4.5. Співвідношення децидуальних макрофагів субпопуляцій M1 та M2 в плацентах породіль, які перенесли преєклампсію під час вагітності

Значну роль в забезпеченні імунологічного захисту організму відводять макрофагам та моноцитам, які складають близько 10-15% загальної кількості клітин кожного людського організму [36,65,229].

Існує 2 фенотипи активованих макрофагів: M1 (прозапальний фенотип) і M2 (імуномодуючий і тканинний ремоделюючий фенотип).

Активація тканинних макрофагів відбувається в дві хвили. Перша хвиля активації макрофагів заключається в їх диференціації на фенотипи M1 (під впливом внутрішньоклітинних мікроорганізмів та/або $\text{INF-}\gamma$ при активній участі NF- κB) [186,214,220] (Фото 4.1) та M2 (який формується під дією екстраклітинних мікроорганізмів або паразитів та/або протизапальних цитокінів) [36,65,81,82,101,102,214,267] (Фото 4.2).

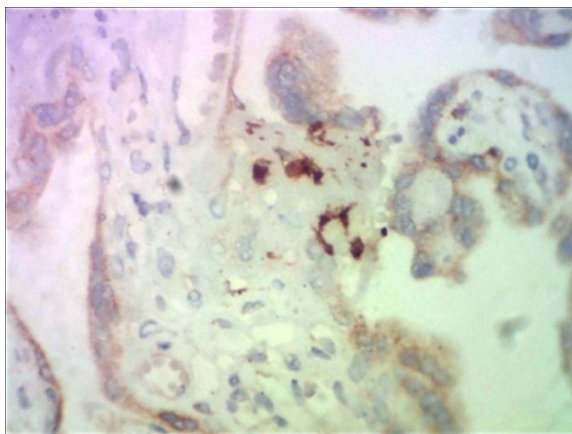


Фото 4.1. Експресія CD68 (M1) в плаценті жінки контрольної групи.
Збільшення в 400 разів.

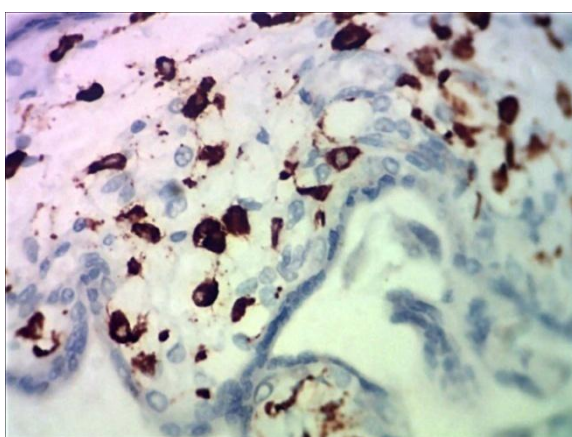


Фото 4.2. Експресія CD163 (M2) в плаценті жінки контрольної групи.
Збільшення в 400 разів.

Друга хвиля активації тканинних макрофагів стимулює подальшу клітинну та гуморальну відповідь імунної системи: M1 фенотип макрофагів сприяє розвитку активних Т-хелперів 1 типу (Th1), що викликає подальшу активацію макрофагів з виробленням ними великої кількості активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO). Ці речовини, в свою чергу, обумовлюють посилення цитотоксичної активності активованих макрофагів M1 [36,65,82,101,160,188,214].

M2-макрофаги – клітини інтегрованої Th2 відповіді, яка сприяє зменшенню продукції прозапального цитокіну TNF- α та збільшенню вироблення протизапального цитокіну ІЛ-10 із зниженням вироблення NO, оскільки клітини M2 експресують підвищену кількість аргінази, яка конкурує з iNOS за L-аргінін. Важливим є те, що M2-клітини сприяють ремоделюванню та репарації шкоджених тканин [65,155,160,188,189,214].

Для успішного перебігу вагітності необхідно, щоб баланс субпопуляцій макрофагів M1 та M2 залишався належним чином збалансованим протягом всієї гестації [36,65,155,173,174,175,176,188,189,248]: у здорових жінок в період імплантації макрофаги переважно індукуються до активації M1; після успішного завершення інвазії трофобласта макрофаги переключаються на змішаний профіль M1/M2, який підтримується протягом першого і ранньої фази другого триместру вагітності; в подальшому поляризація макрофагів зміщується в бік M2. Домінування децидуальних макрофагів субпопуляції M2 перешкоджає відторгненню плода і дозволяє забезпечити нормальний розвиток плода до самих пологів; і, нарешті, початку пологів, які вважаються прозапальними подіями, передують накопичення в матці макрофагів субпопуляції M1.

Невідповідна макрофагальна поляризація асоціюється з аномальними вагітностями, такими як спонтанний аборт, передчасні пологи, прееклампсія, затримка розвитку плоду та ін. [36,43,83,248,272].

Нами було проведено дослідження співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 імуногістохімічним методом в плацентах жінок із преєклампсією, що були розроджені в другому триместрі та в ранній фазі третього триместру вагітності за медичними показаннями. Отримані дані порівнювали із співвідношенням цих субпопуляцій в плацентах здорових жінок, розроджених в 32-34 тижні вагітності в зв'язку з наявністю у них монохоріальної моноамніотичної двійні (розродження в такій клінічній ситуації та в такому терміні вагітності передбачено сучасними клінічними протоколами).

У контрольній групі макрофаги M1 і M2 визначались дифузно по всій товщі ворсин та децидуальної тканини. CD68 (M1) мали відросчату форму, CD163 (M2) були переважно округлої форми. У групі лікованих пацієнток ОГ-II цитологічна картина була аналогічна контрольній групі. У ОГ-I CD68 розміщувались дифузно, CD163 локалізувались переважно у сполучній тканині

decidua на межі з цитотрофобластом і, на відміну від контрольної групи, мали відросчасту форму.

Кількісні результати цього дослідження наведені у вигляді середньої кількості макрофагів в 10 полях зору (табл. 4.7, мал. 4.7).

В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження виявилось, що в плацентах жінок із преєклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок ($94,2 \pm 5,2/10$ полів зору проти $56,5 \pm 4,5/10$ полів зору у здорових жінок; $P < 0,001$) (табл. 4.7; фото 4.3).

Таблиця 4.7

Вміст субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плацентах жінок з преєклампсією, які не приймали запропоновану вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I), в 28-34 тижні вагітності (середня кількість макрофагів, визначених імуногістохімічним методом, в 10 полях зору)

Вміст субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2	Контрольна група n=5 (в 50 полях зору)	Основна група-I (жінки з преєклампсією) n=10 (в 100 полях зору)
Децидуальні макрофаги фенотипу M1 (к-сть в 10 полях зору)	$56,5 \pm 4,5$	$94,2 \pm 5,2$ $P < 0,001$
Децидуальні макрофаги фенотипу M2 (к-сть в 10 полях зору)	$135,0 \pm 6,4$	$88,6 \pm 6,7$ $P_1 < 0,001$
Співвідношення M1/M2	$0,42 \pm 0,043$	$1,06 \pm 0,30$ $P < 0,05$

Примітка: P – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ-I (жінки з преєклампсією).

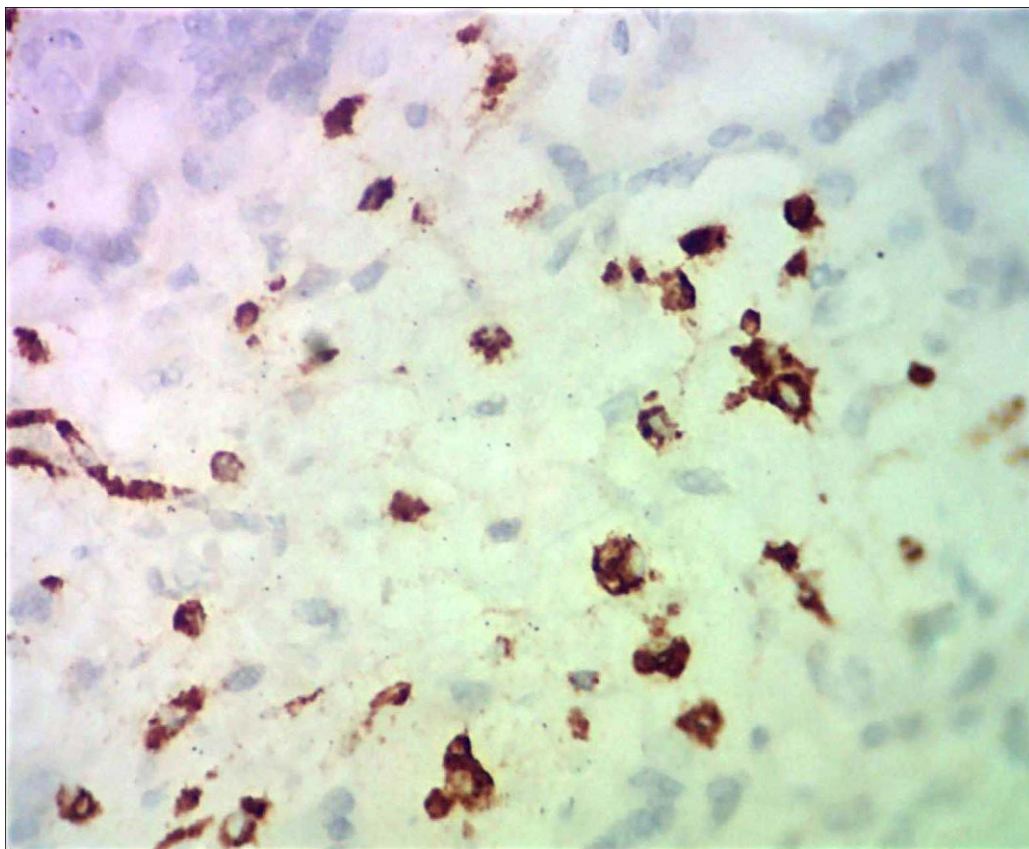


Фото 4.3. Експресія CD68 (M1) в плаценті жінки основної групи I (яка не отримувала профілактичного лікування). Збільшення в 400 разів.

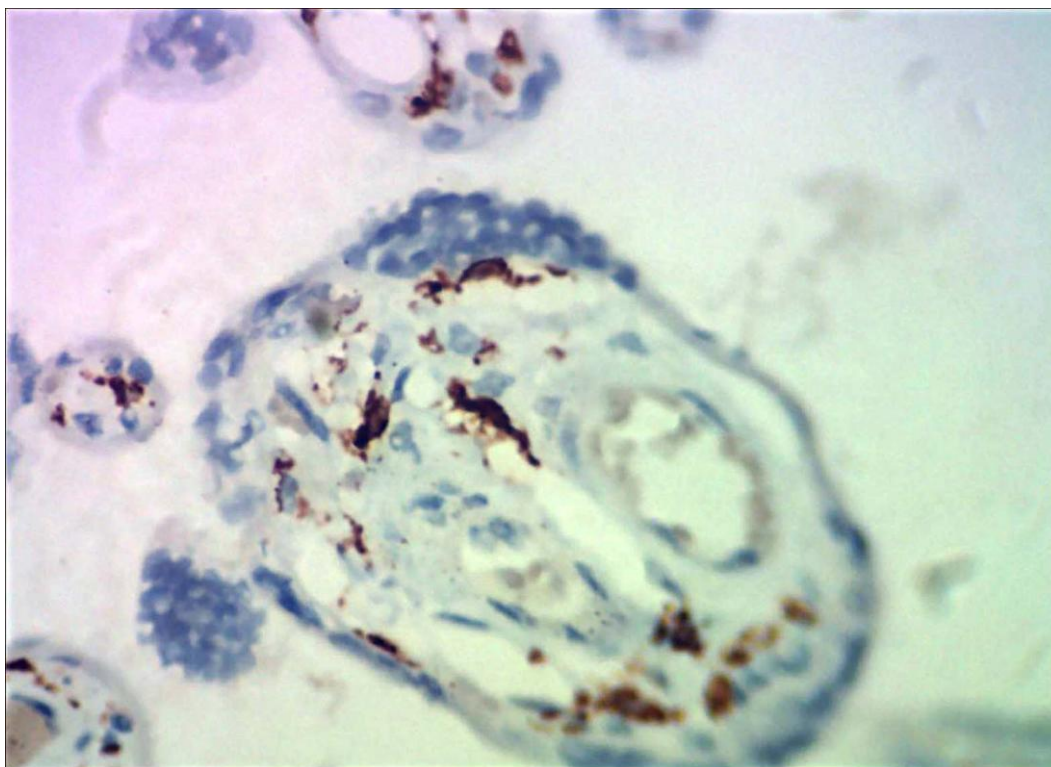
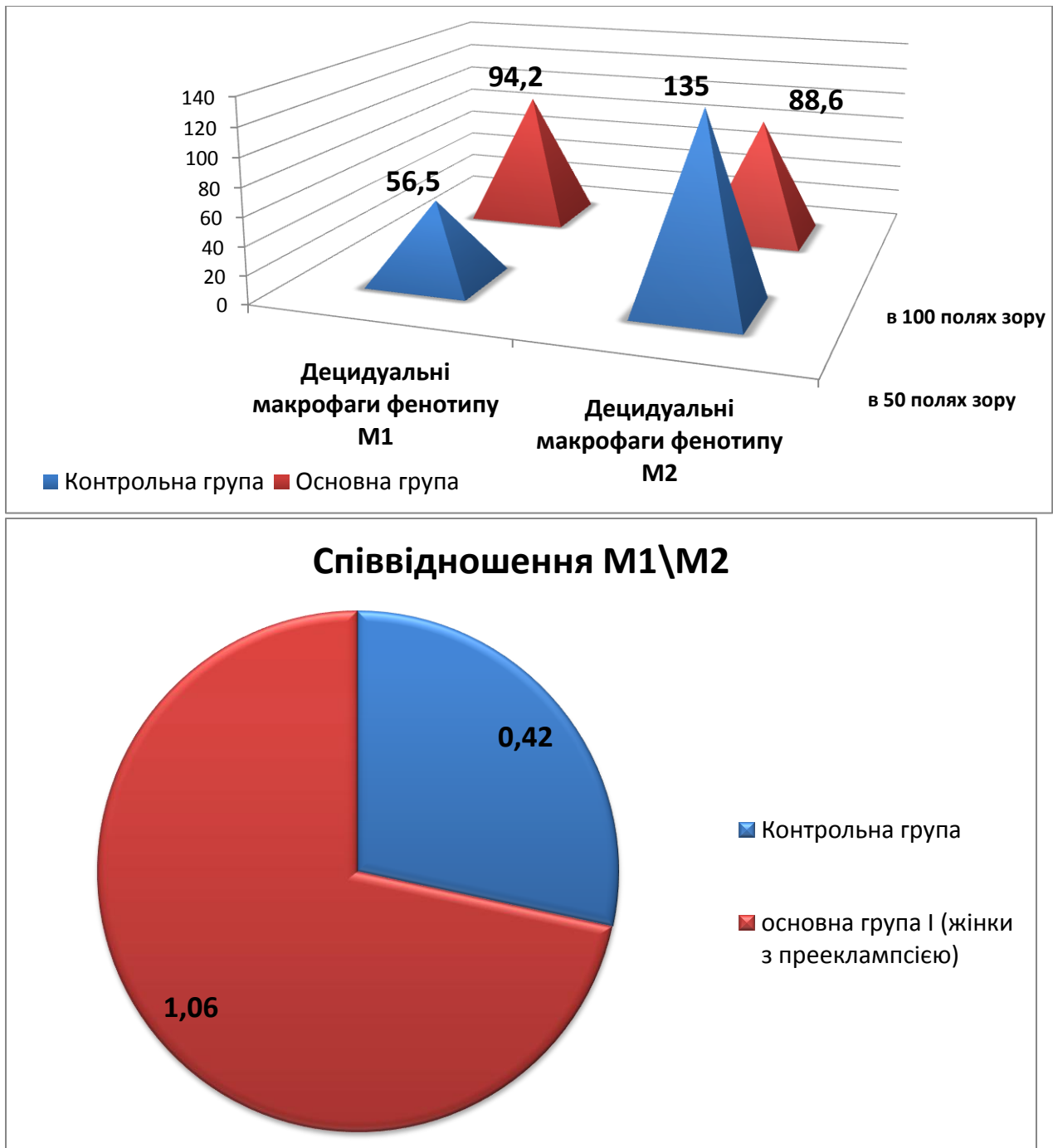


Фото 4.4. Експресія CD163 (M2) в плаценті жінки основної групи I (яка не отримувала профілактичне лікування). Збільшення в 400 разів.



Мал. 4.7. Вміст і співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плацентах жінок з преєклампсією, які не приймали запропоновану нами профілактику розвитку гестозу, в 28-34 тижні вагітності

Вміст же макрофагів фенотипу M2, навпаки, зменшувався в 1,5 рази ($88,6 \pm 6,7/10$ полів зору при $135,0 \pm 6,4/10$ полів зору у здорових; $P_1 < 0,001$) (табл. 4.7; фото 4.4). Відповідно, співвідношення M1/M2 у хворих на преєклампсію достовірно зростало в 2,5 рази ($1,06 \pm 0,30$ у хворих проти $0,42 \pm 0,043$ у здорових жінок; $P < 0,05$) (мал. 4.7).

Знайдені достовірні кореляції між вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок, у яких виникла преєклампсія в II триместрі або в ранній фазі III триместру вагітності, і концентрацією в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Тобто, на противагу здоровим вагітним, у жінок з преєклампсією в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції M1 (за рахунок стимулюючого впливу INF- γ та активації індукцибельної NO-синтази), що, вірогідно, спричиняє порушення функції плаценти в ці терміни вагітності. Такий висновок походить із особливостей функції макрофагів M1, дія яких направлена на вироблення великої кількості прозапальних цитокінів, активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO), які обумовлюють цитотоксичну активність активованих макрофагів M1. Внаслідок дії надлишкових кількостей плацентарних макрофагів M1 у таких жінок прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки з подальшим виникненням незадовільної перфузії плацентарної тканини і порушенням матково-плацентарно-плодового кровоплину та розвитком системних проявів преєклампсії. Такі порушення диференціації децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в сторону фенотипу M1, вірогідно, є одним з основних патофізіологічних механізмів розвитку преєклампсії.

Враховуючи це, напрямки вторинної профілактики преєклампсії необхідно спрямувати на відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляцію фенотипу M2).

Результати досліджень, викладені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

1. O.Makarov, V.Likhachov, O.Taranovskaya, L.Dobrovolska, V.Vashchenko. Role of uterine blood flow disturbances in the developmen to flate gestosis (Роль порушень маткового кровотоку у розвитку пізнього гестозу). *Wiadomosci Lekarskie*. 2018; LXXI (9):1719-1721. (Scopus).

2. Likhachov V, Vashchenko V, Shymanska Ya. Features of structure and functions of decidual macrophages in healthy pregnancy and preeclampsia (Особливості будови та функції децидуальних макрофагів у здорових вагітних та у жінок з прееклампсією). *Проблеми екології та медицини*. 2019; 23 (5-6):50-55.

3. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Акімов ОЄ, Тарановська ОО. Фактори диференціації децидуальних макрофагальних субпопуляцій M_1 та M_2 у вагітних з прееклампсією, порушення їх співвідношення та пошуки шляхів корекції. *Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020; Том 20. Випуск 3 (71):14-19.

4. Ліхачов ВК, Ващенко ВЛ, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Макаров ОГ. Зміни показників клітинно-гуморального імунітету та рівень про-і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії. *Світ медицини та біології*. 2021; 76 (2): 78-83. (Web of Science).

РОЗДІЛ 5

ШЛЯХИ ОПТИМІЗАЦІЇ ВТОРИННОЇ ДОКЛІНІЧНОЇ ПРОФІЛАКТИКИ ПРЕЕКЛАМПСІЇ У ВАГІТНИХ ГРУПИ ВИСОКОГО РИЗИКУ ПО ЇЇ ВИНИКНЕННЮ

5.1. Патогенетичне обґрунтування вторинної профілактики прееклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню

Дослідження клініко-імунологічних механізмів розвитку прееклампсії у жінок високого ризику її виникнення (анамнестично знайдені фактори ризику, підтвержені виявленням зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності), з подальшим вивченням імунологічних показників у таких хворих (загальна імунограма крові; рівень про- та протизапальних цитокінів і дослідження активності індукцибельної NO-синтази та загальної аргіназної активності в слизу цервікального каналу; імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині) дозволило нам сформувати патогенетичний ланцюжок розвитку даного захворювання (детально цей ланцюжок викладений в підрозділі 2.2).

Коротко його можна викласти наступним чином: ендотеліальна дисфункція, притаманна прееклампсії [48,83,225], активує імунну відповідь Th1 типу із надлишковою продукцією прозапальних цитокінів та відповідною індукцією диференціації децидуальних макрофагів субпопуляції M1 [101,112,114], що, в свою чергу (через активацію iNOS), призводить до вироблення значної кількості оксиду азоту та активованих форм кисню і цитолізу клітин плаценти [146,149,171,185,208]. При цьому пригнічується імунна відповідь Th2 типу із зниженням вмісту протизапальних цитокінів і порушується диференціація M2-макрофагів (оскільки протизапальний цитокін IL-10 є індуктором цього процесу). В нормі M2-макрофаги повинні домінувати більшу частину вагітності, так як саме вони надають тканині плаценти протективну підтримку і перешкоджають відторгненню плода аж до пологів [36,76,101,188,214]. Виявлені нами нефізіологічні зміни балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 на користь M1 призводять до

прогресування ендотеліальної дисфункції, виникнення прееклампсії і зниження кровоплину в спіральних артеріях матки, а в подальшому – і до страждання плодового кровотоку із затримкою розвитку та дистресу плода [28,32,98].

Отже, для проведення ефективної вторинної профілактики виникнення і прогресування прееклампсії у жінок групи високого ризику по цьому захворюванню, в II та першій частині III триместру вагітності необхідно змінити баланс M1- та M2-макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2 і активізувати кровоплин в *arteria uterina* та в спіральних артеріях матки для недопущення гіпоксії і затримки розвитку плода.

Для вирішення цих задач ми застосували комплекс медикаментозних заходів, які інгібують диференціацію децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 (метформін) [17,51,158,177,190,238,251], стимулюють диференціацію M2-макрофагів (вітамін D3) [253,267] та сприяють інтенсифікації кровоплину в *arteria uterina* і в спіральних артеріях матки (корвітин) [24,25,68].

За умови маніфестації прееклампсії наприкінці II - у III триместрі вагітності також призначалось протокольне лікування, яке передбачало застосування антигіпертензивних препаратів та, при необхідності, магnezіальної терапії.

Для початку вторинної профілактики прееклампсії існує «терапевтичне вікно» (кінець I - початок II триместрів вагітності) [56]. В цей час відбувається активний дисморфоз спіральних судин матки в матково-плацентарні судини (за рахунок реалізації другої хвилі інвазії клітин трофобласту в стінку спіральних артерій матки в області плацентарної площадки). Тому ми розпочинали розроблені нами профілактичні заходи саме в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

Метформін – лікарський засіб класу бігуанідів для прийому всередину. До останнього часу цей препарат застосовувався тільки для лікування цукрового діабету II типу, особливо у осіб із надлишковою масою тіла та ожирінням. Але, починаючи з 2006 року, в ряді досліджень показані й інші ефекти метформіну, незалежні від його гіпоглікемічної дії [17,51,158,177,190,238]:

- метформін дозозалежно пригнічує вивільнення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TNF α в макрофагах і ендотеліоцитах людини;
- він покращує ендотеліальну функцію та стимулює вироблення протизапальних цитокінів (ІЛ-10);
- пригнічує секрецію TNF α через зниження активності NF- κ B (нуклеарного фактора транскрипції) з наступним зменшенням дифференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1.

Отже, в основі очікуваних ефектів метформіну лежить зниження під його дією транслокації нуклеарного фактора транскрипції (NF- κ B), що призводить до пригнічення запальних процесів в судинній стінці, зменшення вироблення прозапальних цитокінів, покращення ендотеліальної функції в умовах протизапальних ефектів цитокінів та зниження дифференціації M1-макрофагів.

Питання щодо можливості призначення метформіну вагітним, його ефективності в плані профілактики гестаційної гіпертензії і його можливого впливу на перебіг вагітності та пологів детально обговорені в підрозділі 2.2.

Ми призначали метформін вагітним з наявними анамнестичними факторами ризику по виникненню преєклампсії, з ІМТ>25, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, до розродження жінки. Препарат призначався по 500 мг на добу.

Вітамін Д3, перш за все, є регулятором метаболізму кальцію та фосфатів, що сприяє правильній мінералізації і росту скелета. Разом з тим, він необхідний для функціонування паращитовидних залоз, кишечника, нирок і кісткової системи. Іони кальцію впливають на ряд важливих біохімічних процесів, що зумовлюють підтримку тону м'язів скелетної мускулатури, беруть участь у проведенні нервового збудження та впливають на згортання крові і функціонування імунної системи. Активним метаболітом вітаміну D є 1,25-дигідроксивітамін D (1,25[ОН]₂D).

Децидуальні макрофаги класифікують відповідно до їх функціональної ролі, що включає прозапальний і протизапальний підтипи: M1 макрофаги

беруть участь у прогресуванні запалення (через секрецію прозапальних цитокінів TNF- α , IL-1 α , IL-1 β , IL-12, iNOS), тоді як M2-децидуальні макрофаги слугують для стимулювання фетально-материнської імунної толерантності, ремоделювання тканин і очищення від апоптотичних клітин (через секрецію протизапальних біологічно активних речовин: аргінази, IL-10).

Вітамін D грає роль регулятора децидуального імунітету, а плацента є однією з основних ланок для екстраниркового синтезу 1,25[OH]2D. Показано, що 1,25[OH]2D не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1 [253,267].

Тому ми застосовували по 2000 МО вітаміну D3 на добу вагітним з наявними анамнестичними факторами ризику по виникненню преєклампсії, з ІМТ>25, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності і до розродження жінки.

Корвітин є комплексом кверцетина (500 мг) з повідоном (молекулярна маса 7100-11000 кД, 450 мг). Кверцетин, що входить до складу препарату, має властивості модулятора активності ферментів, які беруть участь у деградації фосфоліпідів (фосфоліпаз, фосфогеназ, циклооксигеназ), а також інгібує мембранотропні ферменти і, насамперед, 5-ліпоксигеназу. Кверцетин обумовлює відновлення регіонального кровообігу і мікроциркуляції без помітних змін тону судин. Препарат гальмує продукцію прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-8, що зменшує дисбаланс вазодилаторів і вазоконстрикторів. Такий ефект важливий у вагітних з преєклампсією, у яких відбувається ендотеліальне пошкодження спіральних артерій, що призводить до зниження концентрації вазодилаторів (простацикліну, оксиду азоту) і підвищення рівня судинозвужувачів (тромбоксану, ендотеліну-1). Тому здатність кверцетину нормалізувати баланс вазопресорів та вазодилаторів, за рахунок чого відновлюється регіональний кровоток, дозволяє збільшити знижений кровоплин в спіральних артеріях матки у вагітних з преєклампсією [24,68].

Цей препарат застосовується у вагітних в Україні, починаючи з 2012 року [24,25,26,68]. У жінок з гіпертензивними розладами цей препарат, в комплексній терапії, сприяє зменшенню розладів гемодинаміки в системі мати-плацента-плід, покращує стан плода при плацентарній недостатності, зменшує частоту асфіксії новонароджених. Негативних впливів на стан вагітної, плода та новонародженого не було виявлено.

Ми застосовували корвітин, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, шляхом внутрішньовенних крапельних інфузій по 500 мг препарату, розчиненого в 100 мл фізрозчину 1 раз на добу протягом 10 днів. Курс лікування цим препаратом повторювався двічі за вагітність, через 6 тижнів.

Для оцінки ефективності розробленого нами комплексу медикаментозної вторинної профілактики преєклампсії всі жінки були розподілені на три клінічні групи:

- **контрольна група – КГ (здорові вагітні)** (30 осіб);
- **основна група (ОГ)** – (91 вагітна), яка була поділена на дві підгрупи:
 - ✓ **ОГ-I** – 32 вагітні, які не отримували удосконаленої вторинної профілактики преєклампсії, тому вони приймали профілактичні заходи згідно нормативним настановам (75 мг ацетилсаліцилової кислоти та 2 г кальцію в перерахунку на діючу речовину), починаючи з 20 тижнів вагітності;
 - ✓ **ОГ-II** – 59 вагітних, які отримували запропоновану нами вторинну профілактику преєклампсії (метформін, вітамін D3 та корвітин), починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

У цих 121 вагітних при включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності визначали біохімічні показники крові (які є маркерами діяльності печінки, підшлункової залози та нирок), параметри клітинно-гуморального імунітету в крові, виконувалось клініко-лабораторне обстеження, визначались дані щодо інтенсивності кровотоку в маткових та спіральних артеріях матки в

області плацентарної площадки. В 28-34 тижні вагітності вивчався стан загального та місцевого імунітету, включаючи дослідження рівнів про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу. Досліджувалась активність індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу. Проводилось клініко-лабораторне обстеження цих жінок, в тому числі визначення стану плода за даними УЗД і КТГ. Вивчали баланс субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті. Для порівняння з показниками результатів в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності повторно виконувалось біохімічне дослідження крові.

При включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності всім жінкам (121 особі) був виконаний біохімічний аналіз крові для визначення у ній показників, які є маркерами діяльності життєво важливих органів (печінки, підшлункової залози та нирок). Тоді було виявлено, що концентрація глюкози крові натще, ферментів АлАТ та АсАТ, загального білка, білірубіна (загального, прямого та непрямого), а також креатиніну у жінок всіх трьох груп обстежених (КГ, ОГ-I, ОГ-II) в цей термін вагітності достовірно не відрізнялись між собою і відповідали нормальним показникам (табл. 3.5).

В 28-34 тижні вагітності ми повторно обстежили жінок контрольної і дослідних груп для контролю біохімічних показників (табл. 5.1). Виявилось, що у вагітних контрольної групи всі визначені біохімічні параметри в даний термін вагітності практично не відрізнялись від таких в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

В ОГ-I (жінки якої не приймали медикаменти для вторинної профілактики преєклампсії і у яких майже в половині випадків виник гестоз) в 28-34 тижні вагітності величина глюкози крові натще практично не змінилась, але виростили показники АлАТ (з $26,0 \pm 1,23$ ОД/л до $35,9 \pm 2,10$ ОД/л; $P_1 < 0,001$) та АсАТ (з $25,4 \pm 1,9$ ОД/л до $38,6 \pm 2,33$ ОД/л; $P_1 < 0,001$), а зальний білок сироватки крові, навпаки, знизився з $69,7 \pm 3,5$ г/л до $59,2 \pm 3,1$ г/л ($P_1 < 0,05$). Величина загального білірубіну в крові зросла від $8,23 \pm 0,50$ мкмоль/л до $13,0 \pm 0,88$ мкмоль/л ($P_1 < 0,001$) за рахунок як прямої, так і непрямої фракції. Концентрація креатиніну крові недостовірно виростила з $66,9 \pm 4,1$ мкмоль/л до $78,3 \pm 4,3$ мкмоль/л ($P_1 > 0,05$).

Таблиця 5.1

**Результати біохімічного аналізу крові у жінок в 28-34 тижні вагітності
(в порівнянні з результатами, отриманими в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності)**

Показники		Групи обстежених					
		Контрольна група		Основна група I		Основна група II	
		18-20 ⁺⁶ тижнів вагітності n=30	28-34 тижні вагітності n=27	18-20 ⁺⁶ тижнів вагітності n=32	28-34 тижні вагітності n=26	18-20 ⁺⁶ тижнів вагітності n=59	28-34 тижні вагітності n=46
Глюкоза крові натще (ммоль/л)		4,53±0,38	4,80±0,29 P ₁ >0,5	4,85±0,32	5,09±0,40 P ₁ >0,5	4,39±0,28	4,57±0,25 P ₁ >0,5
АлАТ (ОД/л)		24,4±1,19	25,8±1,59 P ₁ >0,2	26,0±1,23	35,9±2,10 P ₁ <0,001	25,1±1,16	27,7±2,32 P ₁ >0,2
АсАТ (ОД/л)		28,6±1,15	30,2±1,82 P ₁ >0,5	25,4±1,9	38,6±2,33 P ₁ <0,001	26,4±1,51	29,0±1,76 P ₁ >0,05
Білок загальний (г/л)		68,0±4,1	64,4±4,0 P ₁ >0,5	69,7±3,5	59,2±3,1 P ₁ <0,05	70,3±3,8	66,0±3,5 P ₁ >0,2
Білірубін (мкмоль/л)	загальний	7,61±0,44	8,0±0,59 P ₁ >0,05	8,23±0,50	13,0±0,88 P ₁ <0,001	7,92±0,52	8,2±0,67 P ₁ >0,5
	прямий	2,50±0,18	2,71±0,22 P ₁ >0,5	2,68±0,20	4,1±0,23 P ₁ <0,001	2,29±0,13	2,37±18 P ₁ >0,5

	непрямий	5,11±0,27	5,29±0,36 P ₁ >0,5	5,54±0,31	8,9±0,62 P ₁ <0,001	5,62±0,40	5,73±0,35 P ₁ >0,5
Креатинін (мкмоль/л)		63,5±3,7	68,2±3,9 P ₁ >0,2	66,9±4,1	78,3±4,3 P ₁ >0,05	65,2±3,9	70,8±3,7 P ₁ >0,2

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками, отриманими в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, та в 28-34 тижні вагітності.

Тобто, можемо констатувати факт підвищеного навантаження на роботу печінки та нирок у вагітних ОГ-I, що можна пояснити розвитком у значної частини цих жінок прееклампсії.

У обстежених вагітних ОГ-II, які приймали запропоновану нами вторинну профілактику прееклампсії, всі визначені показники в 28-34 тижні вагітності практично не відрізнялись від таких в 18-20⁺⁶ тижнів (табл. 5.1). Особливо звертає на себе увагу відсутність гіпоглікемічної дії препарату метформіну ($4,39 \pm 0,28$ ммоль/л глюкози крові при першому обстеженні та $4,57 \pm 0,25$ ммоль/л при другому обстеженні; $P > 0,5$).

5.2. Вплив запропонованих профілактичних заходів на показники фетоплацентарного кровотоку, частоту акушерських та перинатальних ускладнень у вагітних групи високого ризику по виникненню прееклампсії

Відбір вагітних для дослідження проводився під час другого скринінгового УЗ-дослідження шляхом виявлення зниження кровоплину в спіральних артеріях матки (табл. 4.1) у жінок з наявністю анамнестичних факторів високого ризику по виникненню прееклампсії (підрозділ 2.1):

- у 91 жінки основної групи в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності виявлене помірне зменшення інтенсивності кровотоку в маткових артеріях, про що свідчить збільшення у них індексів судинного опору (в середньому в 1,2 рази): С/Д з $1,93 \pm 0,10$ в контрольній групі вагітних підвищується до $2,38 \pm 0,09$ в основній групі ($P < 0,05$); ІР та ПІ збільшувались з $0,54 \pm 0,03$ та $0,65 \pm 0,04$ у здорових вагітних до $0,64 \pm 0,02$ і $0,78 \pm 0,03$ у вагітних основної групи відповідно (розбіжності достовірні);
- в спіральних артеріях матки у вагітних ОГ інтенсивність кровотоку знижувалась в більшій мірі, ніж в маткових артеріях (в середньому в 1,25-1,4 рази): С/Д становило $1,95 \pm 0,05$; ІР – $0,63 \pm 0,03$, а ПІ – $0,89 \pm 0,03$ порівняно із показниками КГ: $1,56 \pm 0,09$; $0,38 \pm 0,04$ та $0,63 \pm 0,05$ відповідно (розбіжності достовірні).

При подальшому спостереженні (в 28-34 тижні вагітності) за особливостями кровотоку в фетоплацентарному комплексі у вагітних першої

підгрупи основної групи вагітних (ОГ-I), які не приймали удосконалене профілактичне лікування і у яких маніфестувалась преєклампсія, було виявлено суттєве погіршення кровотоку в фетоплацентарному комплексі, про що свідчило зростання індексів судинного опору порівняно із показниками контрольної групи (табл. 4.2).

Отже, у жінок із високим ризиком виникнення преєклампсії, вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до маніфестації цієї небезпечної патології, виникають явища гіперперфузії плаценти. По мірі прогресування вагітності у жінок, які не приймали запропоноване їм профілактичне лікування (і у яких в 43,8% маніфестувала преєклампсія), порушення кровоплину прогресують як в матково-плацентарному, так і в плацентарно-плодовому сегменті. Це вказує на необхідність розпочинати вторинну профілактику преєклампсії, починаючи із моменту виявлення зниження інтенсивності кровотоку в спіральних артеріях матки під час другого УЗД-скринінгу.

Таблиця 5.2

Вплив профілактичного лікування на показники кровоплину в судинах фетоплацентарного комплексу у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали запропоновану вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності

Судини	Індекси судинного опору	Групи жінок		
		Контроль на група n=29	Основна група-I n=30	Основна група-II n=48
Маткові судини	С/Д	2,03±0,12	2,31±0,11 P ₁ >0,05	2,11±0,15 P ₁ >0,5 P ₂ >0,1
	IP	0,50±0,04	0,61±0,03 P ₁ <0,05	0,54±0,05 P ₁ P ₂ >0,5
	III	0,61±0,05	0,74±0,03 P ₁ <0,05	0,64±0,04 P ₁ >0,5 P ₂ <0,05
Спіральні артерії	С/Д	1,65±0,10	1,82±0,09 P ₁ >0,1	1,68±0,12 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2

	ІР	0,41±0,03	0,50±0,04 P ₁ >0,05	0,45±0,05 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2
	ПІ	0,66±0,05	0,78±0,06 P ₁ >0,1	0,68±0,07 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2
Артерія пуповини	С/Д	3,05±0,11	3,52±0,14 P ₁ <0,05	3,19±0,16 P ₁ >0,2 P ₂ >0,1
	ІР	0,71±0,04	0,85±0,06 P ₁ =0,05	0,75±0,06 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2
	ПІ	0,80±0,05	0,94±0,08 P ₁ >0,1	0,83±0,07 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2
СМАП	С/Д	2,98±0,15	3,18±0,11 P ₁ >0,2	3,02±0,19 P ₁ >0,5 P ₂ >0,1
	ІР	0,69±0,05	0,81±0,06 P ₁ >0,1	0,71±0,07 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2
	ПІ	0,78±0,07	0,96±0,09 P ₁ >0,05	0,85±0,10 P ₁ >0,5 P ₂ >0,2

Примітки: С/Д – систоло-діастолічне відношення; ІР – індекс резистентності; ПІ – пульсаційний індекс; СМАП – середня мозкова артерія плода; P₁ – достовірність розбіжностей між КГ та дослідженими групами вагітних (ОГ-I та ОГ-II); P₂ – достовірність розбіжностей між ОГ-I та ОГ-II.

В групі вагітних, які не приймали вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I), достовірно був знижений кровоплин в маткових артеріях (ІР 0,61±0,03 проти 0,50±0,04 в контрольній групі, P<0,05; та ПІ 0,74±0,03 при показнику в ГК 0,61±0,05, P<0,05), артеріях пуповини (С/Д 3,52±0,14 при 3,05±0,11 у здорових жінок, P<0,05) (мал. 5.1 і 5.2) та мала місце чітка тенденція до зниження

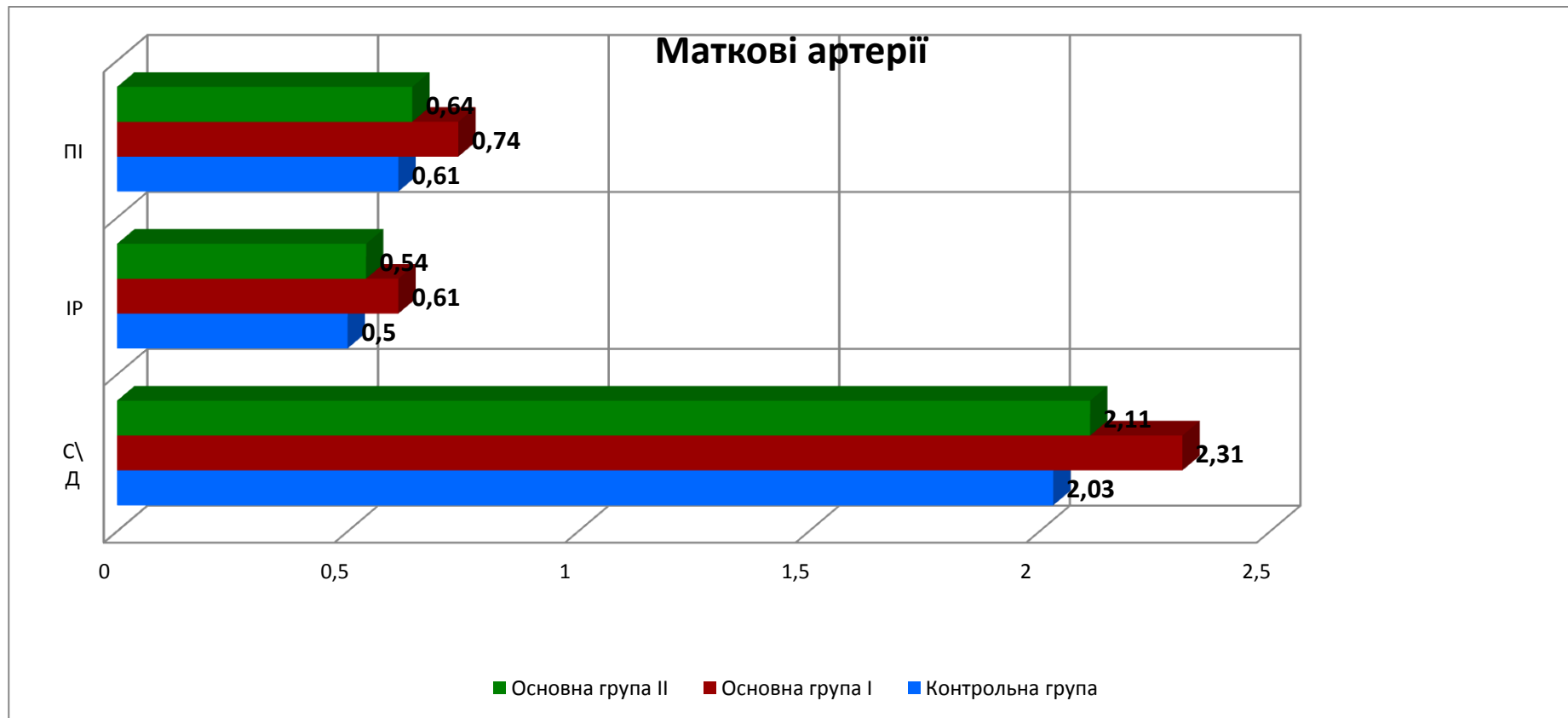
кровоплину в спіральних артеріях матки та середній мозковій артерії плода (табл. 5.2).

При аналізі особливостей перебігу вагітності та пологів по підгрупах основної групи обстежених, в ОГ-I (вагітні групи високого ризику по виникненню прееклампсії, які не приймали запропоновану профілактику прееклампсії) в порівнянні з ОГ-II (вагітні, що приймали метформін, корвітин та вітамін Д3 для вторинної профілактики виникнення прееклампсії) виявились наступні відмінності (див. підрозділ 3.3):

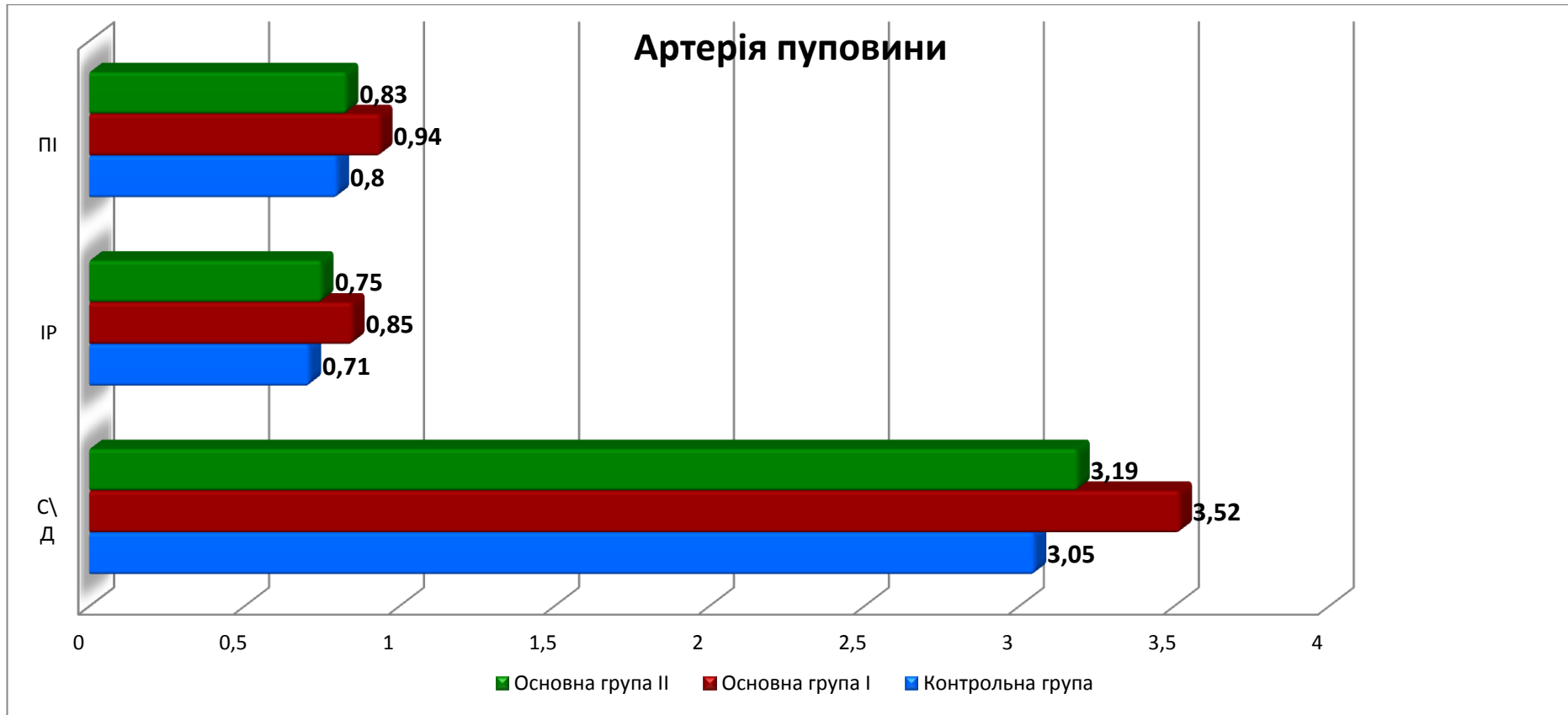
- у вагітних ОГ-I в 1,4 рази частіше виникала прееклампсія, яка маніфестувалась раніше і мала більш тяжкий перебіг (тяжка прееклампсія виникала у них в 2,6 рази частіше), ніж у жінок ОГ-II;
- в ОГ-I частіше виникали інші ускладнення вагітності (затримка розвитку і дистрес плода, передчасне відшарування нормально розташованої плаценти);
- в ОГ-I також спостерігалась висока питома вага передчасних пологів (53,1%, проти 23,7% в ОГ-II, при 3,3% в КГ), тобто, цей показник в ОГ-I був в 2,2 рази вищий за показник в ОГ-II. Крім того, в ОГ-I 5 жінок (15,6%) народили до 28 тижнів глибоко недоношених дітей з екстремально низькою вагою, в той час як в ОГ-II в такому терміні не народилася ні одна дитина; переважна кількість недоношених дітей в ОГ-II з'явилась на світ в 35-36 тижнів;
- в ОГ-I порівняно із жінками ОГ-II спостерігалась більш висока частота ускладнень пологів: передчасне вилиття навколоплідних вод було в 2,6 рази, слабкість пологової діяльності – в 1,8 рази, акушерські кровотечі – в 2,8 рази, асфіксія новонароджених – в 2,9 рази частіше;
- перинатальна смертність в ОГ-I відбулась в 1,8 разів частіше, ніж у жінок ОГ-II (62,5‰ проти 33,9‰);
- кесарів розтин в ОГ-I виконувався в 1,7 разів частіше, ніж в ОГ-II;
- в ОГ-I в асфіксії народилось в 4 рази більше дітей, ніж в ОГ-II (31,3% проти 6,8%);

- з вагою, меншою 2500 грамів, в ОГ-I народилось 14 дітей (43,8%), тоді як в ОГ-II – 12 дітей (20,4%), що в 2,1 рази менше, ніж в ОГ-I.

Отже, застосування запропонованого нами методу вторинної профілактики виникнення прееклампсії у вагітних групи високого ризику по цьому захворюванню дозволило попередити порушення кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, знизити в 1,4 рази частоту маніфестації прееклампсії ($P < 0,05$) (а частота тяжкої прееклампсії зменшилась в 2,6 рази; $P < 0,05$), значно знизити частоту ускладнень вагітності, асоційованих з прееклампсією (в тому числі в 2,2 рази зменшилась частота передчасних пологів; $P < 0,05$), та ускладнень пологів; перинатальна смертність знизилась з 62,5‰ в ОГ-I до 33,9‰ ОГ-II; в 4 рази рідше зустрічалась асфіксія новонароджених ($P < 0,05$), в 2,1 рази менше народилось дітей з екстремально низькою масою тіла ($P < 0,05$).



Мал. 5.1. Вплив профілактичного лікування на показники кровоплину в спіральних артеріях у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали запропоновану профілактику прееклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні



Мал. 5.2. Вплив профілактичного лікування на показники кровоплину в артеріях пуповини у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали запропоновану профілактику преєклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності

5.3. Стан показників клітинно-гуморального імунітету в крові, рівень про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику по виникненню гестозу в порівнянні традиційної та запропонованої нами профілактики прееклампсії

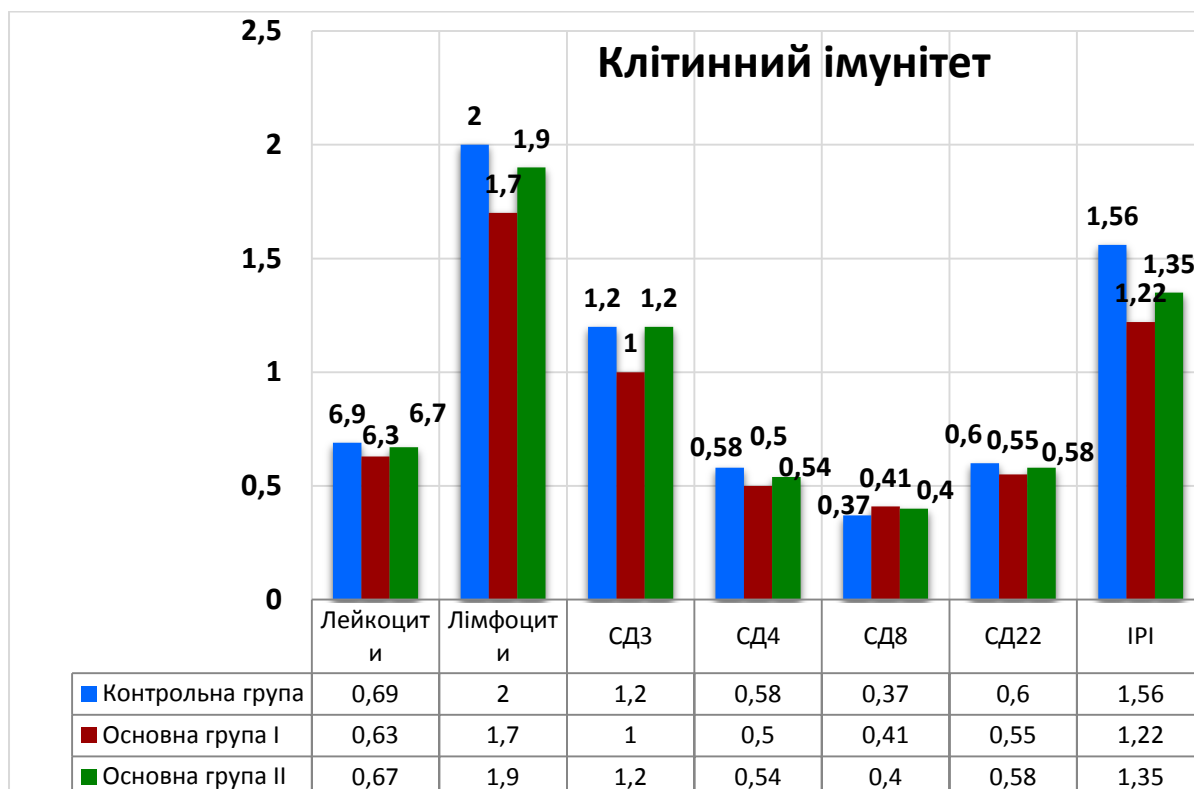
Стан клітинного імунітету у обстежених жінок наведений в таблиці 5.3 та малюнку 5.3. Показники кількості лейкоцитів в ОГ-I та в ОГ-II практично не відрізнялись від групи здорових жінок. Також достовірно не відрізнялась абсолютна кількість лімфоцитів в обох групах обстежених пацієнток порівняно із показником у здорових вагітних (КГ). Загальна кількість Т-лімфоцитів ($CD3^+$), яка в ОГ-I мала тенденцію до зниження, в ОГ-II не відрізнялась від показника в контрольній групі ($1,2 \pm 0,10$ в ОГ-II та $1,2 \pm 0,07$ в КГ; $P > 0,5$).

Досліджуючи субпопуляційний склад Т-клітин, в ОГ-I було знайдено тенденцію до зниження вмісту клітин Т-хелперного ряду ($CD4^+$), тоді як в ОГ-II цей показник наближався до такого в КГ ($0,54 \pm 0,05$ в ОГ-II, а в контрольній групі $0,58 \pm 0,03$; $P_1 > 0,5$).

Концентрація Т-супресорів/кілерів ($CD8^+$) в ОГ-I недостовірно збільшувалася, тоді як в ОГ-II вона практично не відрізнялась як від показників як в КГ, так і в ОГ-I (табл. 5.3). Враховуючи деяке збільшення $CD4^+$ в ОГ-II порівняно із ОГ-I, імунорегуляторний індекс, який достовірно знижувався у жінок ОГ-I ($1,22 \pm 0,06$ проти $1,56 \pm 0,10$ в КГ; $P_1 < 0,01$), в ОГ-II він трохи збільшився і становив $1,35 \pm 0,11$ ($1,56 \pm 0,10$ у здорових вагітних; $P_1 > 0,1$).

При помірному зниженні абсолютної кількості $CD22^+$ у жінок ОГ-I ($0,55 \pm 0,02$ порівняно з контролем $0,60 \pm 0,03$; $P_1 > 0,1$), в ОГ-II цей показник ($0,58 \pm 0,07$) не відрізнявся від такого у здорових вагітних.

Концентрація IgA, маючи тенденцію до зниження в ОГ-I ($1,89 \pm 0,04$ г/л проти $2,08 \pm 0,11$ г/л в КГ; $P_1 > 0,1$), у жінок ОГ-II склала $1,97 \pm 0,09$ г/л, не відрізняючись достовірно від показника у здорових вагітних (табл. 5.4, мал. 5.4).



Мал. 5.3. Вплив профілактичного лікування на показники клітинного імунітету у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали запропоновану профілактику преєклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності.

Таблиця 5.3

Показники клітинного імунітету у вагітних, які приймали (ОГ II) та не приймали запропоновану вторинну профілактику преєклампсії (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні вагітності)

Показники клітинного імунітету	Групи жінок					
	Контрольна група n=27		Основна група-I n=26		Основна група-II n=46	
	абс. цифри	%	абс. цифри	%	абс. цифри	%
Лейкоцити (10 ⁹ /л)	6,9±0,45	-	6,3±0,3 P ₁ >0,2	-	6,7±0,53 P ₁ P ₂ >0,5	-
Лімфоцити (10 ⁹ /л)	2,0±0,15	29,0±1,9	1,7±0,05 P ₁ >0,05	25,8±1,6	1,9±0,19 P ₁ P ₂ >0,5	28,4±2,1
CD3 ⁺ (10 ⁹ /л)	1,2±0,07	60,0±3,6	1,0±0,04 P ₁ >0,5	58,8±3,8	1,2±0,10 P ₁ P ₂ >0,5	63,2±4,0
CD4 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,58±0,03	48,3±1,7	0,50±0,03 P ₁ >0,05	50,0±2,9	0,54±0,05 P ₁ P ₂ >0,5	45,0±2,0
CD8 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,37±0,02	30,8±1,8	0,41±0,03 P ₁ >0,2	41,0±2,2	0,40±0,07 P ₁ P ₂ >0,5	33,3±2,6
CD22 ⁺ (10 ⁹ /л)	0,60±0,03	30,0±1,6	0,55±0,02 P ₁ <0,1	32,4±1,8	0,58±0,07 P ₁ P ₂ >0,5	30,5±1,75

IPI CD4 ⁺ / CD8 ⁺	1,56±0,10	1,22±0,06 P ₁ <0,02	1,35±0,11 P ₁ >0,1 P ₂ >0,2
-----------------------------------------------	-----------	-----------------------------------	---------------------------------------------------------

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

Таблиця 5.4

Вплив запропонованої профілактики преклампсії на показники гуморального імунітету вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали такої профілактики (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні вагітності)

Показники гуморального імунітету	Групи жінок		
	Контрольна група n=27	Основна група-I n=26	Основна група-II n=46
IgA, г/л	2,08±0,11	1,89±0,04 P ₁ >0,1	1,97±0,09 P ₁ P ₂ >0,5
Ig M, г/л	1,49±0,06	1,26±0,05 P ₁ <0,05	1,38±0,07 P ₁ P ₂ >0,1
Ig G, г/л	13,97±0,4	11,06±0,3 P ₁ <0,001	12,8±0,6 P ₁ <0,01 P ₂ <0,02
ЦК, од/мл	84,1±3,5	95,5±4,6 P ₁ <0,05	90,4±5,6 P ₁ P ₂ >0,2

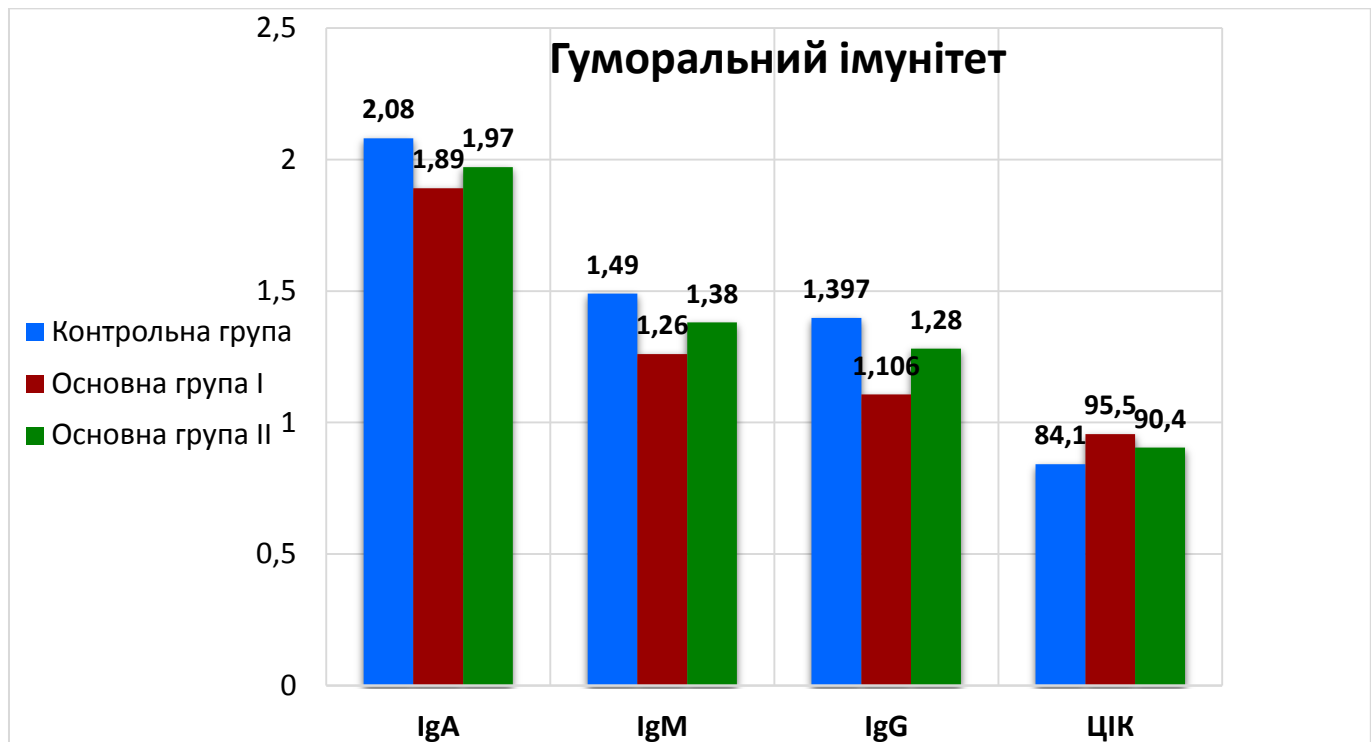
Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

Рівень IgM, який в ОГ-I був дещо знижений (1,26±0,05 г/л проти 1,49±0,06 г/л в контрольній групі; P₁<0,05), у жінок ОГ-II становив 1,38±0,07 г/л, достовірно не відрізняючись від показників КГ та ОГ-I (P₁P₂>0,1).

Показники IgG, що були достовірно знижені в ОГ-I (11,06±0,3 г/л при нормі 13,97±0,4 г/л; P₁<0,001), у вагітних ОГ-II після лікування підвищились до 12,8±0,6 г/л, що достовірно вище рівня цього імуноглобуліна в ОГ-I, але не досягає показника в КГ; розбіжності достовірні (P₁<0,01; P₂<0,02).

Виявлене нами збільшення циркулюючих імунних комплексів в ОГ-I (95,5±4,6 од/мл при нормі 84,1±3,5 од/мл; P₁<0,05), змінилось їх помірним

зниженням у вагітних ОГ-II, які отримали курс вторинної профілактики ($90,4 \pm 5,6$ од./мл; $P_1 P_2 > 0,2$) (мал. 5.4).



Мал. 5.4. Вплив профілактичного лікування на показники гуморального імунітету у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали запропоновану профілактику прееклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності

У вагітних з групи високого ризику по виникненню прееклампсії (ОГ-I), які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії, виявлено значне зростання рівнів прозапальних цитокінів $INF-\gamma$ та $TNF-\alpha$ в цервікальному слизу (табл. 5.5, мал. 5.5): концентрація $INF-\gamma$ в цервікальному слизі в ОГ-I становила $13,06 \pm 0,70$ пг/мл проти $10,42 \pm 0,51$ пг/мл в КГ ($P_1 < 0,01$), а вміст $TNF-\alpha$ в ОГ-I дорівнював $7,05 \pm 0,54$ пг/мл при показнику в КГ $3,40 \pm 0,24$ пг/мл ($P_1 < 0,001$). Тоді як концентрація протизапального цитокіну $IL-10$ в ОГ-I достовірно знижувалась, сягаючи величини $6,14 \pm 0,19$ пг/мл при показнику у здорових вагітних $9,56 \pm 0,63$ ($P_1 < 0,001$).

Відповідно протилежним змінам вмісту про- та протизапальних цитокінів, в ОГ-I прогресивно зростав показник коефіцієнту $TNF-\alpha/IL-10$ від величини $0,36 \pm 0,02$ в КГ до $1,15 \pm 0,06$ в ОГ-I ($P_1 < 0,001$), тобто співвідношення вмісту прозапальних та протизапальних цитокінів в ОГ-I зросло в 3,2 рази.

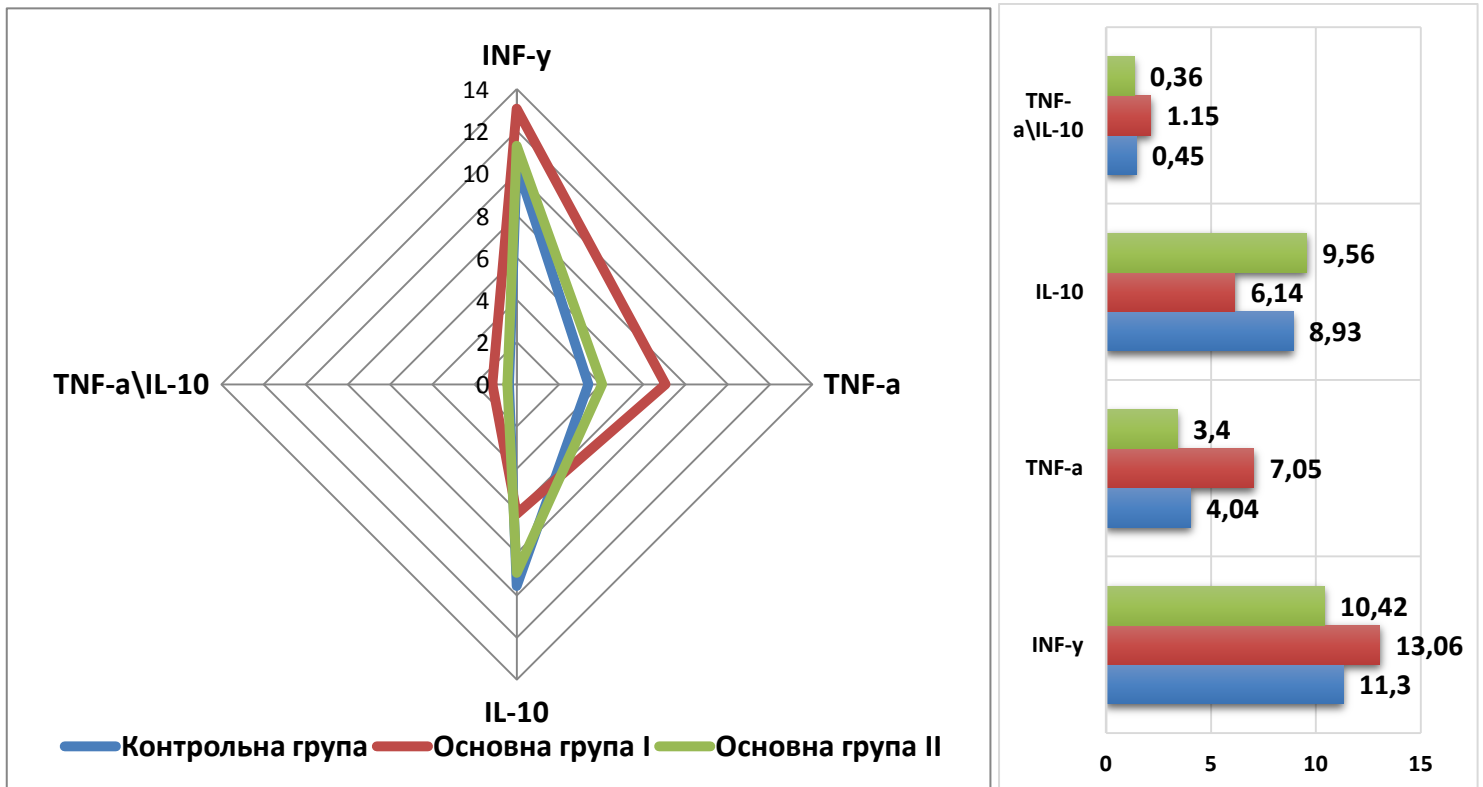
Таблиця 5.5

Вплив профілактичного лікування на рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали такої профілактики (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні вагітності)

Рівень про- та протизапальних цитокінів	Групи жінок		
	Контрольна група n=27	Основна група-I n=26	Основна група-II n=46
INF- γ , пг/мл	10,42 \pm 0,51	13,06 \pm 0,70 P ₁ <0,01	11,30 \pm 0,82 P ₁ P ₂ >0,1
TNF- α , пг/мл	3,40 \pm 0,24	7,05 \pm 0,54 P ₁ <0,001	4,04 \pm 0,33 P ₁ >0,1 P ₂ <0,001
IL-10, пг/мл	9,56 \pm 0,63	6,14 \pm 0,19 P ₁ <0,001	8,93 \pm 0,54 P ₁ >0,2; P ₂ <0,001
TNF- α /IL-10	0,36 \pm 0,02	1,15 \pm 0,06 P ₁ <0,001	0,45 \pm 0,10 P ₁ >0,5; P ₂ <0,001
INF- γ /IL-10	1,09 \pm 0,10	2,13 \pm 0,14 P ₁ <0,001	1,27 \pm 0,09 P ₁ >0,1; P ₂ <0,001

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів у обстежених вагітних ОГ-I, у жінок ОГ-II, які прийняли курс профілактичного лікування преєклампсії, було виявлено зниження концентрації цих цитокінів: INF- γ в цервікальному слизі в ОГ-II становив 11,30 \pm 0,70 пг/мл проти 10,42 \pm 0,51 пг/мл в КГ (P₁>0,2), а вміст TNF- α в ОГ-II дорівнював 4,04 \pm 0,82 пг/мл при показнику в КГ 3,40 \pm 0,24 пг/мл (P₁>0,1). Навпаки, концентрація протизапального цитокіну IL-10 в ОГ-II достовірно зростала, сягаючи величини 8,93 \pm 0,54 пг/мл при показнику у здорових вагітних 9,56 \pm 0,63 (P₁>0,2). Коефіцієнт TNF- α /IL-10 в ОГ-II значно знизився порівняно із таким в ОГ-I (0,45 \pm 0,10 проти 1,15 \pm 0,06; P₂<0,001). Такі самі зміни мали місце при розрахунку коефіцієнта INF- γ /IL-10 (табл. 5.4, мал. 5.4).



Мал. 5.5. Вплив профілактичного лікування на рівень про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності.

Отже, у вагітних ОГ-I, які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії (і у яких майже в половині випадків маніфестувала прееклампсія), поглибились явища імуносупресії, притаманні вагітності в цілому, що проявилось зниженням абсолютної кількості Т-лімфоцитів (CD3+), певним зменшенням кількості В-клітин (CD22+), зниженням концентрації Т-хелперів (CD4+) при тенденції до підвищення концентрації Т-супресорів/кілерів (CD8+) із відповідним падінням показника імунорегуляторного індексу та зниженням продукції протизапальних цитокінів (табл. 5.5). Відчутне падіння концентрації IgG у жінок з прееклампсією викликано, вірогідно, виснаженням реактивності гуморальної ланки загального імунітету при цьому захворюванні [36,272]. Також виявлено, що для жінок з прееклампсією характерне значне домінування прозапальних цитокінів при достовірному падінні рівня протизапального цитокіну IL-10 [113,126,141].

Продемонстровані нашим дослідженням явища імуносупресії з дисбалансом про- та протизапальних цитокінів у вагітних з преєклампсією сприяють, вірогідно, нездатності трофобластів виконати повноцінну інвазію в спіральні артерії матки з подальшим розвитком ендотеліальної дисфункції [32,69,91,105,108,132].

На противагу пригніченню клітинно-гуморального імунітету, та дисбалансу про- та протизапальних цитокінів, виявлених у жінок ОГ-I, які відмовились від запропонованого нами профілактичного лікування, в групі вагітних, що отримали курс вторинної профілактики преєклампсії, починаючи з 18-20⁺⁶тижнів вагітності (ОГ-II), вивчені показники імунітету наблизилися до таких у здорових вагітних жінок (табл. 5.5; мал. 5.5).

5.4. Ефективність корекції порушень активності iNOS та аргінази в цервікальному слизу у вагітних з високим ризиком розвитку преєклампсії

При патологічному перебігу вагітності одним із найважливіших патогенетичних факторів виникнення ускладнень (преєклампсія, затримка розвитку та дистрес плода) є розвиток ендотеліальної дисфункції (ЕД), ключовою ланкою у процесах патогенезу якої є дисбаланс вироблення ендогенного оксиду азоту (NO) [91,94]. У фізіологічних умовах NO синтезується з L-аргініну під впливом ендотеліальної NO-синтази (eNOS). З нею за загальний субстрат – L-аргінін, конкурує аргіназа [224]. Для протидії впливу аргінази компенсаторно активується патологічна форма NO-синтази – індукційна NO-синтаза (iNOS) [146,149,171,208]. Така активація відбувається, переважно, під впливом прозапальних цитокінів. Активізація iNOS сприяє надлишковому збільшенню концентрації оксиду азоту в крові таких жінок. Це, в свою чергу, призводить до цитолізу клітин плаценти. iNOS також активує диференціацію децидуальних макрофагів в бік субпопуляції M1, а ця субпопуляція, в свою чергу, підвищує рівень прозапальних цитокінів – «порочне коло» замикається [98,101].

Ми ретельно вивчили зв'язок між активністю iNOS та аргінази і концентрацією про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу

(підрозділи 4.3, 4.4, 5.3), а також вплив запропонованого нами профілактичного лікування на стан цих показників в досліджуваній групі обстежених жінок ОГ-II (табл. 5.6, мал. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив профілактичного лікування на вміст індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали такої профілактики (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні вагітності)

Активність iNOS та аргінази	Групи жінок		
	Контрольна група n=27	Основна група-I n=26	Основна група-II n=46
Активність iNOS, мкмоль/хв/ 1 г білка	1,24±0,16	2,90±0,27 P ₁ <0,001	1,51±0,20 P ₁ >0,2 P ₂ <0,001
Активність аргінази, мкмоль/хв/ 1 г білка	2,21±0,19	1,3±0,15 P ₁ <0,001	2,09±0,21 P ₁ >0,5 P ₂ <0,01

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I та ОГ II;
P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I та ОГ II.

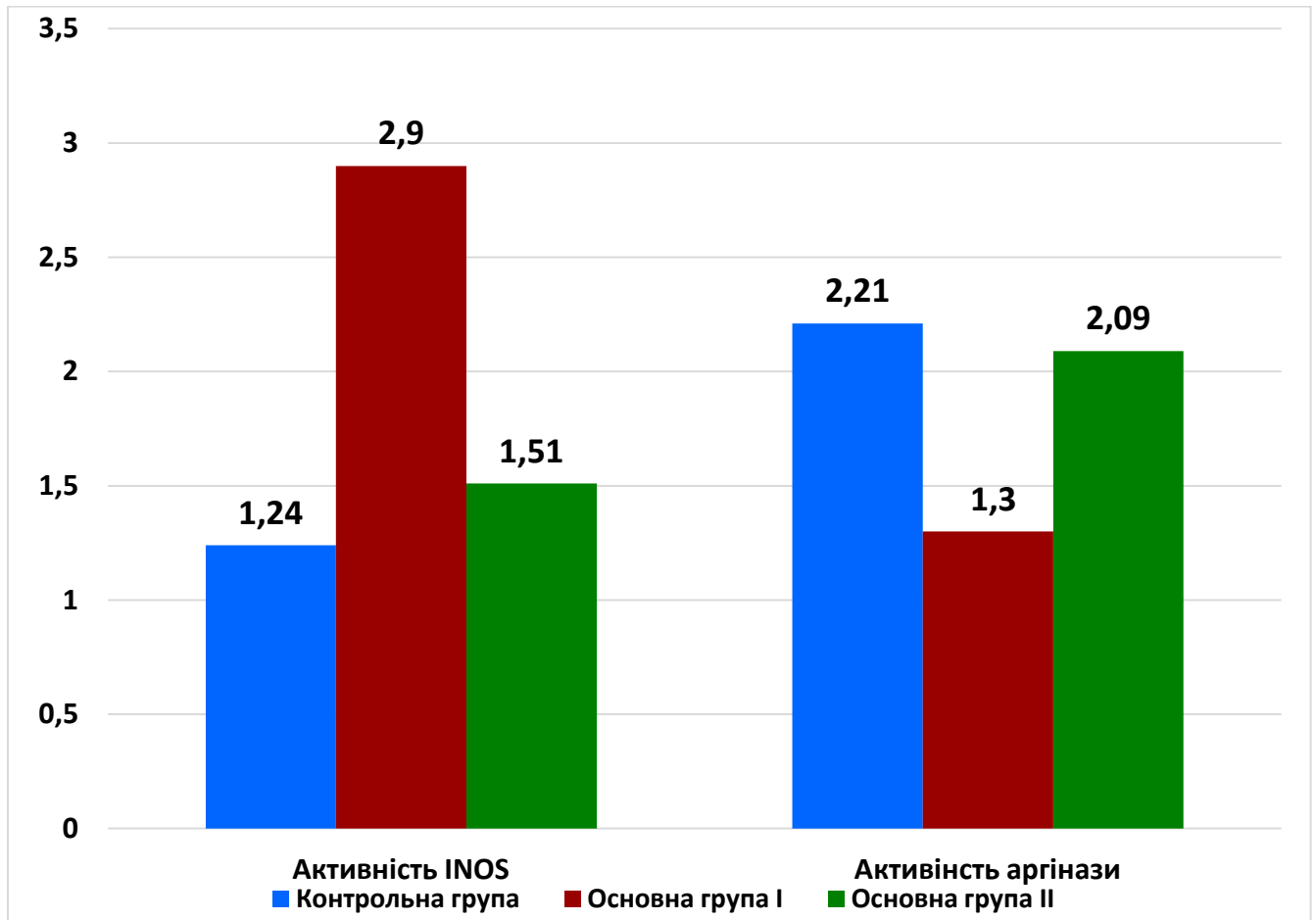
Активність iNOS в основній групі-I (тобто в групі жінок високого ризику виникнення преєклампсії, які не отримували удосконалену профілактику преєклампсії) значно зросла порівняно з КГ (2,90±0,27 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-I проти 1,24±0,16 мкмоль/хв/1 г білка в групі контролю; P₁<0,001). Тоді як активність аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-I порівняно з контролем знижувалась в 1,7 рази (табл. 5.6, мал. 5.6): 1,3±0,15 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-I порівняно із 2,21±0,19 мкмоль/хв/1 г білка в КГ (P₁<0,001).

У жінок ОГ-II, які, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності приймали рекомендовані нами препарати (метформін, вітамін Д3 та корвітин), відбулася нормалізація балансу активності iNOS та аргінази. Ці показники наблизились до таких в контрольній групі (iNOS 1,24±0,16 мкмоль/хв/1 г білка в КГ та 1,51±0,20 мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-II; P₁>0,2), (аргіназа 2,21±0,19 мкмоль/хв/1 г білка та 2,09±0,21 мкмоль/хв/1 г білка відповідно; P₁>0,5).

Знайдені позитивні кореляції між активністю iNOS, з одного боку, та вмістом в цервікальному слизу прозапального цитокіна TNF- α ($r=0,78$; $P<0,001$) і прозапального цитокіна INF- γ ($r=0,56$; $P<0,01$), з другого боку, а також позитивна кореляція між падінням вмісту протизапального цитокіну IL-10 та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,54$; $P<0,02$), від'ємна кореляція між зростанням активності iNOS та зниженням активності аргінази в цервікальному слизу у пацієнток ОГ-I ($r=-0,41$; $P<0,05$), дозволило нам заключити, що у вагітних з преєклампсією порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF- α та INF- γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS при зниженні активності аргінази

Важливим напрямком подальших досліджень стало вивчення особливості диференціації децидуальних макрофагів в другому і на початку третього триместру вагітності у жінок групи високого ризику по виникненню преєклампсії, оскільки відомо, що iNOS та прозапальні цитокіни є індукторами диференціації макрофагів в субпопуляцію M1, а аргіназа та протизапальний цитокін IL-10 – в субпопуляцію M2 [65,81,82,101,102,214,267].

Отримавши переконливі результати, які свідчать про значний дисбаланс у обстежених жінок вмісту про- та протизапальних цитокінів, а також активності iNOS та аргінази, ми обґрунтовано очікували виявити наявність дисбалансу і у вмісті субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині з відповідними негативними результатами в розвитку вагітності у таких жінок.



Мал. 5.6. Вплив профілактичного лікування на вміст індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-II порівняно із вагітними, які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності

5.5. Вплив запропонованої комплексної вторинної профілактики прееклампсії на процеси врегулювання механізмів поляризації децидуальних макрофагів у вагітних групи високого ризику по виникненню гестозу

У контрольній групі макрофаги M1 і M2 визначались дифузно по всій товщі ворсин та децидуальної тканини. CD68 (M1) мали відросчасту форму, CD163 (M2) були переважно округлої форми. У ОГ-I CD68 розміщувались дифузно, а CD163 локалізувались переважно у сполучній тканині decidua на межі з цитотрофобластом і, на відміну від контрольної групи, мали відросчасту форму. У групі лікованих пацієнок ОГ-II цитологічна картина була аналогічна контрольній групі.

При імуногістохімічному дослідженні біоптатів плаценти було виявлено, що в плацентах жінок ОГ-I (із прееклампсією) вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок (табл. 5.7,

фото 4.3), а вміст макрофагів фенотипу M2, навпаки, зменшувався в 1,5 рази (табл. 5.7; фото 4.4). Відповідно, співвідношення M1/M2 у хворих на преєклампсію достовірно зростало в 2,5 рази порівняно із показником у здорових вагітних в цьому терміні.

Знайдені достовірні кореляції між вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плацентах жінок, що перенесли преєклампсію в II триместрі або в ранній фазі III триместру вагітності, та концентрацією в цервікальному слизі прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизі ($r=0,60$; $P<0,02$).

Тобто, на противагу здоровим вагітним, у жінок з преєклампсією в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції M1 (за рахунок стимулюючого впливу INF- γ та активації індукцибельної NO-синтази), що, вірогідно, спричиняє порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності. Такий висновок базується на особливостях функції макрофагів M1, дія яких направлена на вироблення великої кількості прозапальних цитокінів, активованих форм кисню і оксиду азоту, які обумовлюють цитотоксичну активність активованих макрофагів M1 [36,65,81,82,101,102,214,267]. Внаслідок дії надлишкових кількостей макрофагів M1 прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки з подальшим виникненням незадовільної перфузії плацентарної тканини і порушенням матково-плацентарно-плодового кровоплину та розвитком системних проявів преєклампсії [54,69,76,86,105,130]. Такі порушення диференціації децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в сторону фенотипу M1, ймовірно, є одним з основних патофізіологічних механізмів розвитку преєклампсії.

Враховуючи виявлені патогенетичні фактори, стає зрозумілим, що для ефективної вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого

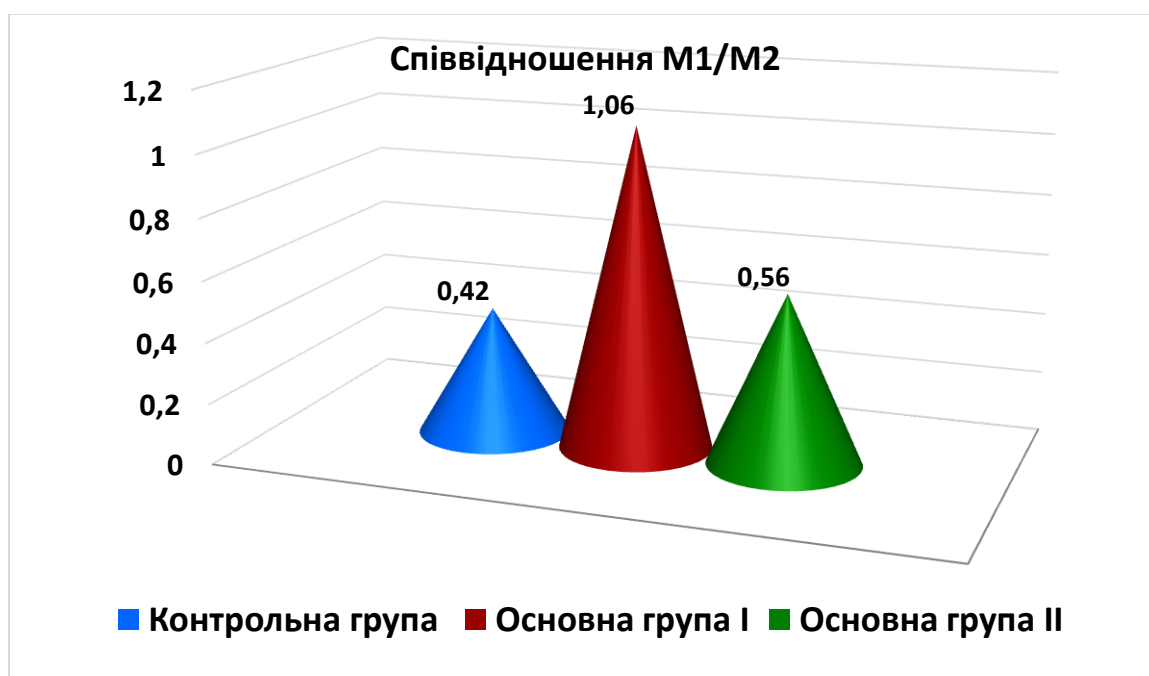
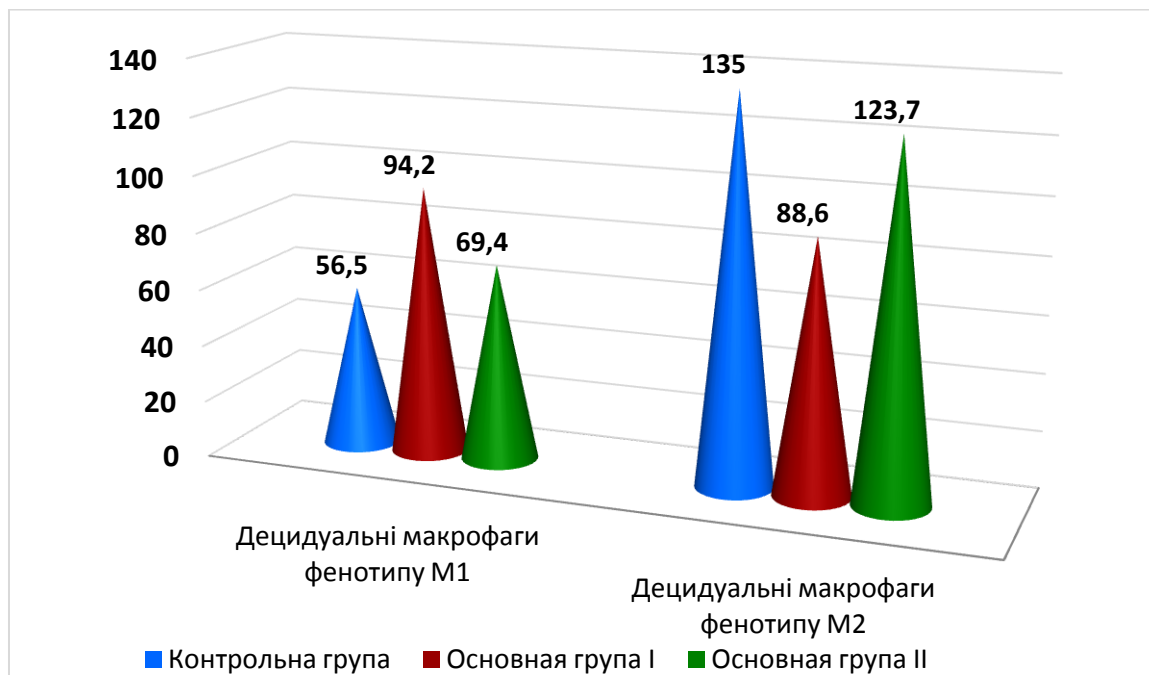
ризиком необхідно відновити правильну диференціацію субпопуляцій децидуальних макрофагів (тобто, досягти пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляції фенотипу M2), шляхом впливу на вироблення факторів їх індукції (iNOS та прозапальний цитокін INF- γ для субпопуляції M1 та аргіназу і протизапальний цитокін IL-10 – для субпопуляції M2) [65,82,101,102,186,214,220,267].

Таблиця 5.7

Вплив профілактичного лікування на вміст субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плацентах жінок ОГ-II порівняно із вагітними, які не приймали такої профілактики (ОГ-I) (обстежених в 28-34 тижні) (середня кількість макрофагів, визначених імуногістохімічним методом, в 10 полях зору)

Вміст субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2	Групи жінок		
	Контрольна група (в 50 полях зору)	Основна група-I (жінки з преєклампсією) (в 100 полях зору)	Основна група-II (в 100 полях зору)
Децидуальні макрофаги фенотипу M1 (в 10 полях зору)	56,5 \pm 4,5	94,2 \pm 5,2 P ₁ <0,001	69,4 \pm 5,0 P ₁ >0,05 P ₂ <0,002
Децидуальні макрофаги фенотипу M2 (в 10 полях зору)	135,0 \pm 6,4	88,6 \pm 6,7 P ₁ <0,001	123,7 \pm 7,1 P ₁ >0,2 P ₂ <0,002
Співвідношення M1/M2	0,42 \pm 0,043	1,06 \pm 0,2 P ₁ <0,05	0,56 \pm 0,06 P ₁ >0,05 P ₂ <0,05

Примітка: P₁ – достовірність розбіжностей між показниками КГ і ОГ I (жінки з преєклампсією) та ОГ II; P₂ – достовірність розбіжностей між показниками ОГ I (жінки з преєклампсією) та ОГ II.



Мал. 5.7. Вплив профілактичного лікування на вміст субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в плацентах жінок ОГ-II порівняно із вагітними, які відмовились від запропонованого лікування (ОГ-I) в 28-34 тижні вагітності

Ми підібрали три препарати (метформін, вітамін D₃ та корвітин), механізм дії яких дозволяє вирішити поставлені задачі вторинної медикаментозної профілактики виникнення преєклампсії у жінок групи високого ризику по цьому захворюванню, які були виявлені під час проведення другого УЗ-скринінгу в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (критеріями високого ризику були відповідний анамнез, ІМТ>25 та гіперфузія плаценти) (див. підрозділ

2.1 та 2.2). Препарати були призначені 59 жінкам ОГ-II, які письмово погодились приймати запропоноване профілактичне лікування.

В результаті проведеного профілактичного лікування виявилось (табл. 5.7), що в плацентах жінок ОГ-II, які пройшли курс запропонованої нами профілактики, вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 знизився в 1,4 рази (табл. 5.7; фото 5.1) порівняно з показником у жінок ОГ-I ($69,4 \pm 5,0/10$ полів зору в ОГ-II порівняно із $94,2 \pm 5,2/10$ полів зору в ОГ-I; $P_2 < 0,002$), наблизившись до показника у здорових вагітних ($56,5 \pm 4,5/10$ полів зору; $P_1 > 0,05$).

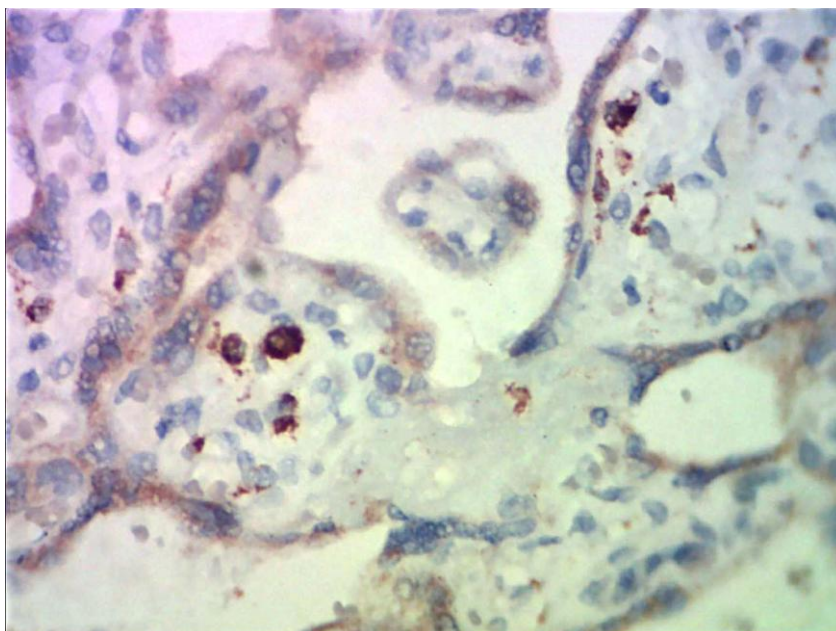


Фото 5.1. Експресія CD68 (M1) в плаценті жінки основної групи II (яка отримувала профілактичне лікування). Збільшення в 400 разів.

Вміст макрофагів фенотипу M2, навпаки, зріс в 1,4 рази ($123,7 \pm 7,1/10$ полів зору в ОГ-II при $88,6 \pm 6,7/10$ полів зору в ОГ-I; $P_2 < 0,002$), наближаючись до рівня у здорових вагітних ($135,0 \pm 6,4/10$ полів зору; $P_1 > 0,2$) (табл. 5.7; фото 5.2). Відповідно, співвідношення M1/M2 у вагітних ОГ-II достовірно знизилось до $0,56 \pm 0,06$, наближаючись до такого в КГ ($0,42 \pm 0,043$; $P_1 > 0,05$) при показнику в ОГ-I $1,06 \pm 0,2$ ($P < 0,05$).

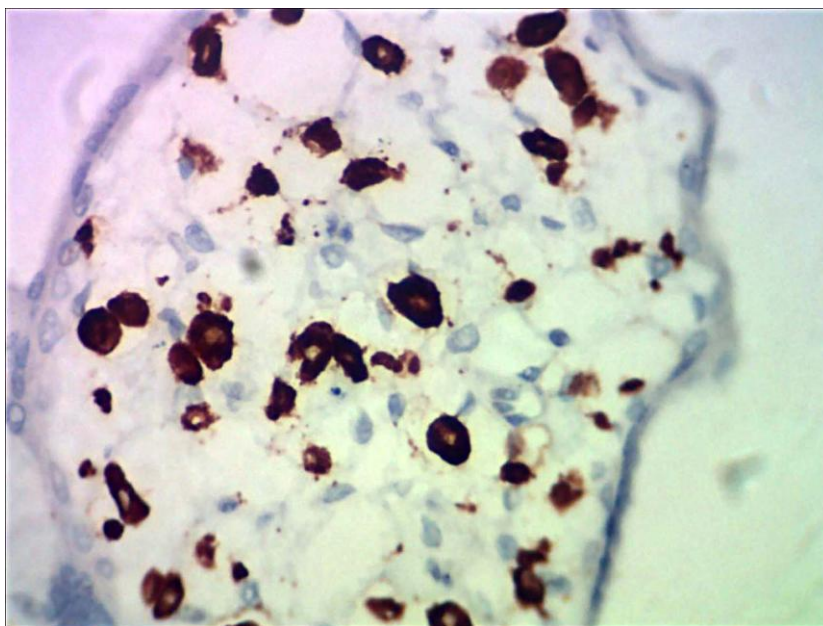


Фото 5.2. Експресія CD163 (M2) в плаценті жінки основної групи II (яка отримувала профілактичне лікування). Збільшення в 400 разів.

Наведені дані дозволяють зробити висновок, що запропонована нами вторинна профілактика преєклампсії у жінок групи високого ризику, розроблена на основі виявлення патогенетичного ланцюжка виникнення гестозу, виявилась ефективною, посприявши нормалізації механізмів диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 і M2 із переважанням субпопуляції M2 (які надають протективну дію функціонуванню плацентарної тканини) та зменшення частоти і тяжкості виникнення преєклампсії у цієї групи вагітних, зменшенню частоти передчасних пологів, ускладнень пологової діяльності у них та суттєвому зниженню показника перинатальної смертності.

Результати досліджень, викладені в даному розділі, опубліковані в наступних наукових працях автора:

1. Makarov O, Likhachov V, Taranovskaya O, Dobrovolska L, Vashchenko V. Role of uterine blood flow disturbances in the development of late gestosis (Роль порушень маткового кровотоку у розвитку пізнього гестозу). *Wiadomosci Lekarskie*. 2018;LXXI (9):1719-1721. (Scopus).
2. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Тарановська ОО. Перебіг вагітності та її завершення у жінок групи високого ризику по виникненню преєклампсії.

Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020; Том 20. Випуск 1 (69):106-110.

3. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Акімов ОЄ, Тарановська ОО. Фактори диференціації децидуальних макрофагальних субпопуляцій M_1 та M_2 у вагітних з преєклампсією, порушення їх співвідношення та пошуки шляхів корекції. Вісник Української медичної стоматологічної академії. Актуальні проблеми сучасної медицини. 2020; Том 20. Випуск 3 (71):14-19.

4. Ващенко ВЛ, Ліхачов ВК, Добровольська ЛМ, Тарановська ОО. Вплив вторинної профілактики розвитку преєклампсії у жінок групи високого ризику на показники фетоплацентарного кровотоку. Вісник проблем біології і медицини. 2020; 157 (3):94-97.

РОЗДІЛ 6

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Проведений аналіз незадовільних результатів лікування преєклампсії, частота якої в усьму світі складає 7-16%, свідчить, що дотепер немає ефективних методів профілактики та лікування цієї небезпечної патології [8,9,23,29,96]. Преєклампсія супроводжується багаточисельними ускладненнями вагітності та пологів [71,73,75]. Перинатальна смертність при тяжких некорегованих формах преєклампсії сягає 100 % [29,52,128,148].

З'ясування особливостей патогенезу, виявлення провідних пускових моментів та розробка комплексу профілактичних заходів при преєклампсії і наразі залишається актуальним, бо має на меті зменшення відсотка важких органних і поліорганних порушень у вагітних, роділь, породіль та їх дітей.

Маловивченим є питання щодо ролі децидуальних макрофагів (ДМФ) в порушенні функціонування плаценти та розвитку багаточисельних ускладнень вагітності. При цьому відомо, що дисбаланс субпопуляцій децидуальних макрофагів може підвищувати продукцію різноманітних медіаторів, в тому числі таких, що спонукають до формування ендотеліальної дисфункції та преєклампсії [65,79,80,101,160,188,189,214].

Роль конкретних порушень макрофагальної поляризації в контексті розвитку преєклампсії на сьогоднішній день достатньо не вивчена, тож детальний аналіз цього питання, виявлення факторів, які впливають на диференціацію ДМФ у жінок з преєклампсією, буде мати велике значення для прогнозування розвитку цієї патології та її лікування.

Мета дослідження: виявити вплив порушення поляризації децидуальних макрофагів на маніфестацію і ступінь тяжкості преєклампсії та розробити ефективний метод її вторинної профілактики.

У відповідності з метою були поставлені та вирішені наступні завдання: виділити групу вагітних високого ризику по виникненню преєклампсії за анамнестичними даними та результатами виявлення зниження інтенсивності кровопливу в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки під

час другого ультразвукового скринінгу (в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності); дослідити особливості фетоплацентарного кровотоку у вагітних групи високого ризику виникнення преєклампсії в II та в ранній фазі III триместру вагітності; визначити зміни показників клітинно-гуморального імунітету в крові та рівнів про- і протизапальних цитокінів в цервікальному слизу у вагітних групи високого ризику виникнення преєклампсії в II та в ранній фазі III триместру вагітності; провести порівняльний аналіз активності індукцибельної NO-синтази та аргінази в слизу цервікального каналу обстежених вагітних і співставити їх з наявними особливостями диференціації децидуальних макрофагів субпопуляцій M1 та M2 в плаценті цих жінок; розробити патогенетично обґрунтований метод вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по її виникненню та проаналізувати ефективність методу як в патогенетичному, так і клінічному аспектах.

Для вирішення поставлених задач були використані методи дослідження, що дозволили отримати дані про загальний та акушерсько-гінекологічний анамнези обстежених жінок, їхній соціальний і родинний статуси, інфікування статевих шляхів, біохімічні показники крові, інтенсивність кровоплину в маткових, спіральних артеріях, судинах пуповини та середній мозковій артерії плода, біофізичний профіль плода. Визначались показники загального та місцевого імунного статусу організму вагітних, включаючи дослідження рівня про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизу. Досліджувались показники активності індукцибельної NO-синтази та аргінази в цервікальному слизу залежно від терміну та перебігу вагітності. Визначався баланс субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті. Оцінювалась ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку преєклампсії.

Дослідження було виконано на клінічній базі кафедри акушерства і гінекології №2 Полтавського державного медичного університету – у Перинатальному центрі КП «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського ПОР».

Планування програми дослідження та формування клінічних груп було здійснено відповідно до сучасних вимог клінічної епідеміології за єдиними стандартами презентації результатів, з чіткою регламентацією застосування статистичних методів. Керівництво медичних закладів та обстежувані жінки були інформовані щодо мети даного дослідження в повному обсязі. Всі пацієнтки письмово погодились на проведення дослідження, яке було схвалено Комісією з етичних питань та біомедичної етики Української медичної стоматологічної академії (витяг з протоколу №159 від 22.11.2017 року).

Для вирішення поставленої мети були обстежені 121 вагітна, з яких 30 жінок склали контрольну групу (КГ) (здорові вагітні); 91 жінка – основну групу (ОГ) (жінки групи високого ризику по виникненню прееклампсії, з порушеним кровоплином у спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки у терміні 18-20⁺⁶ тижнів вагітності без інфікування нижніх відділів статевого тракту). Серед вагітних основної групи 32 жінки не отримували удосконалену вторинну профілактику прееклампсії, а 59 вагітних – приймали запропоновану нами вторинну профілактику прееклампсії (метформін, вітамін D3 та корвітин).

Сформовані групи жінок за віковим складом, соціальним положенням, особливостями менструальної функції, паритетом, акушерським анамнезом та структурою екстрагенітальних захворювань були однорідними, що дало можливість порівнювати їх в процесі нашого дослідження.

Були виділені п'ять основних анамнестичних факторів ризику виникнення прееклампсії у обстежених жінок: перинатальні втрати в анамнезі (ВШ 4,23; 95%ДІ [2,17-7,62], $P<0,05$); прееклампсія при попередніх пологах (ВШ 7,04; 95%ДІ [3,28-9,15] $P<0,05$); сімейний анамнез прееклампсії (ВШ 5,77; 95%ДІ [3,00-6,30], $P<0,05$); хронічна артеріальна гіпертензія (ВШ 11,82; 95%ДІ [4,77-18,01], $P<0,05$); надлишкова вага жінки і ожиріння ($IMT \geq 25$) (ВШ 3,44; 95%ДІ [1,08-6,54], $P<0,05$).

Крім цього, враховувались інші, менш вагомі, анамнестичні фактори ризику виникнення прееклампсії [46,60,96,100,133,134]: ускладнений гінекологічний анамнез (самовільні або штучні аборти перед першими

пологами, порушення менструальної функції в ювенільному періоді) (ВШ 1,23; 95%ДІ [1,07-4,53], $P < 0,05$); перша вагітність (ВШ 2,04; 95%ДІ [1,00-3,62], $P < 0,05$); ускладнений акушерський анамнез (затримка розвитку плода, передчасні пологи) (ВШ 3,11; 95%ДІ [1,18-6,05], $P < 0,05$); жінки молодого (до 18 років) та старшого (після 35 років) репродуктивного віку (ВШ 1,79; 95%ДІ [1,06-4,00], $P < 0,05$); незбалансоване харчування (ВШ 1,32; 95%ДІ [1,10-3,81], $P < 0,05$).

Критерієм включення жінок групи ризику по виникненню прееклампсії в дослідження було: підвищений ризик виникнення прееклампсії (за даними анамнезу), $IMT > 25$, зниження кровоплину в спіральних артеріях матки в області плацентарної ділянки під час другого скринінгового УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності [62].

У всіх обстежених жінок в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності виявляли наявність анамнестичних факторів ризику виникнення прееклампсії, розраховували IMT , доплерометричним методом визначали інтенсивність маткового та плодового кровоплину, показники клітинно-гуморального імунітету та біохімічних параметрів крові. В подальшому, в 28-34 тижні визначали материнсько-плодовий кровоплин, вивчався стан загального та місцевого імунітету, включаючи дослідження рівнів про- та протизапальних цитокінів у цервікальному слизу. Досліджувались показники активності індукцибельної NO-синтази та аргінази цервікального слизу. Ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку прееклампсії оцінювалась з урахуванням клінічних даних, наведених клініко-лабораторних обстежень, результатів кардіотокографічних та ультразвукових досліджень стану плода. Дослідження балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті було проведено за допомогою імуногістохімічного методу визначення маркерів CD68 та CD163 [65,69,82].

За даними клініко-анамнестичного дослідження було виявлено, що в основній групі вагітних (в цілому, до розподілу її на дві підгрупи) порівняно із контрольною групою, була вищою питома вага жінок з надмірною масою тіла; жінок, що займались розумовою працею; з пізнім менархе та порушеною

менструальною функцією; з ускладненим інфектологічним анамнезом; частіше зустрічалися екстрагенітальні захворювання та хронічні запальні процеси жіночих статевих органів; в анамнезі у таких жінок мали місце аборти при першій вагітності.

При дослідженні особливостей фетоплацентарного кровотоку в 18-20⁺⁶ тижнів у 91 вагітної групи високого ризику по виникненню прееклампсії (основна група) виявлене помірне зменшення інтенсивності кровотоку в маткових артеріях порівняно із КГ, про що свідчить збільшення у них індексів судинного опору (в середньому в 1,2 рази). В спіральних артеріях матки у цих вагітних інтенсивність кровотоку знижувалась в більшій мірі, ніж в маткових артеріях (в середньому в 1,25-1,4 рази).

При подальшому спостереженні (в 28-34 тижні вагітності) за особливостями кровотоку в фетоплацентарному комплексі у вагітних першої підгрупи основної групи вагітних, які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії (ОГ-І), було виявлено подальше погіршення кровотоку в фетоплацентарному комплексі порівняно із показниками контрольної групи. Причому особливо чітко спостерігалось зниження кровотоку у вагітних цієї групи, у яких маніфестувалась прееклампсія (табл. 4.2). Так у жінок з прееклампсією в маткових судинах показники С/Д, ІР та ПІ виросли в 1,4-1,5 рази; в спіральних артеріях матки – в 1,3-1,4 рази; в артеріях пуповини – в 1,3 рази; в середній мозковій артерії плода – в 1,2-1,3 рази (розбіжності достовірні).

Виявилось, що при збільшенні індекса резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до показника 0,7 і більше, виявленому при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, в подальшому в 71% випадків виникає прееклампсія ($P < 0,05$). Тому цю ознаку доцільно використовувати як прогностичний маркер високого ризику виникнення прееклампсії і своєчасно призначати таким жінкам вторинну профілактику даного захворювання.

Отже, у жінок із високим ризиком виникнення прееклампсії, вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації цієї небезпечної патології, виникають явища гіперперфузії плаценти. По мірі прогресування вагітності у

жінок, які не отримували удосконалену профілактику прееклампсії, порушення кровоплину прогресують як в матково-плацентарному, так і в плацентарно-плодовому сегменті. Це також вказує на необхідність своєчасного початку у таких вагітних вторинної профілактики прееклампсії.

Було проведене вивчення клініко-імунологічних механізмів виникнення прееклампсії. Виявилось, що розвиток прееклампсії у обстежених жінок супроводжується змінами у процесах розподілу популяцій лімфоцитів в периферійній крові (табл. 4.3). Так, у жінок ОГ-I проявився клітинний імунологічний дисбаланс у вигляді: тенденції до зниження абсолютної кількості Т-лімфоцитів (CD3+) та В-клітин (CD22+); зниження концентрації Т-хелперів (CD4+) при достовірному підвищенні Т-супресорів/кілерів (CD8+) із відповідним зменшенням показника імунорегуляторного індексу.

При вивченні особливостей гуморального імунітету (вмісту імуноглобулінів класу А, М і G у сироватці крові) в досліджуваних групах, виявились наступні факти:

- показник IgM в ОГ-I (у жінок з прееклампсією) був достовірно підвищений ($1,66 \pm 0,03$ г/л проти $1,49 \pm 0,06$ г/л в контрольній групі, $P < 0,02$), що вказує на трофобластичну (антигенну) стимуляцію імунної системи цих жінок [4,20,67,141];
- рівні IgG були достовірно знижені як в основній групі в цілому ($11,06 \pm 0,3$ г/л при нормі $13,97 \pm 0,4$ г/л; $P < 0,001$), так і у вагітних з прееклампсією ($9,28 \pm 0,4$ г/л; $P < 0,001$). Проведений кореляційний аналіз показав достовірний зв'язок між зниженням рівня В-лімфоцитів (CD22+) та падінням концентрації IgG як в ОГ-I в цілому ($r=0,47; P < 0,05$), так і у жінок цієї групи, у яких виникла прееклампсія ($r=0,58; P < 0,01$). Враховуючи той факт, що у здорових вагітних рівень IgG в сироватці крові зростає (це пов'язано з необхідністю нейтралізації специфічного антигена трофобласта [26,34,36,39,43,83]), відчутне падіння концентрації

IgG у жінок з преєклампсією викликано, вірогідно, виснаженням реактивності гуморального ланки загального імунітету при цьому захворюванні [36,83,115].

Нами виявлено збільшення циркулюючих імунних комплексів в ОГ-I ($95,5 \pm 4,6$ од/мл при нормі $84,1 \pm 3,5$ од/мл; $P < 0,05$), особливо у вагітних, у яких розвинулась преєклампсія ($103,7 \pm 5,1$ од/мл; $P < 0,001$). Цей факт свідчить про формування імунокомплексних реакцій у жінок з преєклампсією. Зростання рівня ЦК вище 100 од/мл мало тісний зв'язок з розвитком преєклампсії ($r=0,76$, $p < 0,05$).

Результати проведеного дослідження клітинно-гуморального імунітету показали, що у вагітних ОГ-I, які не отримували запропонованого нами лікувально-профілактичного комплексу препаратів (і у яких майже в половині випадків маніфестувала преєклампсія), поглибились явища імуносупресії, притаманні вагітності в цілому [36,96]. Наявність імуносупресії під час вагітності, а також глибина порушень імунної рівноваги мають ключове значення у перебігу вагітності і розвитку ускладнень, в тому числі, преєклампсії [36,60].

Преєклампсія – це багатосистемний розлад, заснований на каскаді імунопатологічних подій, що походять з плаценти [37,54,69,76,79,86,105,130]. Не існує єдиного механізму для пояснення складного патогенезу преєклампсії. В даний час немає надійного маркера або предиктора преєклампсії. Тому є нагальна потреба подальшого вивчення клініко-імунологічних механізмів виникнення цього захворювання.

Під час нормальної вагітності трофобласти взаємодіють з децидуальною оболонкою та з унікальними матковими НК-клітинами, модифікуючи їх цитокіновий спектр, регулюючи адгезію молекул і матричні металопротеїнази [77,92,93]. Декілька прозапальних (туморнекротичний фактор-альфа, гамма-інтерферон) та протизапальних (інтерлейкіни 4 та 10) цитокінів, що продукуються материнсько-фетальним інтерфейсом, регулюють процеси вторгнення трофобластів в децидуальну тканину плаценти [95]. Нездатність

трофобластів виконати повноцінну інвазію може бути критичним фактором для початку преекламписії [34,69,76,77,89,130].

Вивчаючи динаміку змін показників прозапальних і протизапальних цитокінів при фізіологічній вагітності та вагітності, ускладненій преекламписією, виявилось, що у вагітних ОГ-І спостерігалось значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF- γ та TNF- α (табл. 4.5). Так, концентрація INF- γ в цервікальному слизу в ОГ-І становила $13,06 \pm 0,70$ пг/мл проти $10,42 \pm 0,51$ пг/мл в КГ ($P < 0,01$), а вміст TNF- α в ОГ-І дорівнював $7,05 \pm 0,54$ пг/мл при показнику в КГ $3,40 \pm 0,24$ пг/мл ($P < 0,001$). А у жінок ОГ-І, у яких виникла преекламписія, рівень прозапальних цитокінів достовірно збільшився не тільки по відношенню жінок контрольної групи, а й по відношенню вагітних ОГ-І в цілому (INF- γ становив у них $15,80 \pm 0,85$ пг/мл; $P < 0,02$, а TNF α – $8,79 \pm 0,48$ пг/мл; $P < 0,05$).

На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів у обстежених вагітних, концентрація протизапального цитокіну IL-10 достовірно знижувалась (табл. 4.5), сягаючи величини $4,90 \pm 0,25$ пг/мл у жінок, у яких виникла преекламписія (проти $9,56 \pm 0,63$ пг/мл в контрольній групі та $6,14 \pm 0,19$ пг/мл в ОГ-І в цілому; $P_1 P_2 < 0,001$).

Відповідно протилежним змінам вмісту про- та протизапальних цитокінів, прогресивно зростав показник коефіцієнту TNF- α /IL-10 від величини $0,36 \pm 0,02$ в КГ до $1,15 \pm 0,06$ в ОГ-І в цілому ($P < 0,001$) та до $1,80 \pm 0,09$ у вагітних ОГ-І, у яких виникла преекламписія ($P_1 P_2 < 0,001$). Співвідношення вмісту прозапальних та протизапальних цитокінів зросло в 3,2 рази в ОГ-І в цілому та в 5 разів у жінок ОГ-І, у яких виникла преекламписія. Також значно збільшився коефіцієнт INF- γ /IL-10 від $1,09 \pm 0,10$ в КГ до $2,13 \pm 0,14$ в ОГ-І (в цілому) та $3,22 \pm 0,12$ в ОГ-І (жінки з преекламписією) ($P_1 P_2 < 0,001$), що свідчить про вірогідну активацію клітинної агресії у вагітних з преекламписією, які відмовились від превентивного лікування.

Таким чином, надмірна запальна реакція материнського організму (у вигляді надлишкового вивільнення прозапальних цитокінів при дефіциті

протизапальних цитокинів) [113], яка, вірогідно, спрямована проти чужорідних фетальних антигенів, призводить до ланцюга подій, включаючи неповноцінну інвазію трофобласта в спіральні артерії матки з подальшим формуванням системної ендотеліальної дисфункції [32,69,91,105,108,132].

Неушкоджений ендотелій приймає участь у регуляції реологічних властивостей крові шляхом синтезу врівноважуючих (один до одного) згортальних, протизгортальних, вазопресорних та вазодилатуючих факторів, забезпечуючи тим самим задовільне функціонування фетоплацентарного комплексу [4,9,36,80,91,94]. Також важливою є роль ендотелію у забезпеченні протягом вагітності нормальних показників артеріального тиску.

При патологічному перебігу вагітності одним із найважливіших патогенетичних факторів є розвиток ендотеліальної дисфункції (ЕД), ключовою ланкою у процесах патогенезу якої є дефіцит ендогенного оксиду азоту (NO) [80,83]. Синтезований в клітинах ендотелію судин NO є одним із найпотужніших вазодилатуючих агентів, який, маючи опосередкований вплив на інші ендотеліозалежні вазодилататори, перешкоджає реалізації надмірних ефектів вазоконстрикторів. Внаслідок чого NO приймає безпосередню участь у регуляції тону судин, кровотоку, рівня артеріального тиску (АТ), системної та регіональної гемодинаміки [9,36,149]. Суттєве зниження рівня NO в організмі вагітної призводить до порушення процесів плаценталії і є причиною ембріо- та фетопатій, синдрому затримки розвитку та антенатальної загибелі плода [89,105,109].

У фізіологічних умовах NO синтезується з L-аргініну під впливом ферменту NO-синтази. Головна роль аргініну в організмі людини – являтися субстратом для синтезу NO [224]. Ферменти аргіназа і NO-синтаза конкурують між собою за загальний субстрат – L-аргінін, який за допомогою аргінази гідролізується в орнітин та сечовину, а за допомогою NO-синтаз каталізується в оксид азоту і цитрулін [149].

Надлишкова активність аргінази здатна пригнічувати ендотеліальну NO-синтазу (eNOS), тим самим перешкоджаючи продукції оксиду азоту. Цьому протидіє компенсаторна активація іншої форми NO-синтази – індукційна NO-

синтаза (iNOS) [146,149,171,208]. Тому підтримання балансу цих ферментів дуже важливе для оптимального вироблення оксиду азоту в організмі людини.

На сьогодні доведено зв'язок iNOS та аргінази з диференціацією децидуальних макрофагів, при цьому iNOS сприяє утворенню саме субпопуляції M1, в той час як аргіназа – M2 [98,101]. Порушення балансу цих двох ферментів свідчить про виникнення дисбалансу субпопуляцій децидуальних макрофагів.

Нами були вивчена активність iNOS та аргінази в цервікальному слизу у здорових вагітних (група контролю) та у вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії, які не отримували удосконалену профілактику преєклампсії.

Виявилось, що активність iNOS в ОГ-І достовірно зростає ($2,90 \pm 0,27$ мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-І проти $1,24 \pm 0,16$ мкмоль/хв/1 г білка в групі контролю; $P < 0,001$), сягаючи показника $3,28 \pm 0,35$ мкмоль/хв/1 г білка у жінок ОГ-І, у яких виникла преєклампсія ($P_1 < 0,001$).

Була виявлена сильна позитивна кореляція між активністю iNOS та вмістом прозапального цитокіна TNF- α в цервікальному слизу ($r = 0,78$; $P < 0,001$) та помірно сильна кореляція між активністю iNOS і вмістом прозапального цитокіна INF- γ в цервікальному слизу ($r = 0,56$; $P < 0,01$). Тоді як кореляція між активністю iNOS та вмістом протизапального цитокіну IL-10 в цервікальному слизу виявилась з від'ємним направленням помірної сили ($r = -0,49$; $P < 0,05$).

На противагу активації фермента iNOS, активність аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-І порівняно з контролем достовірно знижувалась: в 1,7 рази в ОГ-І в цілому і в 1,9 рази у жінок ОГ-І, у яких розвинулась преєклампсія ($P < 0,001$). Знайдена від'ємна кореляція між зростанням активності iNOS та зниженням активності аргінази в цервікальному слизу у пацієток ОГ-І ($r = -0,41$; $P < 0,05$) і позитивна кореляція між падінням вмісту протизапального цитокіну IL-10 та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизу ($r = 0,54$; $P < 0,02$).

Спираючись на наведені дані, можна заключити, що у вагітних з прееклампсією порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF- α та INF- γ при зменшенні вмісту IL-10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS. Активність же аргініну суттєво знижується.

Враховуючи той факт, що INF- γ та iNOS приймають участь в диференціації децидуальних макрофагів із стимуляцією субпопуляції M1, а IL-10 та аргінін сприяють виробленню субпопуляції M2 [101,65,154,155,160,173], виникла нагальна потреба дослідити реальне співвідношення цих субпопуляцій децидуальних макрофагів в плацентах породіль, які перенесли прееклампсію під час вагітності, методом імуногістохімії.

Макрофаги диференціюються з моноцитів, що утворюються з CD34+ мієлоїдних клітин-попередників кісткового мозку. Циркулюючи в системі кровообігу, ці клітини проникають до периферичних тканин, в яких дозрівають до різних типів тканинних макрофагів [65,229].

Розрізняють 2 фенотипи активованих макрофагів: M1 (прозапальний фенотип) і M2 (імуномодулюючий і тканинний ремоделюючий фенотип).

Активація тканинних макрофагів відбувається в дві хвили. Перша хвиля активації макрофагів заключається в їх диференціації на фенотипи M1 та M2 [234,239]. Фенотип макрофагів, який формується під дією внутрішньоклітинних мікроорганізмів та/або INF- γ , отримав назву «класичного» або M1 фенотипу; значну роль в класичній поляризації макрофагів по M1 фенотипу відіграє NF- κ B [186,214,220]. Фенотип макрофагів, який формується під дією екстраклітинних мікроорганізмів або паразитів та/або цитокінів IL-4, IL-10, IL-13, отримав назву «альтернативного» або M2 фенотипу [36,65,81,101,102,214].

Друга хвиля активації тканинних макрофагів призводить до адекватної клітинної та гуморальної відповіді імунної системи:

- M1 фенотип макрофагів, продукуючи прозапальні цитокіни TNF- α , INF- γ , IL-12, потенціюють розвиток незрілих ефекторних T-лімфоцитів (Th0) в активні T-хелпери 1 типу (Th1). Після активації Th1-клітина, в свою чергу, починає виділення певного спектру цитокінів, в тому числі INF- γ , а

на його поверхні проходить експресія CD40. Ці білки зв'язуються з відповідними рецепторами на поверхні макрофага M1 і викликають його подальшу активацію. Активовані макрофаги M1 починають виробляти велику кількість активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO). Підвищення продукції NO відбувається за рахунок індукції NO-синтази (iNOS). В свою чергу, надлишок АФК та NO обумовлює цитотоксичну активність активованих макрофагів M1. Протизапальний цитокін ІЛ-10 зменшує антимікробні характеристики макрофагів M1 за рахунок пригнічення вивільнення прозапальних цитокінів та АФК і оксиду азоту [36,65,101,160,188,214,272].

- M2-макрофаги – клітини інтегрованої Th2 відповіді, що направлена на інактивацію позаклітинних мікроорганізмів. При цьому відбувається зменшення продукції TNF- α та збільшення вироблення ІЛ-10. Це змінює внутрішньоклітинний сигнал в бік поляризації протизапального фенотипу M2, виробляється менше NO, оскільки клітини M2 експресують підвищену кількість аргінази, яка конкурує з iNOS за L-аргінін і розщеплює його до орнітину та сечовини. Важливим є те, що M2-клітини сприяють ремоделюванню та репарації тканин, ушкоджених внаслідок запалення [36,102,146,155,160,188,189,214,256].

Вагітність розглядається як динамічний і високорегульований імунологічний процес. Для успішного перебігу вагітності необхідно, щоб баланс субпопуляцій макрофагів M1 та M2 залишався належним чином збалансованим протягом всієї гестації [36,43,65,83,155,173,174,176,188,189,248]:

- у здорових жінок у «вікні» періоду імплантації макрофаги індукуються до активації M1. Ці клітини поглинають апоптотичні клітини і попереджають звільнення проімуногенного внутрішньоклітинного вмісту;
- після успішного завершення інвазії трофобласта макрофаги переключаються на змішаний профіль M1/M2. Змішана поляризація M1/M2 характерна для першого триместра і ранньої фази другого триместру вагітності, коли маткові судини піддаються другій хвилі

трофобластичної модифікації спіральних артерій для встановлення сталого кровоплину в плаценті;

- після досягнення адекватного плацентарно-плодового кровотоку, в II триместрі і ранній фазі третього триместру вагітності поляризація макрофагів зміщується в бік M2. Домінування децидуальних макрофагів субпопуляції M2 перешкоджає відторгненню плода і дозволяє забезпечити його нормальний розвиток до самих пологів;
- пологам, що вважаються прозапальними подіями, передує накопичення в матці макрофагів субпопуляції M1.

Невідповідна макрофагальна поляризація асоціюється з аномальними вагітностями, такими як спонтанний аборт, передчасні пологи, прееклампсія, затримка розвитку плоду та ін. [36,248,272].

Нами було проведено дослідження співвідношення субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 імуногістохімічним методом в плацентах жінок із прееклампсією, що були розродженні в другому триместрі та в ранній фазі третього триместру вагітності за медичними показаннями. Отримані дані порівнювали із співвідношенням цих субпопуляцій в плацентах здорових жінок, розроджених в 32-34 тижні вагітності в зв'язку з наявністю у них монохоріальної моноамніотичної двійні (розродження в такій клінічній ситуації та в такому терміні вагітності передбачено сучасними клінічними протоколами).

У контрольній групі M1 і M2 макрофаги визначались дифузно по всій товщі ворсин та децидуальної тканини. CD68 (M1) мали відросчату форму, CD163 (M2) були переважно округлої форми. У групі лікованих пацієнток ОГ-II цитологічна картина була аналогічна контрольній групі. У ОГ-I CD68 розміщувались дифузно, CD163 локалізувались переважно у сполучній тканині decidua на межі з цитотрофобластом і, на відміну від контрольної групи, мали відросчату форму.

В результаті проведеного імуногістохімічного дослідження виявилось, що в плацентах жінок із прееклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок, тоді як вміст

макрофагів фенотипу M2, навпаки, зменшувався в 1,5 рази. Відповідно, співвідношення M1/M2 у хворих на преєклампсію достовірно зросло в 2,5 рази ($1,06 \pm 0,30$ у хворих проти $0,42 \pm 0,043$ у здорових жінок; $P < 0,05$).

Знайдені достовірні кореляції між вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок, у яких маніфестувалась преєклампсія в II триместрі або в ранній фазі III триместру вагітності, та концентрацією в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P < 0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P < 0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну ІЛ-10 ($r=0,49$; $P < 0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P < 0,02$).

Тобто, на противагу здоровим вагітним, у жінок з преєклампсією в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції M1 (за рахунок стимулюючого впливу INF- γ та активації індукцибельної NO-синтази), що, вірогідно, спричиняє порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності. Такий висновок походить із особливостей функції макрофагів M1, дія яких направлена на вироблення великої кількості прозапальних цитокінів, активованих форм кисню (АФК) і оксиду азоту (NO) [49], які обумовлюють цитотоксичну активність активованих макрофагів M1. Внаслідок дії надлишкових кількостей плацентарних макрофагів M1 в II триместрі вагітності прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки з подальшим виникненням незадовільної перфузії плацентарної тканини і порушенням матково-плацентарно-плодового кровоплину та розвитком системних проявів преєклампсії. Такі порушення диференціації децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в сторону фенотипу M1 є одним з основних патофізіологічних механізмів розвитку преєклампсії [18,34,112,174].

Враховуючи це, напрямки вторинної профілактики преєклампсії необхідно спрямувати на відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів в II-III триместрах вагітності (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляцію фенотипу M2).

Дослідження клініко-імунологічних механізмів розвитку преєклампсії у жінок високого ризику її виникнення (анамнестично знайдені фактори ризику, підтвержені виявленням зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності), з подальшим вивченням імунологічних показників у таких хворих (загальна імунограма крові; рівень про- та протизапальних цитокінів і дослідження активності індукцибельної NO-синтази та загальної аргіназної активності в слизу цервікального каналу; імуногістохімічне дослідження субпопуляцій макрофагів M1 та M2 в плацентарній тканині) дозволило нам сформулювати наступний патогенетичний ланцюжок розвитку даного захворювання:

- ендотеліальна дисфункція, притаманна преєклампсії (виникає внаслідок порушення процесу трофобластичної модифікації спіральних артерій матки) [36,48,126,225], сприяє переключенню T-клітин на імунну відповідь Th1 типу (при зниженні імунної відповіді Th2 типу), при якому продукуються прозапальні цитокіни, в першу чергу, TNF α та IFN γ . Останній цитокін (IFN γ), в свою чергу, є індуктором диференціації децидуальних макрофагів з переважанням субпопуляції M1 [95,101];
- збільшення рівня M1-макрофагів в плаценті призводить до вироблення надлишкової кількості NO та активованих форм кисню за рахунок активізації iNOS в цервікальному слизу. Це, в свою чергу, активує цитоліз клітин плаценти [109,146,171,185,208];
- M1-макрофаги в нормі викликають цитоліз клітин децидуальної оболонки в I триместрі вагітності при формуванні плаценти, але в подальшому перебігу фізіологічної вагітності їх кількість та функціональна активність повинні різко зменшитись, щоб дати можливість виношування вагітності при протективній дії M2-макрофагів (в II триместрі та в ранню фазу III триместру фізіологічної вагітності в плаценті повинна переважати саме субпопуляція макрофагів M2, які надають тканині плаценти

протективну підтримку і перешкоджають відторгненню плода вплоть до пологів) [36,43,83,81,101,188,214];

- але у жінок з прееклампсією в II триместрі та на початку III триместра вагітності нами виявлене значне зниження кількості макрофагів M2 із домінуванням субпопуляції M1;
- таке нефізіологічне зменшення субпопуляції M2 в плаценті в період виношування плода відбувається, вірогідно, за рахунок зниження імунної відповіді Th2 типу [36,58,143,144,249], що призводить до падіння продукції протизапального цитокіна IL-10. В свою чергу, це спричиняє:
 - з одного боку, зменшення активності аргінази (з відповідною альтернативною активацією iNOS і стимуляцією диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1) [82,188,214,224,267];
 - з другого боку, зниження диференціації децидуальних макрофагів в сторону субпопуляції M2 (оскільки IL-10 є індуктором цього процесу) [36,65,102,214];
- такий дисбаланс субпопуляції децидуальних макрофагів M1 та M2 призводить до прогресування ендотеліальної дисфункції, поглиблення проявів прееклампсії і подальшого зниження кровоплину в спіральних артеріях матки (яке почалось іще в I триместрі вагітності через неповноцінну інвазію трофобласту в ці артерії), а в подальшому – і до страждання плодового кровотоку із виникненням затримки розвитку та дистресу плода [36,122,248].

Отже, для проведення ефективної вторинної профілактики виникнення і прогресування прееклампсії у жінок групи високого ризику по цьому захворюванню необхідно:

- змінити баланс M1- та M2-макрофагів в плаценті на користь субпопуляції M2;
- активізувати кровоплин в arteria uterina та в спіральних артеріях матки для недопущення виникнення гіпоксії плода.

Для вирішення цих задач ми застосували комплекс медикаментозних заходів, які інгібують диференціацію децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 (метформін) [17,51,158,238], стимулюють диференціацію M2-макрофагів (вітамін Д3) [253,262,267] та сприяють інтенсифікації кровоплину в arteria uterina і в спіральних артеріях матки (корвітин) [24,26,68].

За умови маніфестації преєклампсії наприкінці II - у III триместрі вагітності також призначалось протокольне лікування, яке передбачало застосування антигіпертензивних препаратів та, при необхідності, магнезійної терапії.

Для початку вторинної профілактики преєклампсії існує «терапевтичне вікно» (кінець I - початок II триместрів вагітності) [56]. В цей час відбувається активний дисморфоз спіральних судин матки в матково-плацентарні судини (за рахунок реалізації другої хвилі інвазії клітин трофобласту в стінку спіральних артерій матки в області плацентарної площадки). Тому ми розпочинали розроблені нами профілактичні заходи саме в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності.

Метформін – лікарський засіб класу бігуанідів для прийому всередину. До останнього часу цей препарат застосовувався тільки для лікування цукрового діабету II типу, особливо у осіб із надлишковою масою тіла та ожирінням. Але, починаючи з 2006 року, в ряді досліджень показані й інші ефекти метформіну, незалежні від його гіпоглікемічної дії [17,51,158,177,190,238]:

- метформін дозозалежно пригнічує вивільнення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6 та TNF α в макрофагах і ендотеліоцитах людини;
- він покращує ендотеліальну функцію та стимулює вироблення протизапальних цитокінів (ІЛ-4, ІЛ-10);
- пригнічує секрецію TNF α через зниження активності NF- κ B (нуклеарного фактора транскрипції) з наступним зменшенням диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1.

Отже, в основі очікуваних ефектів метформіну лежить зниження під його дією транслокації нуклеарного фактора транскрипції (NF- κ B), що призводить до пригнічення запальних процесів в судинній стінці, зменшення вироблення

прозапальних цитокінів, покращення ендотеліальної функції в умовах протизапальних ефектів цитокінів та зниження диференціації M1-макрофагів.

Можливість призначення метформіну вагітним обґрунтовується багаточисельними рандомізованими дослідженнями, результати яких підсумовані в огляді Кокранівської бібліотеки («Метформін у жінок з надлишковою масою тіла або ожирінням під час вагітності для покращення результатів у матерів та немовлят»), виконавці Джоді М. Додд, Розалі М. Гривелл та Андреа Р. Деуссен. Оприлюднена версія: 24 липня 2018 р. (<https://doi.org/10.1002/14651858.CD010564.pub2>). Питання щодо ефективності метформіну в плані профілактики гестаційної гіпертензії і відсутності негативного впливу на перебіг вагітності та пологів детально обговорені в підрозділі 2.2.

Ми призначали метформін вагітним групи високого ризику по виникненню прееклампсії, з ІМТ>25, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів, до розродження жінки. Препарат призначався по 500 мг на добу.

Вітамін D3, перш за все, є регулятором метаболізму кальцію та фосфатів, що сприяє правильній мінералізації і росту скелета. Разом з тим, він необхідний для функціонування парацитовидних залоз, кишечника, нирок і кісткової системи. Іони кальцію впливають на ряд важливих біохімічних процесів, що зумовлюють підтримку тону м'язів скелетної мускулатури, беруть участь у проведенні нервового збудження та впливають на згортання крові і функціонування імунної системи. Активним метаболітом вітаміну D є 1,25-дигідроксивітамін D (1,25[ОН]2D).

Вітамін D грає роль регулятора децидуального імунітету, а плацента є однією з основних ланок для екстраниркового синтезу 1,25[ОН]2D. Показано, що 1,25[ОН]2D не тільки сприяє диференціації макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1 [253,267].

Тому ми застосовували по 2000 МО вітаміну D3 на добу, починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності і до розродження жінки.

Корвітин є комплексом кверцетина (500 мг) з повідоном (молекулярна маса 7100-11000 кД, 450 мг). Кверцетин дозозалежно підвищує рівень оксиду азота в клітинах ендотелію, що обумовлює відновлення регіонального кровообігу і мікроциркуляції без помітних змін тону судин. Препарат гальмує продукцію прозапальних цитокінів IL-1b, IL-8, що зменшує дисбаланс вазодилататорів і вазоконстрикторів. Така здатність кверцетину нормалізувати баланс вазопресорів та вазодилататорів дозволяє відновлювати регіональний кровоток. У вагітних з преєклампсією кверцетин сприяє збільшенню зниженого кровоплину в спіральних артеріях матки, покращує стан плода при плацентарній недостатності, зменшує частоту асфіксії новонароджених; негативних впливів на стан вагітної, плода та новонародженого не було виявлено [24,25,26,68].

Ми застосовували корвітин шляхом внутрішньовенних крапельних інфузій 500 мг препарату, розчиненого в 100 мл фізрозчину 1 раз на добу протягом 10 днів. Курс лікування повторювався двічі за вагітність через 6 тижнів.

У всіх обстежених жінок в залежності від терміну пролонгування вагітності визначали доплерометричним методом інтенсивність маткового та плодового кровотоку, стан загального та місцевого імунітету, включаючи дослідження рівнів про- та протизапальних цитокінів в цервікальному слизу. Досліджувався обмін оксиду азота та активності аргінази в цервікальному слизі. Динаміку балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів (M1 та M2) в плаценті вивчали імуногістохімічним методом визначення маркерів CD68 та CD163 [65,69,81,82].

За клінічними даними, клініко-лабораторними обстеженнями, результатами вищенаведених досліджень та даними УЗД щодо стану плода оцінювалась ефективність запропонованого методу вторинної профілактики розвитку преєклампсії.

При включенні в дослідження в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності всім жінкам (121 особі) був виконаний біохімічний аналіз крові для визначення у ній показників, які є маркерами діяльності життєво важливих органів (печінки, підшлункової залози та нирок). Тоді було виявлено, що всі біохімічні показники у обстежених жінок (КГ, ОГ-I, ОГ-II) в цей термін вагітності достовірно не відрізнялись між собою і відповідали нормальним показникам.

В 28-34 тижні вагітності при повторному біохімічному обстеженні жінок виявилось, що у вагітних КГ всі визначені параметри в даний термін вагітності практично не відрізнялись від таких в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності. У обстежених вагітних ОГ-II, які приймали запропоновану нами вторинну профілактику прееклампсії, всі визначені показники в 28-34 тижні вагітності також практично не відрізнялись від таких в 18-20⁺⁶ тижнів. Особливо важливим є відсутність гіпоглікемічної дії препарату метформіну ($4,39 \pm 0,28$ ммоль/л глюкози крові при першому обстеженні та $4,57 \pm 0,25$ ммоль/л при другому обстеженні; $P > 0,5$).

А у вагітних ОГ-I (жінки якої не приймали медикаменти для вторинної профілактики прееклампсії і у яких майже в половині випадків виник гестоз) в 28-34 тижні вагітності достовірно виростили показники АлАТ та АсАТ, загальний білок сироватки крові знизився. Величина загального білірубіну в крові зросла за рахунок як прямої, так і непрямої фракції (розбіжності достовірні). Концентрація креатиніну крові недостовірно виростила з $66,9 \pm 4,1$ мкмоль/л до $78,3 \pm 4,3$ мкмоль/л ($P > 0,05$). Тобто, можемо констатувати факт підвищеного навантаження на роботу печінки та нирок у вагітних ОГ-I, що можна пояснити розвитком у значної частини цих жінок прееклампсії.

У жінок із високим ризиком виникнення прееклампсії вже в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності, задовго до клінічної маніфестації цієї небезпечної патології, виникають явища гіпоперфузії плаценти. По мірі розвитку вагітності, в 28-34 тижні, у них прогресують порушення кровоплину як в матково-плацентарному, так і в плацентарно-плодовому сегменті. Так, в цій групі вагітних (ОГ-I) достовірно був знижений кровоплин в маткових артеріях (ІР $0,61 \pm 0,03$ проти $0,50 \pm 0,04$ в контрольній групі, $P < 0,05$; та ІІ $0,74 \pm 0,03$ при показнику в ГК $0,61 \pm 0,05$, $P < 0,05$), артеріях пуповини (С/Д $3,52 \pm 0,14$ при $3,05 \pm 0,11$ у здорових

жінок, $P < 0,05$) та мала місце чітка тенденція до зниження кровоплину в спіральних артеріях матки та середній мозковій артерії плода.

При аналізі показників стану імунної системи в 28-34 тижні вагітності виявлене помірне зниженні абсолютної кількості CD22+ у жінок ОГ-I ($0,55 \pm 0,02$ порівняно з контролем $0,60 \pm 0,03$; $P > 0,1$), в той час як в ОГ-II цей показник ($0,58 \pm 0,07$) не відрізнявся від такого у здорових вагітних. Досліджуючи субпопуляційний склад Т-клітин, в ОГ-I було знайдено тенденцію до зниження вмісту клітин Т-хелперного ряду (CD4+) ($P > 0,05$), тоді як в ОГ-II цей показник наближався до такого в КГ ($0,54 \pm 0,05$ в ОГ-II, а в контрольній групі – $0,58 \pm 0,03$; $P > 0,5$).

Показники IgG, що були достовірно знижені в ОГ-I ($11,06 \pm 0,3$ г/л при нормі $13,97 \pm 0,4$ г/л; $P < 0,001$), у вагітних ОГ-II після лікування підвищились до $12,8 \pm 0,6$ г/л, що достовірно вище рівня цього імуноглобуліна в ОГ-I, але не досягає показника в КГ. Виявлене нами збільшення циркулюючих імунних комплексів в ОГ-I ($95,5 \pm 4,6$ од/мл при нормі $84,1 \pm 3,5$ од/мл; $P < 0,05$), змінилось їх помірним зниженням у вагітних ОГ-II, які отримали курс вторинної профілактики ($90,4 \pm 5,6$ од./мл; $P_1 P_2 > 0,2$).

У вагітних з групи високого ризику по виникненню прееклампсії (ОГ-I), які відмовились від профілактичного лікування, в 28-34 тижні вагітності виявлено значне зростання рівнів прозапальних цитокінів INF- γ та TNF- α в цервікальному слизу: концентрація INF- γ в цервікальному слизу в ОГ-I зросла на чверть, тоді як концентрація протизапального цитокіну IL-10 в ОГ-I достовірно знизилась на 55% порівняно із здоровими вагітними.

На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів у обстежених вагітних ОГ-I, у жінок ОГ-II, які прийняли курс профілактичного лікування, було виявлено зниження концентрації цих цитокінів: INF- γ в цервікальному слизу в ОГ-II становив $11,30 \pm 0,70$ пг/мл проти $10,42 \pm 0,51$ пг/мл в КГ ($P > 0,2$), а вміст TNF- α в ОГ-II дорівнював $4,04 \pm 0,82$ пг/мл при показнику в КГ $3,40 \pm 0,24$ пг/мл ($P > 0,1$). Навпаки, концентрація протизапального цитокіну IL-10 в ОГ-II достовірно зростала, сягаючи величини $8,93 \pm 0,54$ пг/мл при показнику у

здорових вагітних $9,56 \pm 0,63$ ($P > 0,2$). Коефіцієнт $\text{TNF-}\alpha/\text{IL-10}$ в ОГ-II значно знизився порівняно із таким в ОГ-I (до $0,45 \pm 0,10$ проти $1,15 \pm 0,06$; $P < 0,001$; при показнику в КГ $0,36 \pm 0,02$).

Отже, у вагітних ОГ-I, які не приймали запропоноване нами профілактичне лікування (і у яких майже в половині випадків маніфестувала преєклампсія), поглибились явища імуносупресії, притаманні вагітності в цілому, що проявилось тенденцією до зниження абсолютної кількості Т-лімфоцитів (CD3^+) і кількості В-клітин (CD22^+), зниженням концентрації Т-хелперів (CD4^+) при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів (CD8^+) із відповідним падінням показника імунорегуляторного індексу. Відчутне падіння концентрації IgG у жінок з преєклампсією викликано, вірогідно, виснаженням реактивності гуморальної ланки загального імунітету при цьому захворюванні [36,43,83,272]. Також виявлено, що для жінок з преєклампсією характерне значне домінування прозапальних цитокінів при достовірному падінні рівня протизапального цитокіну IL-10 [113,126,141,143].

Продемонстровані нашим дослідженням явища імуносупресії з дисбалансом про- та протизапальних цитокінів у вагітних з преєклампсією сприяють, вірогідно, нездатності трофобластів виконати повноцінну інвазію в спіральні артерії матки з подальшим розвитком ендотеліальної дисфункції [32,69,91,105,108,141,143].

На противагу пригніченню клітинно-гуморального імунітету, та дисбалансу про- та протизапальних цитокінів, виявлених у жінок ОГ-I, в групі вагітних, що отримали курс вторинної профілактики преєклампсії, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (ОГ-II), в 28-34 тижнів вивчені показники імунітету наблизилися до таких у здорових вагітних жінок.

При патологічному перебігу вагітності одним із найважливіших патогенетичних факторів є розвиток ендотеліальної дисфункції (ЕД), ключовою ланкою у процесах патогенезу якої є дефіцит ендогенного оксиду азоту (NO) [80,83]. Синтезований в клітинах ендотелію судин NO є одним із найпотужніших вазодилатуючих агентів, який, маючи опосередкований вплив

на інші ендотелійзалежні вазодилататори, перешкоджає реалізації надмірних ефектів вазоконстрикторів [36,50,53,57].

У фізіологічних умовах NO синтезується з L-аргініну під впливом ендотеліальної NO-синтази (eNOS). У жінок же з преєклампсією, на противагу здоровим вагітним, під впливом прозапальних цитокінів активується патологічна форма NO-синтази – індукційна NO-синтаза (iNOS) [146,149,171,208]. Активізація iNOS сприяє збільшенню в крові таких жінок концентрації активованих форм кисню. Це призводить до цитолізу клітин плаценти. iNOS також активує диференціацію децидуальних макрофагів в бік субпопуляції M1, а ця субпопуляція, в свою чергу, підвищує рівень прозапальних цитокінів – «порочне коло» замикається [98,101].

Активність iNOS в основній групі-I (тобто в групі жінок високого ризику виникнення преєклампсії, які не приймали розроблену нами вторинну профілактику преєклампсії) значно зросла (більше, ніж в 2 рази) порівняно з КГ. Тоді як активність аргінази в цервікальному слизу у вагітних ОГ-I порівняно з контролем знижувалась в 1,7 рази.

У жінок ОГ-II, які, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності приймали рекомендовані нами препарати (метформін, вітамін Д3 та корвітин), відбулася нормалізація балансу активності iNOS та аргінази. Ці показники наблизились до таких в контрольній групі (iNOS $1,24 \pm 0,16$ мкмоль/хв/1 г білка в КГ та $1,51 \pm 0,20$ мкмоль/хв/1 г білка в ОГ-II; $P > 0,2$), (аргіназа $2,21 \pm 0,19$ мкмоль/хв/1 г білка та $2,09 \pm 0,21$ мкмоль/хв/1 г білка відповідно; $P > 0,5$).

Знайдені позитивні кореляції між активністю iNOS та вмістом в цервікальному слизу прозапального цитокіна TNF- α ($r=0,78$; $P < 0,001$) і прозапального цитокіна INF- γ ($r=0,56$; $P < 0,01$), а також позитивна кореляція між падінням вмісту протизапального цитокіну IL-10 та зменшенням активності аргінази в цервікальному слизі ($r=0,54$; $P < 0,02$), від'ємна кореляція між зростанням активності iNOS та зниженням активності аргінази в цервікальному слизі у пацієток ОГ-I ($r=-0,41$; $P < 0,05$). Це дозволило нам заключити, що у вагітних з преєклампсією (ОГ-I) порушується баланс про- та протизапальних цитокінів на користь TNF- α та INF- γ при зменшенні вмісту IL-

10, що спричиняє дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із збільшенням активності iNOS при зниженні активності аргінази. А в ОГ-II внаслідок проведеного профілактичного лікування відбулась нормалізація співвідношення iNOS та аргінази і балансу про- та протизапальних цитокінів в слизу цервікального каналу.

Важливим напрямком подальших досліджень стало вивчення особливості диференціації децидуальних макрофагів в другому і на початку третього триместру вагітності у жінок групи високого ризику по виникненню преєклампсії, оскільки відомо, що iNOS та прозапальні цитокіни є індукторами диференціації макрофагів в субпопуляцію M1, а аргіназа та протизапальний цитокін IL-10 – в субпопуляцію M2 [65,81,82,101,102,214,267].

При імуногістохімічному дослідженні біоптатів плаценти було виявлено, що в плацентах жінок із преєклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок, а вміст макрофагів фенотипу M2, навпаки, зменшувався в 1,5 рази. Відповідно, співвідношення M1/M2 у хворих на преєклампсію достовірно зросло в 2,5 рази порівняно із показником у здорових вагітних в цьому терміні.

Знайдені достовірні кореляції між вмістом макрофагів субпопуляції M1 в плацентах жінок, що перенесли преєклампсію в II триместрі або в ранній фазі III триместру вагітності, та концентрацією в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r=0,65$; $P<0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r=0,59$; $P<0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r=0,49$; $P<0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r=0,60$; $P<0,02$).

Тобто, на противагу здоровим вагітним, у жінок з преєклампсією, які не отримували профілактичне лікування, в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції M1 (за рахунок стимулюючого впливу INF- γ та активації індукцибельної NO-синтази), що, вірогідно, спричиняє порушення функції плаценти в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності за

рахунок цитотоксичної активності макрофагів M1, дія яких направлена на вироблення великої кількості прозапальних цитокінів, активованих форм кисню і надлишкової кількості оксиду азоту [36,65,82,101,160,188,214]. Внаслідок цього прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки з подальшим виникненням незадовільної перфузії плацентарної тканини і порушенням матково-плацентарно-плодового кровообігу та розвитком системних проявів преєклампсії [24,26,60,62,68,69,86,105,130]. Такі порушення диференціації децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності в сторону фенотипу M1 є одним з основних патофізіологічних механізмів розвитку преєклампсії [18,34,112,174].

Наведені результати досліджень переконливо демонструють той факт, що для ефективною вторинної профілактики преєклампсії необхідно відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів в II триместрі і в ранній фазі III триместру вагітності (шляхом пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляції фенотипу M2). Використані нами препарати (метформін, вітамін D₃ та корвітин) дозволили досягти цієї мети шляхом пригнічення продукції iNOS та прозапального цитокіну INF- γ (для зменшення вироблення децидуальних макрофагів субпопуляції M1) та стимуляції вироблення аргінази і протизапального цитокіну IL-10 (для збільшення субпопуляції M2) [17,24,25,26,51,68,158,177,190,238,253,267].

В результаті проведеного профілактичного лікування виявилось, що в плацентах жінок ОГ-II, які пройшли курс терапії, вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 знизився в 1,4 рази порівняно з показником у жінок ОГ-I ($69,4 \pm 5,0/10$ полів зору в ОГ-II порівняно із $94,2 \pm 5,2/10$ полів зору в ОГ-I; $P < 0,002$), наблизившись до показника у здорових вагітних ($56,5 \pm 4,5/10$ полів зору; $P > 0,05$). Вміст макрофагів фенотипу M2, навпаки, зріс в 1,4 рази ($123,7 \pm 7,1/10$ полів зору в ОГ-II при $88,6 \pm 6,7/10$ полів зору в ОГ-I; $P < 0,002$), наближаючись до рівня у здорових вагітних ($135,0 \pm 6,4/10$ полів зору; $P > 0,2$). Відповідно, співвідношення M1/M2 у вагітних ОГ-II достовірно знизилось до $0,56 \pm 0,06$, наближаючись до такого в КГ ($0,42 \pm 0,043$; $P > 0,05$) при показнику в ОГ-I $1,06 \pm 0,2$ ($P < 0,05$).

Заключення

Узагальнюючи отримані результати клініко-лабораторно-апаратних досліджень серед вагітних групи високого ризику по виникненню преєклампсії, після ретельної статистичної обробки даних та кореляційного аналізу, можна стверджувати, що у вагітних з маніфестацією преєклампсії виявлено наступні дисрегуляторні особливості клітинно-гуморального імунітету:

- поглибились явища імуносупресії, притаманні вагітності в цілому [31,96] (тенденція до зниження абсолютної кількості Т-лімфоцитів, зменшення концентрації Т-хелперів при достовірному підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів із відповідним падінням показника імуnoreгуляторного індексу; зниження концентрації IgG, викликане, вірогідно, виснаженням реактивності гуморальної ланки імунітету [31]);
- значно зросли рівні прозапальних цитокінів INF- γ та TNF- α при достовірному зниженні концентрації протизапального цитокіну IL-10; такі зміни сприяють нездатності клітин трофобласта забезпечити повноцінну інвазію в спіральні артерії матки з подальшим розвитком у таких жінок ендотеліальної дисфункції [36,48,126,225];
- порушення балансу про- та протизапальних цитокінів (на користь TNF- α та INF- γ при зменшенні вмісту IL-10) призводить до дисбалансу ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, зі збільшенням активності iNOS при суттєвому зниженні активності аргінази;
- в плаценті домінують децидуальні макрофаги субпопуляції M1 (за рахунок стимулюючого впливу INF- γ та активації індукцибельної NO-синтази) [90,98,101,113], що, без сумніву, спричиняє порушення функціонування плаценти в II та в ранній фазі III триместру вагітності (оскільки активність макрофагів M1 направлена на вироблення надлишкової кількості активованих форм кисню та оксиду азоту, які синергічно із дією активованих макрофагів M1 обумовлюють цитотоксичний вплив на тканину плаценти) [146,149,171,185,208];
- внаслідок дії надлишкової кількості макрофагів M1 прогресує неадекватне ремоделювання спіральних артерій матки

[34,36,69,76,77,130,248,253] з подальшим виникненням недостатньої перфузії плацентарної тканини, порушенням матково-плацентарно-плодового кровообігу та розвитком системних проявів преєклампсії;

- нефізіологічне зменшення субпопуляції M2 у плаценті в період виношування плода призводить до зниження продукції протизапального цитокіна IL-10, що спричиняє зменшення активності аргінази (з відповідною альтернативною активацією iNOS і стимуляцією диференціації децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1 [146,149,186,208]) та зниження диференціації децидуальних макрофагів в сторону субпопуляції M2;
- ці процеси порушення фізіологічного балансу субпопуляцій децидуальних макрофагів M1 та M2 в II і в ранній фазі III триместру вагітності призводять до прогресування ендотеліальної дисфункції, поглиблення проявів преєклампсії і подальшого зниження кровообігу в спіральних артеріях матки, а в подальшому – і до страждання плодового кровотоку із виникненням затримки розвитку та дистресу плода [26,34,60,68,69,89,130].

В результаті таких суттєвих змін в діяльності організму вагітних жінок з високим ризиком виникнення преєклампсії, які не приймали запропоноване профілактичне лікування (ОГ-I), в подальшому виникали значні клінічні ускладнення гестаційного процесу:

- в 1,4 рази частіше виникала преєклампсія з ранньою маніфестацією та більш тяжким перебігом ($P < 0,05$) (тяжка преєклампсія виникала у них в 2,6 рази частіше; $P < 0,05$), ніж у жінок ОГ-II;
- частіше проявлялись інші ускладнення гестаційного процесу (затримка розвитку плода, дистрес плода та передчасне відшарування нормально розташованої плаценти);
- спостерігалась висока питома вага передчасних пологів (53,1% проти 23,7% в ОГ-II; $P < 0,05$; при 3,3% в КГ);
- в ОГ-I 15,6% (5 жінок) народили до 28 тижнів передчасно народжених дітей з екстремально низькою масою тіла, в той час як в ОГ-II в такому

терміні пологів не було; переважна кількість передчасно народжених дітей в ОГ-II народились в 35-36 тижнів;

- в ОГ-I порівняно із жінками ОГ-II спостерігалась більш висока частота ускладнень пологів: передчасний розрив плодових оболонок – в 2,6 рази частіше, слабкість пологової діяльності – в 1,8 рази, акушерські кровотечі – в 2,8 рази, гіпоксія плода виникла в 2,9 рази частіше ($P < 0,05$);
- перинатальна смертність в ОГ-I спостерігалась в 1,8 разів частіше, ніж у жінок ОГ-II (62,5‰ проти 33,9‰);
- частота кесаревого розтину в ОГ-I була в 1,7 разів частіше, ніж в ОГ-II;
- в ОГ-I в асфіксії народилось в 4 рази більше дітей, ніж в ОГ-II (31,3% проти 6,8%; $P < 0,05$);
- з масою тіла менше 2500 грамів в ОГ-I народилось 14 дітей (43,8%), тоді як в ОГ-II – 12 дітей (20,4%), що в 2,1 рази менше, ніж в ОГ-I ($P < 0,05$).

Беручи до уваги виявлені патогенетичні фактори, стає зрозумілим, що для ефективної вторинної профілактики прееклампсії необхідно досягти відновлення правильної диференціації субпопуляцій децидуальних макрофагів (пригнічення вироблення фенотипу M1 та стимуляція фенотипу M2), шляхом впливу на вироблення факторів їх індукції (пригнічення продукції iNOS та прозапального цитокіну INF- γ для субпопуляції M1 [101,186,214,220] та активації функціонування аргінази і вироблення протизапального цитокіну IL-10 – для субпопуляції M2 [65,81,102,214,267]).

Були застосовані три препарати, механізм дії яких дозволяє вирішити поставлені задачі вторинної медикаментозної профілактики виникнення прееклампсії у жінок групи високого ризику по цьому захворюванню:

- метформін, який пригнічує транслокацію нуклеарного фактора транскрипції (NF-kB), що призводить до зменшення вироблення прозапальних цитокінів, покращення ендотеліальної функції та зниження диференціації M1-макрофагів [17,51,158,177,190,238];
- вітамін D, який грає роль регулятора децидуального імунітету. Його активна форма D3 (1,25[OH]2D) не тільки сприяє диференціації

макрофагів M2, але також пригнічує диференціювання макрофагів M1 [253,267];

- корвітин, діючою речовиною якого є кверцетин, гальмує продукцію прозапальних цитокінів, що змінює баланс вазодилататорів та вазоконстрикторів на користь вазодилататорів, за рахунок чого зростає регіональний кровоплин, що сприяє відновленню порушеного кровоплину в спіральних артеріях матки у вагітних з преєклампсією [24,25,26,68].

Застосування запропонованого нами методу вторинної профілактики виникнення преєклампсії у вагітних групи високого ризику по даному захворюванню (виявлених шляхом врахування відповідних анамнестичних даних та наявності ознак гіперперфузії плаценти в терміні вагітності 18-20⁺⁶ тижнів) призвело до значних позитивних змін у роботі системи імунітету з відповідним покращенням клінічних наслідків:

- на противагу пригніченню клітинно-гуморального імунітету, та дисбалансу про- і протизапальних цитокінів, виявлених у жінок ОГ-I, в групі вагітних, які отримали курс вторинної профілактики преєклампсії (ОГ-II), вивчені показники імунітету наблизилися до таких у здорових вагітних жінок;
- відбулося зниження концентрації прозапальних цитокінів (INF- γ та TNF- α) та підвищення концентрації протизапального цитокіну IL-10 в цервікальному слизу в ОГ-II із відповідним зменшенням коефіцієнту TNF- α /IL-10; причому ці показники наблизились до таких в контрольній групі;
- у жінок ОГ-II, які приймали рекомендовані нами препарати, спостерігалась нормалізація балансу активності iNOS та аргінази; ці показники у них наблизились до таких у контрольній групі;
- вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 знизився в 1,4 рази порівняно з показником у жінок ОГ-I, наблизившись до показника у здорових вагітних; вміст макрофагів фенотипу M2, навпаки, зріс в 1,4 рази, також наближаючись до рівня здорових вагітних;

- проведене профілактичне лікування сприяло збереженню задовільного кровоплину в системі матка-плацента-плід, на відміну від кровоплину в цій системі у вагітних жінок ОГ-I, які не приймали запропоновану вторинну профілактику прееклампсії:
 - ✓ в маткових артеріях показники С/Д та ІР практично не відрізнялись від показників контрольної групи, а показник ПІ був достовірно нижчий від аналогічного показника у вагітних ОГ-I, які відмовились від профілактичного лікування;
 - ✓ в спіральних артеріях матки в ОГ-II всі виміряні показники кровоплину були кращі, ніж у жінок ОГ-I, і наближались до таких у здорових вагітних, відрізняючись від них недостовірно;
 - ✓ аналогічна картина спостерігалась і в показниках кровоплину в артеріях пуповини та середній мозковій артерії плода, коли всі виміряні показники (С/Д, ІР та ПІ) наближались до таких в контрольній групі.

В цілому, профілактичне лікування дозволило попередити порушення кровоплину в матково-плацентарно-плодовій системі, знизити в 1,4 рази частоту маніфестації прееклампсії ($P < 0,05$) (а частота тяжкої прееклампсії зменшилась в 2,6 рази; $P < 0,05$), значно знизити частоту ускладнень вагітності, асоційованих з прееклампсією (в тому числі в 2,2 рази зменшилась частота передчасних пологів; $P < 0,05$), та ускладнень пологів; перинатальна смертність знизилась з 62,5% в ОГ-I до 33,9% ОГ-II; в 4 рази рідше зустрічалась асфіксія новонароджених ($P < 0,05$), в 2,1 рази менше народилось дітей з екстремально низькою масою тіла ($P < 0,05$).

ВИСНОВКИ

В дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального науково-практичного завдання акушерства, яке полягає у з'ясуванні механізмів порушень балансу субпопуляцій децидуальних макрофагіва M1 і M2 у вагітних з преєклампсією та їхній зв'язок із порушеннями фетоплацентарного кровообігу, змінами клітинно-гуморального імунітету, дисбалансом про- і протизапальних цитокінів та порушеннями обміну оксиду азоту для розробки патогенетично обґрунтованої вторинної профілактики преєклампсії у вагітних групи високого ризику по цьому захворюванню.

1. Виявлено п'ять основних анамнестичних факторів ризику виникнення преєклампсії у обстежених жінок: перинатальні втрати в анамнезі (ВШ 4,23; 95%ДІ [2,17-7,62], $P < 0,05$), преєклампсія при попередніх пологах (ВШ 7,04; 95%ДІ [3,28-9,15], $P < 0,05$), сімейний анамнез преєклампсії (ВШ 5,77; 95%ДІ [3,00-6,30], $P < 0,05$), хронічна артеріальна гіпертензія (ВШ 11,82; 95%ДІ [4,77-18,01], $P < 0,05$), надлишкова вага жінки (ВШ 3,44; 95%ДІ [1,08-6,54], $P < 0,05$).

Особливе значення в прогнозуванні виникнення преєклампсії має виявлення в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності зниження кровообігу в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки (зростання індекса резистентності до 0,63 і більше; $P < 0,01$; пульсаційного індекса – до 0,89 і більше; $P < 0,05$); у таких вагітних в подальшому преєклампсія виникала в 43,8% випадків ($P < 0,05$); а при зростанні індексу резистентності до 0,7 – в 71% випадків ($P < 0,01$).

2. У вагітних, у яких виникла преєклампсія в II та ранній фазі III триместру вагітності, порушення кровообігу прогресують як в матково-плацентарному (С/Д відношення в маткових судинах і спіральних артеріях матки зростало в 1,3-1,4 рази; $P < 0,001$; ІР та ІІ збільшувались в 1,5 рази; $P < 0,01$), так і в плацентарно-плодовому сегменті (С/Д відношення, ІР та ІІ в артеріях пуповини збільшувались в середньому в 1,3 рази; $P < 0,01$).

3. У вагітних групи високого ризику виникнення преєклампсії, які не приймали розроблене нами профілактичне лікування, в 28-34 тижні вагітності проявились явища імуносупресії і клітинно-гуморального дисбалансу: зниження вмісту Т-хелперів ($P < 0,001$) при підвищенні концентрації Т-супресорів/кілерів ($P < 0,05$), тенденція до зниження кількості В-клітин і пов'язане з цим падіння рівня IgG ($r = 0,58$; $P < 0,01$). Виявлено суттєве зростання кількості циркулюючих імунних комплексів ($P < 0,05$), причому при рівні ЦІК вище 100 од/мл частота виникнення преєклампсії становила 67% ($P < 0,001$).

У вагітних, у яких виникла преєклампсія, рівень прозапальних цитокінів достовірно збільшився порівняно із контрольною групою (INF- γ – в 1,5 рази; $P < 0,02$; а TNF α – в 2,6 рази; $P < 0,05$). На противагу зростанню рівнів прозапальних цитокінів концентрація протизапального цитокіну IL-10 достовірно знижувалась в 1,9 рази ($P < 0,001$).

4. Виявлено, що у вагітних з преєклампсією має місце дисбаланс активності ферментів, які регулюють обмін L-аргініну, із зростанням активності індукцибельної NO-синтази (iNOS) в 2,6 рази ($P < 0,001$) при одночасному падінні активності аргінази (в 1,9 рази) ($P < 0,001$).

В плацентах жінок із преєклампсією вміст децидуальних макрофагів фенотипу M1 (які цитотоксично впливають на тканину плаценти) в 1,7 разів перевищує їх кількість у здорових жінок ($P < 0,001$), тоді як вміст макрофагів фенотипу M2 (що сприяють ремоделюванню та репарації тканини плаценти), навпаки, зменшувався в 1,5 рази ($P < 0,001$). Знайдені достовірні кореляції між зростанням вмісту макрофагів субпопуляції M1 в плаценті жінок з преєклампсією із більшенням концентрації в цервікальному слизу прозапального цитокіну INF- γ ($r = 0,65$; $P < 0,05$) та індукцибельної NO-синтази ($r = 0,59$; $P < 0,05$). Також виявились достовірними кореляції між падінням вмісту макрофагів фенотипу M2 в плаценті у таких жінок і зниженням рівня протизапального цитокіну IL-10 ($r = 0,49$; $P < 0,05$) та падінням активності аргінази в цервікальному слизу ($r = 0,60$; $P < 0,02$).

5. Розроблений нами метод вторинної профілактики прееклампсії, який рекомендувався вагітним групи високого ризику по цьому захворюванню, починаючи з 18-20⁺⁶ тижнів вагітності (призначення метформіну, вітаміну D₃ та корвітину) посприяв в II та ранній фазі III триместру вагітності нормалізації показників клітинно-гуморального імунітету, збалансуванню рівнів про- та протизапальних цитокінів, нормалізації активності iNOS та аргінази із зміною балансу децидуальних макрофагів на користь субпопуляції M2, що забезпечило зниження частоти маніфестацій прееклампсії в 1,4 рази (P<0,05), передчасних пологів – в 2,2 рази (P<0,05), асфіксії новонароджених – в 4 рази (P<0,05), народжень дітей з екстремально низькою вагою – в 2,1 рази (P<0,05).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. В 18-20⁺⁶ тижнів вагітності прогностичними маркерами високого ризику виникнення в подальшому прееклампсії можуть слугувати:

- ✓ п'ять основних анамнестичних факторів ризику: перинатальні втрати в анамнезі (ВШ 4,23; 95%ДІ [2,17-7,62], $P<0,05$); прееклампсія при попередніх пологах (ВШ 7,04; 95%ДІ [3,28-9,15] $P<0,05$); сімейний анамнез прееклампсії (ВШ 5,77; 95%ДІ [3,00-6,30], $P<0,05$); хронічна артеріальна гіпертензія (ВШ 11,82; 95%ДІ [4,77-18,01], $P<0,05$); надлишкова вага жінки і ожиріння ($IMT \geq 25$) (ВШ 3,44; 95%ДІ [1,08-6,54], $P<0,05$);
- ✓ виявлення при УЗД в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності збільшення індекса резистентності в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки до величини 0,7 і більше, оскільки в подальшому у 71% таких жінок виникає прееклампсія ($P<0,001$);
- ✓ зростання рівня циркулюючих імунних комплексів (в терміні вагітності 18-20⁺⁶ тижнів вагітності) більше 100 од/мл. В цьому випадку вірогідність виникнення прееклампсії становить 67% ($P<0,001$);

2. Рекомендовано призначати таким жінкам ранню вторинну профілактику прееклампсії (починаючи з моменту виявлення зниження кровотоку в спіральних артеріях матки в області плацентарної площадки в 18-20⁺⁶ тижнів вагітності):

- ✓ *метформін* (який інгібує диференціацію децидуальних макрофагів в субпопуляцію M1) по 500 мг на добу до розродження жінки;
- ✓ *вітамін D₃* (який стимулює диференціацію M2-макрофагів) по 2000 МО/добу до розродження жінки);
- ✓ *корвітин* (який сприяє інтенсифікації кровоплину в arteria uterina і в спіральних артеріях матки) шляхом внутрішньовенних крапельних інфузій 500 мг препарату, розчиненого в 100 мл фізрозчину, 1 раз на добу протягом 10 днів; курс лікування повторювати 2 рази за вагітність з проміжком 6 тижнів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абдуллаева НК. Нейроиммунные аспекты преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2014;14(5):18-21.
2. Абдуллаева НК. Состояние системы комплемента при преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2014;14(6):19-23.
3. Айламазян ЭК, Полякова ВО, Кветной ИМ. Функциональная морфология плаценты человека в норме и при патологии (нейро-иммуно-эндокринологические аспекты). СПб: Изд-во Н-Л;2012.176 с.
4. Айламазян ЭК, Степанова ОИ, Сельков СА, Соколов ДИ. Клетки иммунной системы матери и клетки трофобласта: «конструктивное сотрудничество» ради достижения совместной цели. Вестник РАМН. 2013; 11:12–21.
5. Акатьева АС. Клинико-патогенетические особенности различных вариантов тяжелой преэклампсии [диссертация]. М.: 2015;108-109.
6. Акімов ОЄ, Костенко ВО. Спосіб визначення загальної аргіназної активності в гомогенаті м'яких тканин. Деклараційний патент на корисну модель № 111874 Україна, МПК (2013.01) G01N 21/31 G01N 33/52.№ и 2016 04957; заявл. 04.05.2016 ; опубл. 25.11.2016;Бюл. № 22.
7. Акуленко Л.В. Роль полиморфизма генов ренин-ангиотензивной системы в этиологии и патогенезе преэклампсии. Проблемы репродукции. 2015;21(1):8-11.
8. Акушерство та гінекологія: у 4 томах. — Том 1. Акушерство: підручник (ВНЗ ІV р. а.) / за ред. В.М. Запорожана.2-е вид., випр.К.;2017.1032 с.
9. Акушерство: Национальное руководство. Редакторы Айламазян АК, Кулаков ВИ, Радзинский ВЕ, Савельева ГМ. М.: ГЭОТАР-Медиа;2015.1200 с.
10. Ахтамьянов РР, Леваков СА, Габитова НА. Дисбаланс систем перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у беременных с преэклампсией. Российский вестник акушера- гинеколога. 2015;15(2):43-48.
11. Ахтамьянов РР, Леваков СА, Габитова НА. Состояние системы антиоксидантной защиты и перекисного окисления липидов у беременных с преэклампсией. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2014;13(4):29-34.

12. Байбарина ЕН. Основные показатели деятельности акушерско-гинекологической службы в Российской Федерации в 2015 году. М.; 2016.33 с.
13. Барковський ДЄ. Нейроімуноендокринні маркери прогнозування преєклампсії. Оригінальні дослідження. 2018;44(3):302-308.
14. Бен Амор Мариам, Гнатко ЕП, Турос ЕИ, Бречицкая НВ. Анализ показателей системы гемостаза при преэклампсии различной степени тяжести. ScienceRise: Medical Science. 2016;8(4):9-14.
15. Бердигулова ЭФ, Губайдулина МЭ. Гемодинамика в сосудах матки у женщин с привычным невынашиванием беременности. Международный молодежный форум. 2020;8-9.
16. Бернадінер ОА. Корекція артеріальної гіпертензії у вагітних та породіль з преєклампсією важкого ступеня. ДЗ "Дніпропетр. мед. акад. МОЗ України"; Дніпропетровськ. 2015.20 с.
17. Бородич ТС. Влияние метформина в пренатальном периоде. Ожирение и метаболизм. 2015;12(1):66-71.
18. Венцківська ІБ, Аксьонова АВ, Лагода НМ. Морфологічні особливості плаценти при преєклампсії за даними гістохімії. Здоровье женщины. 2016;73-76.
19. Веропотвелян ПН, Веропотвелян НП, Смородская ЕП. Современные подходы к диагностике преэклампсии. Здоровье женщины. 2013; 84(8):79.
20. Воднева ДН, Шмаков РГ, Щеголев АИ. Роль маркеров инвазии трофобласта в развитии преэклампсии и опухолевой прогрессии. Акушерство и гинекология. 2013;11:9-12.
21. Волкова ЕВ, Джогадзе ЛС, Лысюк ЕЮ. Изменение уровня ангиогенных факторов у беременных с хронической артериальной гипертензией. Современные технологии в медицине. 2013; 5:91-96.
22. Волкова ЕВ, Лысюк ЕЮ, Джогадзе ЛС. Роль сосудистых факторов роста в диагностике различных форм артериальной гипертонии у беременных. Проблемы репродукции. 2012;5:102-106.

23. Всемирная организация здравоохранения. Мировая статистика здравоохранения 2013. World Health Organization. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2013/ru/.
24. Гайструк НА, Гайструк АН, Мазченко ОО. Патент «Спосіб лікування плацентарної недостатності у вагітних з преєклампсією середнього ступеня». №69717 від 10.05.2012 року. Україна.
25. Гайструк НА, Мазченко ОО, Надєждін МВ. Профілактика та лікування дистресу плода і ранніх судинних порушень у вагітних групи ризику виникнення гіпертензивних розладів. Биол. терапия. 2012;2:42-46.
26. Гайструк НА, Мазченко ОО, Надєждін МВ. Сучасні аспекти діагностики та терапії дистресу плода і ранніх судинних порушень у вагітних. Здоров'я жінки. 2012;74(8):98-101.
27. Грищенко ОВ, Лахно ІВ. Менеджмент вагітних із преєклампсією з позицій акушерської гемостазіології. Репродуктив. ендокринологія. 2016;5:80-84.
28. Гуменна ІЄ. Перспективи клінічної діагностики і лікування ендотеліальної дисфункції у вагітних з артеріальною гіпертензією. Актуальні питання педіатрії, акушерства та гінекології. 2018;1:66-71.
29. Давыдова ЮВ. Перинатальный менеджмент при преэклампсии с позиций управления рисками. Репродуктивная эндокринология. 2014;18(4):72–73.
30. Джеломанова СА, Данькина ИА, Джеломанова ЕС. Роль антифосфолипидных антител в развитии преэклампсии. Здоровье женщины. 2014;88(2):90-92.
31. Дивакова ТС, Фомина МП. Особенности влияния дидрогестерона и ацетилсалициловой кислоты на плацентарный ангиогенез при осложненной беременности. Медицинские новости. 2014; 2:67–72.
32. Дикур ОН, Копылов ФЮ. Клиническое значение эндотелиальной дисфункции при беременности как компонента комплексной оценки риска развития преэклампсии. Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2014;2(1):7-13.
33. Додд ДМ, Гривелл РМ, Деуссен АР. Метформін у жінок з надлишковою масою тіла або ожирінням під час вагітності для покращення результатів у

- матерів та немовлят [Інтернет]. 2018 [цитовано 2018 Лип.18]. Доступно на: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010564.pub2>.
34. Долгушина ВФ, Сьондюкова ЕГ. Особенности плацентарного апоптоза и клеточной пролиферации при преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2015; 2:12-19.
35. Домейко М, Савичева А, Соколовский Е, Баллард Р, Унемо М. Руководство по лабораторной диагностике урогенитального тракта. СПб:Изд-во Н-Л; 2012.288 с.
36. Драннік ГМ. Клінічна імунологія та алергологія. К.:Здоров'я;2010.552с.
37. Дубова ЕА. Экспрессия инсулиноподобных факторов роста в плаценте при преэклампсии. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2014;157(1):116-120.
38. Зиганшина ММ. Аутоантитела к антигенам эндотелия при преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2016;3:24-31.
39. Зиганшина ММ. Выявление антител, связывающихся с эндотелиальными клетками *in vitro*, в сыворотке крови женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2015; 159(4):467- 471.
40. Імунологія: підручник. Ред. Л.В. Кузнецова, В.Д. Бабаджан, Н.В. Харченко. Вінниця: ТОВ «Меркьюрі Поділля»; 2013: 216с.
41. Иванец ТЮ. Диагностическая значимость определения плацентарного фактора роста и растворимой FMS-подобной тирозинкиназы-1 в качестве маркеров преэклампсии. *Проблемы репродукции*. 2015;21(4):129-133.
42. Иванец ТЮ, Алексеева МЛ, Гончарова ЕА , Ходжаева ЗС, Вавина ОВ. Маркеры преэклампсии в I и II триместрах беременности. *Проблемы репродукции*. 2012; 3:83–87.
43. Казімірко НК, Акімова ОЄ, Завацький ВЮ, Поляков АС, Татаренко ДП. Імунологія фізіологічної вагітності. *Молодий вчений*. 2014;6(3).
44. Калакуцкая АН. Инфекционно-воспалительный фактор в генезе преэклампсии. *Материалы XVII Международного конгресса МАКМАХ по*

антимикробной терапии. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. М.:2015;2(17):29.

45. Калачин КА, Пырегов АВ, Федорова ТА, Грищук КИ, Шмаков РГ. «Нетипичный» HELLP-синдром или атипичный гемолитико-уремический синдром? Акушерство и гинекология. 2017;1:94-102.

46. Кан НЕ, Беднягин ЛА, Долгушина НВ, Тютюнник ВЛ, Ховхаева ПА, Сергунина ОА. Клинико-anamнестические факторы риска развития преэклампсии у беременных. Акушерство и гинекология. 2016;6:39-44.

47. Каткова НЮ, Бодрикова ОИ, Сергеева АВ, Безрукова ИМ, Покусаева КБ. Состояние локального иммунного статуса при различных вариантах преждевременных родов. Вестник РГМУ. 2017;3:57-62.

48. Керкешко ГО, Корневский АВ, Соколов ДИ, Сельков СА. Роль взаимодействия экстраклеточных микровезикул трофобласта с клетками иммунной системы и эндотелия в патогенезе преэклампсии. Медицинская иммунология. 2018; 20(4):485-514.

49. Клинические рекомендации (протокол лечения) «Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия». – Москва: 2016. 72 с.

50. Кокоева ФБ. Роль окислительного стресса в патогенезе преэклампсии. Проблемы репродукции. 2014;4:7-10.

51. Кондратьева ЛВ, Иванова ЛП. Метформин в терапии метаболических нарушений: гликемические и негликемические эффекты. Эндокринология: новости, мнения, обучение. 2017;2:22–27.

52. Коньков ДГ, Булавенко ОВ, Дудник ВМ, Буран ВВ. Сучасні аспекти патогенетично обумовленої профілактики преєклампсії. Перинатологія і педіатрія. 2016;1:46–50.

53. Костенко ВО. Методика визначення загальної аргіназної активності, вмісту нітритів та активності NO-синтази. Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»;Полтава;2017. 8 с.

54. Кудряшова АВ, Сотникова НЮ, Панова ИА. Дифференцировка клеток памяти в популяции Т-хелперов при неосложненной беременности и преэклампсии. Журн. акуш. и жен. бол. 2013;2:110-116.
55. Куликова ГВ. Особенности экспрессии TLR4 в структурных элементах плаценты при преэклампсии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015;160(11):676-679.
56. Лахно І.В. Сучасні можливості прогнозування та профілактики преєклампсії. Медичні аспекти здоров'я жінки. 2021;137(2):17-19.
57. Леваков СА. Роль свободнорадикального окисления и несостоятельной антиоксидантной защиты в патогенезе преэклампсии. Лечение и профилактика. 2015;15(3):50-55.
58. Левкович МА, Линде ВА, Нефедова ДД. Роль про- и противовоспалительных цитокинов и полиморфизма их генов при невынашивании беременности раннего срока. Российский иммунологический журнал. 2015;18(3):125-127.
59. Лихачев ВК. Оперативное акушерство с фантомным курсом. М.:МИА;2014.496 с.
60. Лихачев ВК. Практическое акушерство с неотложными состояниями. М.:МИА;2010.720 с.
61. Ліхачов ВК, Добровольська ЛМ, Семенюк ЛМ, Яремчук ЛВ. Акушерство і гінекологія: Практикум. Полтава:Дивосвіт;2014.200 с.
62. Ліхачов ВК, Тарановська ОО, Добровольська ЛМ, Ващенко ВЛ. Патент на корисну модель 132404. Спосіб доклінічного прогнозування преєклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»; 25.02.2019, Бюл.№4.
63. Ліхачов ВК. Гінекологія. Вінниця: Нова Книга; 2018. 688с.
64. Лоскутова ТО. Визначення ризику розвитку преєклампсії, зумовленої тромбофілією. Експерим. і клініч. медицина.2015;1:143-147.
65. Лямина СВ, Малышев ИЮ, Чеснокова НП, Морозова ОЛ. Поляризация макрофагов в современной концепции формирования иммунного ответа. Фундаментальные исследования. 2014;10:930-935.

66. Ляпин ВМ, Туманова УН, Щеголев АИ. Хорионические кисты в плаценте при преэклампсии. *Современные проблемы науки и образования*. 2015;163 с.
67. Ляпин ВМ, Туманова УН. Выраженность синцитиальных узелков в ворсинах плаценты зависит от формы преэклампсии. XI Международный конгресс по репродуктивной медицине. Материалы. 2017.с.258-259.
68. Мазченко ОО. Профілактика дистресу плода у вагітних з гіпертензивними розладами [автореф. дисертації на здобуття наук. ступеня к. мед. н.]. Вінниця: Вінн. нац. мед ун-т; 2019.19 с.
69. Майсина АИ, Смирнова ЕВ, Кулида Л В, Панова ИА. Сравнительная характеристика патоморфологических изменений в плаценте при беременности, осложненной среднетяжелой и тяжелой преэклампсией. XV Всеросс. науч. форум «Мать и дитя»; М.: 2014.с.109–110.
70. Макаров ОВ, Волкова ЕВ, Лысюк ЕЮ, Копылова ЮВ, Джохадзе ЛС. Роль ангиогенных факторов роста в патогенезе преэклампсии и плацентарной недостаточности. *Акушерство и гинекология*. 2014;12:64
71. Макацария АД, Акиньшина СВ, Бицадзе ВО. Преэклампсия и HELLP-синдром как проявление тромботической микроангиопатии. *Акушерство и гинекология*. 2014;4:4-10.
72. Макацария АД, Бицадзе ВО, Хизроева ДХ, Акиньшина СВ. Тромботические микроангиопатии в акушерской практике. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017.304с.
73. Макацария АД, Бицадзе ВО, Червенака ФА. Беременность высокого риска. М.:МИА;2015.920с.
74. Максимов ИБ, Столяр ВП, Богомолов АВ. Прикладная теория информационного обеспечения медико-биологических исследований. М.: Бином; 2013.312 с.
75. Медведь ВІ, Жук СІ, Коньков ДГ, Булавенко ОВ, Ткаченко РО, Кукуруза ІЛ. Тяжка преэклампсія. CALM DOWN – алгоритм дій медичного персоналу. *Здоровье женщины*. 2017;10(126):28-33.
76. Милованов АП ,Волощук ИН. Депортированный синцитиотрофобласт и плацентарные микрочастицы в организме матери при нормальной

- беременности и преэклампсии (28 лет спустя). Архив патологии. 2017;1(79):61-67.
77. Михайлова ВА, Баженов ДО, Хохлова ЕВ, Сельков СА, Соколов ДИ. Цитотоксическая активность НК-клеток периферической крови в отношении клеток трофобласта. Экспериментальные модели. Специальный выпуск. 2017;19:49.
78. Михайлова ВА. Фенотипические и функциональные характеристики лейкоцитов периферической крови и их микрочастиц при преэклампсии. [Автореферат диссертации]. Санкт-Петербург; 2015.19с.
79. Мурашко АВ. Ангиогенные факторы роста в патогенезе преэклампсии. Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева. 2015;3:4-7.
80. Мурашко ЛЕ, Файзуллин ЛЗ, Мурашко АВ. Роль эндотелина в патогенезе преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2013;11:4-8.
81. Мустафина ЛР, Логвинов СВ, Юрьев СЮ. Динамика изменений численной плотности плацентарных макрофагов при урогенитальном инфицировании в ранние сроки беременности. Морфология. 2015;147(2):54-58.
82. Мустафина ЛР, Логвинов СВ, Юрьев СЮ. Изменения численной плотности С68 в маточно-плацентарной области при микоплазменной контаминации. Материалы XII Международной конференции Сибирского института акушерства, гинекологии и перинатологии (г. Томск) и кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. Сеченова (Москва). 2014. 27-27 ноября.
83. Нефедова ДД, Линде ВА, Левкович МА. Иммунологические аспекты беременности. Медицинский вестник Юга России. 2013;4:16-21.
84. Низяева НВ, Куликова ГВ. Экспрессия DA1-1-рецепторов в плаценте при ранней и поздней преэклампсии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017;164(7):127-132.
85. Низяева НВ, Куликова ГВ. Экспрессия микро РНК-146А и микро РНК-155 в ворсинах плаценты при ранней и поздней преэклампсии. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2017;163(3):381-387.

86. Низяева НВ, Сухачева ТВ. Ультраструктурные особенности васкуляризации ворсин при ранней и поздней преэклампсии. 2-й Национальный Конгресс по регенеративной медицине. Материалы конгресса; 2015. с.122-123.
87. Низяева НВ. Роль дендритных клеток и паттерн-распознающих рецепторов в развитии патологии беременности. Успехи современной биологии. 2014;134(6):563-572.
88. Никитина НА, Сидорова ИС, Бардачова АВ. Перинатальные и ранние неонатальные исходы при тяжелой преэклампсии. Материалы XV Всероссийского научного форума "Мать и дитя". Москва; 2014,23-26 сентября. с.379-380.
89. Никитина НА, Сидорова ИС, Милованов АП. Морфологическая основа неконтролируемой артериальной гипертензии при тяжелой преэклампсии и эклампсии. Юбилейный Всероссийский конгресс «Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья». Москва; 2014. с.71-73.
90. Никитина НА, Сидорова ИС, Рзаева АА. Оценка эффективности терапии преэклампсии на основании исследования динамики биохимических маркеров эндотелиальной дисфункции. V Всероссийский конгресс «Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья». Москва; 2014. с.55-56.
91. Нурмагомедова ПМ. Роль системной воспалительной реакции и эндотелиальная дисфункция в патогенезе преэклампсии. Дагестанский государственный медицинский университет. 2016;3:478-482.
92. Панова ИА, Кудряшова АВ, Малышкина АИ, Хлипунова ДА, Рокотянская ЕА. Экспрессия молекул клеточной адгезии фагоцитами как критерий дифференциальной диагностики гипертензивных расстройств беременных. Акушерство и гинекология. 2015;7:33–37.
93. Панова ИА, Малышкина АИ, Кудряшова АВ, Хлипунова ДА, Рокотянская ЕА, Сытова ЛА. Синтез матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов периферическими фагоцитами у беременных с гипертензивными расстройствами. Журнал акушерства и женских болезней; 2015;64(3):26–32.

94. Перфилова ВН, Михайлова ЛИ, Тюренков ИН. Роль эндотелиальных биологически активных веществ в прогнозировании развития и оценке степени тяжести преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2013;11:24-29.
95. Поздняков ИМ, Ширинская АВ. Уровень лептина, про- и противовоспалительных цитокинов при беременности, осложненной различными формами артериальной гипертензии. *Цитокины и воспаление*. 2015;14(1):75-79.
96. Радзинский ВЕ, редактор. *Акушерство: учебник*. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016:1040с.
97. Рзаева АА, Сидорова ИС, Мурашко АВ, Никитина НА. Роль нейроспецифических белков NSE и GFAP в прогнозировании преэклампсии. V Всероссийский конгресс «Амбулаторно-поликлиническая помощь – в эпицентре женского здоровья»; М.:2014.с.295-296.
98. Рождественская ТА, Лазуко СС. Влияние индуцибельной NO-синтазы и оксида азота в сыворотке крови беременных с артериальной гипертензией на состояние плодового кровотока. *Проблемы репродукции*. 2015;5:127-131.
99. Рымашевский АН, Туманян СС. Функциональное состояние почек и магнизиальная терапия у женщин с преэклампсией. III Международная научно-практическая конференция «Теоретические и прикладные аспекты современной науки». Белгород. 2014. с.165-167.
100. Савельева ГМ , редактор. *Акушерство: национальное руководство*. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2015.1088с.
101. Сарбаева НН, Пономарева ЮВ, Милякова МН. Макрофаги: разнообразие фенотипов и функций, взаимодействие с чужеродными материалами. *Гены & Клетки*. 2016;11(1):9-17.
102. Сахно ЛВ, Шевела ЕЯ, Тихонова МА, Останин АА, Черных ЕР. Молекулярные механизмы иммуносупрессорной активности M2-макрофагов. *Иммунология*. 2016;37(6):311-315.
103. Серов ВН, Сухорукова ОИ. Профилактика преждевременных родов. *Российский медицинский журнал*. 2014;1:3-7.
104. Сидорова ИС, Курцер МА, Никитина НА, Рзаева АА. Роль плода в развитии преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2012;5:23-28.

105. Сидорова ИС, Милованов АП, Никитина НА, Рзаева АА, Бардачова АВ. Особенности процесса плацентации при преэклампсии и эклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2014;3:4-10.
106. Сидорова ИС, Милованов АП, Никитина НА, Рзаева АА. Патоморфологические особенности изменений в почках при тяжелой преэклампсии. Российский вестник акушера-гинеколога. 2014;1:4-9.
107. Сидорова ИС, Милованов АП, Никитина НА, Рзаева АА. Патоморфологические особенности повреждений мозга при тяжелой преэклампсии и эклампсии. Акушерство и гинекология. 2014; 3:44-48.
108. Сидорова ИС, Никитина НА. Особенности патогенеза эндотелиоза при преэклампсии. Акушерство и гинекология. 2015;1:72-78.
109. Сидорова ИС, Унанян АЛ, Никитина НА, Рзаева АА, Кинякин В.В. Сравнительная оценка молекулярных и иммуногистохимических маркеров иммунного повреждения эндотелия сосудов у беременных с артериальной гипертензией и преэклампсией. Акушерство, гинекология и репродукция. 2012;6(4):29-32.
110. Сидорова ИС, Никитина НА, Унанян АЛ, Агеев МБ, Кокин АА. Система комплемента при физиологической беременности. Акушерство и гинекология.[интернет]2021;6:14-20. Доступно на <https://dx.doi.org/10.18565/aig.2021.6.14-20>
111. Смирнова ЕВ, Майсина АИ, Кулида ЛВ, Панова ИА. Сравнительный анализ патоморфологических изменений в плацентах при хронической артериальной гипертензии и при сочетании ее с преэклампсией. XV Всеросс. Науч. форум «Мать и дитя»; 2014 23-26 сент.; Москва.2014, с. 171–172.
112. Соколов ДИ, Сельков СА. Децидуальные макрофаги: роль в иммунологическом диалоге матери и плода. ФГБУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН; Санкт-Петербург. 2014, 113-117.
113. Соломатина ЛВ. Роль системного воспалительного ответа в развитии осложнений беременности и родов. Российский иммунологический журнал. 2015;18(1):111-113.

114. Сотникова НЮ. Роль IFN γ в регуляции функциональной активности децидуальных естественных киллеров при беременности. Иммунология. 2010;31(3):136-139.
115. Сотникова НЮ. Диагностика иммунных нарушений при невынашивании беременности. Справочник заведующего КДЛ. 2011;12:51-61.
116. Сотникова НЮ. Роль клеток врожденного иммунитета в обеспечении успеха беременности на ранних сроках гестации. Журн. акушерства и женских болезней. 2013;62(2):151-159.
117. Стародубцева НЛ. Возможность прогнозирования и ранней диагностики преэклампсии по пептидному профилю мочи. Акушерство и гинекология. 2015;6:46-52.
118. Степанова ЕО. Роль регуляторных Т-клеток в формировании иммунной толерантности при беременности. Акушерство и гинекология. 2013;2:24-28.
119. Сюдюкова ЕГ. Значение гомоцистеина и полиморфизма гена MTHFR C677T в развитии преэклампсии. Вестник Уральской медицинской академической науки. 2014.;47(1):23-25.
120. Сюдюкова ЕГ. Значение соматической и акушерско-гинекологической патологии в развитии преэклампсии. Вестн. ЮУРГУ. 2013;13(1):102-107.
121. Таранов АГ. Лабораторная диагностика в акушерстве и гинекологии. Справочник. М.:ЭликсКом; 2012. 80 с.
122. Тарановська ОО, Добровольська ЛМ. Доклінічне прогнозування прееклампсії за рівнем преплацентарного кровотоку. Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я №239. Випуск 14 з проблеми «Акушерство та гінекологія». 2018;4 с.
123. Тарановська ОО, Ліхачов ВК, Добровольська ЛМ, Шиманська ЯВ. Спосіб неінвазивної діагностики хронічного ендометриту у жінок з репродуктивними втратами на етапі прегравідарної підготовки. Вищий державний навчальний заклад України «Українська медична стоматологічна академія»; Бюл.№4.Патент на корисну модель №132402. 2019 лют. 25.

124. Тетруашвили НК. Ранние потери беременности: иммунологические аспекты, пути профилактики, иммунотерапии [Автореф. диссертации]. Москва; 2008.48 с.
125. Трифонова ЕА, Габидулина ТВ, Ершов НИ, Сереброва ВН, Ворожищева АЮ, Степанов ВА. Характеристика транскриптома плацентарной ткани у женщин с физиологической беременностью и преэклампсией. *Acta naturae*. 2014;21(2):77-89.
126. Трунова ЛА. Нарушение цитокиновой регуляции в патогенезе преэклампсии. *Российский иммунологический журнал*. 2015;9:16-21.
127. Туманян СС, Рымашевский АН, Туманян СВ. Реакции адаптации вегетативной нервной системы, кровообращения и почек у женщин с преэклампсией, как критерии эффективности терапии. *Врач-аспирант*. 2015;70(31):205-212.
128. Филиппов ОС, Гусева ЕВ, Сидорова ИС, Никитина НА. Результаты конфиденциального аудита материнской смертности в Российской Федерации в 2014 году. Методическое письмо Министерства здравоохранения Российской Федерации № 15-4/10/2-5993 от 09.10.2015.50 с.
129. Фримель Г, редактор. Иммунологические методы. М:Медицина;1987.472 с.
130. Фураева КН. Пролиферативная и миграционная активность клеток трофобласта при преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2015;5:49-55.
131. Хиць А.Р. Лікарю-практику. Гестаційний цукровий діабет: суперечки щодо лікування тривають. *Український медичний часопис*. 2020. с.1.
132. Хлестова ГВ, Низяева НВ. Роль повреждения синцитиотрофобласта ворсин плаценты в патогенезе преэклампсии. XI Международный конгресс по репродуктивной медицине. Материалы;2017;с. 215-216.
133. Ходжаева ЗС, Коган ЕА, Клименченко НИ, Акатьева АС, Сафонова АД, Холин АМ и др. Клинико-патогенетические особенности ранней и поздней преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2015;1:12-17.
134. Ходжаева ЗС, Шмаков РГ, Коган ЕА. Клинико-анамнестические особенности, плацента и плацентарная площадка при ранней и поздней преэклампсии. *Акушерство и гинекология*. 2015;4:25–31.

135. Холин АМ, Ходжаева ЗС, Иванец ТЮ. Скрининг ранней преэклампсии в I триместре беременности на основе комбинированной оценки материнского сывороточного плацентарного фактора роста и доплерометрии маточных артерий. *Акушерство и гинекология*. 2015;5:42-48.
136. Хохлова ЕВ, Михайлова ВА. Влияние IL-1 β на взаимодействие естественных киллеров и клеток трофобласта. Национальный конгресс «Дискуссионные вопросы современного акушерства»; 2017 июнь 15–17.
137. Цахилова СГ, Кузнецов ВП, Хмельницкая АВ. Влияние иммунного статуса матери на развитие плода и здоровье новорожденного (обзор литературы). *Проблемы репродукции* [интернет] 2016;6:38-43. Доступно на <https://doi:10.17116/repro201622638-43>
138. Чайка ВК, Бабенко ОМ, Єрмаченко АО. Імунобіологія вагітності (огляд літератури). *Новости медицины и фармации. Акушерство, гинекология, репродуктология*. 2009.275 с.
139. Черняк ММ, Корчинська ОО. Сучасний стан проблеми плацентарної дисфункції у жінок з обтяженим акушерським анамнезом. *Проблеми клінічної педіатрії*. 2015;30(4):42-48.
140. Щеголев АИ, Ляпин ВМ. Диагностическая значимость гистологических характеристик плаценты зависит от вида и степени тяжести преэклампсии. *Материалы V съезда Российского общества патологоанатомов. Российское общество патологоанатомов*. 2017;с.369-370.
141. Щербаков ВИ, Поздняков ИМ, Ширинская АВ, Волков МВ. Роль провоспалительных цитокинов в патогенезе преждевременных родов и преэклампсии. *Российский вестник акушера-гинеколога*. [интернет] 2020;20(2):15-21. Доступно на <https://doi.org/10.17116/rosakush20202002115>
142. Щербаков ВИ, Рябиченко ТИ, Скосырева ГА, Трунов АН. Локальное воспаление как компонент срочных самопроизвольных родов. *Российский вестник акушера-гинеколога*. 2018;3:13-19.
143. Щербаков ВИ., Рябиченко ТИ, Скосырева ГА, Трунов АН. Спектр противовоспалительных цитокинов у беременных с плацентарной

- недостаточностью и задержкой роста плода. Российский вестник акушера-гинеколога [интернет] 2019;19(3):11-16. Доступно на <https://doi.org/10.17116/rosakush20191903111doi:10.17116/repro201622638-43>
144. Юлдашев АЮ, Комилова МС. Цитокин-эндокринный профиль организма при физиологической и прерывающейся беременности и морфологические особенности плаценты. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2015;3(1):25-28.
145. Яковлева ЕА, Демина ОВ, Бабаджанян ЕН, Яковенко ЕА. Плацентарная дисфункция. Міжнародний медичний журнал. 2017;2:47-51.
146. Якушев ВИ, Покровский МВ, Бесхмельницына ЕА, Мясищева ОВ, Литвинова АС, Кривошапова ИИ, и др. Аргиназа II – новая мишень для создания эндотелиопротекторов. Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал. 2015;1:26-30.
147. Яроцька ЮО. Оптимізація профілактики виникнення та прогресування преєклампсії. Київ:Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця; 2016, с.20.
148. Abalos E, Cuesta C, Carroli G, et al. Pre-eclampsia, eclampsia and adverse maternal and perinatal outcomes: a secondary analysis of the World Health Organization Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health. BJOG. 2014;121(1):14-24.
149. Akimov OY. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride. Ukr. Biochem. J. 2016;88(6):70-75.
150. Alijotas-Reig J, Llurba E, Gris JM. Potentiating maternal immune tolerance in pregnancy: a new challenging role for regulatory T cells. Placenta. 2014;35(4):241-248.
151. Almasry SM, Eldomiaty MA, Elfayomy AK. Expression pattern of tumor necrosis factor alpha in placentae of idiopathic fetal growth restriction. J. Mol. Histol. 2012;43(3):253-261.
152. Anderson UD, Olsson MG, Kristensen KH, Åkerström B, Hansson SR. Biochemical markers to predict preeclampsia. Placenta. 2012;33:42–47.

153. Andraweera PH. The INSR rs2059806 single nucleotide polymorphism, a genetic risk factor for vascular and metabolic disease, associates with pre-eclampsia. *Reprod Biomed*. 2017;34(4):392-398.
154. Bartmann C, Segerer SE, Rieger L, Kapp M, Sutterlin M, Quantification of the predominant immune cell populations in decidua throughout human pregnancy. *Am. J. 259 Reprod. Immunol*. 2014;71(2):109-119.
155. Ben Amara A, Gorvel L, Baulan K. Placental macrophages are impaired in chorioamnionitis, an infectious pathology of the placenta. *J. Immunol*. 2014;91(11): 5501-5514.
156. Bibbins-Domingo K, Grossman DC, Curry SJ, Barry MJ, Davidson KW, Doubeni CA et al. Screening for preeclampsia: US preventive services task force recommendation statement. *JAMA* 2017;317:1661–1667.
157. Boucoiran L, Thissier-Levy S, Wu Y, Wei S. Risks for Preeclampsia and small for gestational age: predictive values of placental growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase-1, and inhibin a in singleton and multiple-gestation Pregnancies .*Am. J. Perinatal*. 2013;30:607–612.
158. Brownfoot FC, Hastie R, Hannan NJ, Cannon P, Tuohey L, Parry LJ et al. Metformin as a prevention and treatment for preeclampsia: effects on soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin secretion and endothelial dysfunction. *AmJObstet Gynecol*. 2016;214:356.
159. Bruno LO, Simoes RS, de Jesus Simoes M, Girão M J, Grundmann O. Pregnancy and herbal medicines: an unnecessary risk for women's health. A narrative review. *Phytotherapy Research*. 2018;32:796–810.
160. Calleja-Agius J, Jauniaux E, Muttukrishna S, Calleja-Agius J. Placental villous expression of TNF α and IL-10 and effect of oxygen tension in euploid early pregnancy failure. *Am. J. Reprod. Immunol*. 2012;67(6):515-525.
161. Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Espinosa M et al. An update for atypical haemolyticuraemic syndrome: diagnosis and treatment. A consensus document. *Nefrologia*. 2015;35(5):421-447.

162. Chaiworapongsa T, Chaemsaitong P, Yeo L, Romero R. Pre-eclampsia part 1: current understanding of its pathophysiology . *Nat. Rev. Nephrol.* 2014;10(8):466-480.
163. Chedraui P. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T and A1298C) in nulliparous women complicated with preeclampsia. *Gynecol. Endocrinol.* 2014;30(5):392-396.
164. Chen DB, Zheng J. Regulation of placental angiogenesis. *Microcirculation.* 2014;21(1):15-25.
165. Conti E, Zezza L, Ralli E, Caserta D, Musumeci MB, Moscarini M. Growth factors in preeclampsia: a vascular disease model. A failed vasodilation and angiogenic challenge from pregnancy onwards. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2013;24(5):411-425.
166. Cronqvist T. Syncytiotrophoblast vesicles show altered micro-RNA and haemoglobin content after ex-vivo perfusion of placentas with haemoglobin to mimic preeclampsia. *PLoS One.* 2014;9(2):1-7.
167. Crosley EJ, Durland U, Seethram K, MacRae S, Gruslin A, Christians JK. First-trimester levels of pregnancy-associated plasma protein A2 (PAPP-A2) in the maternal circulation are elevated in pregnancies that subsequently develop preeclampsia. *Reprod Sci.* 2014;21:754–60.
168. Dekel N, Gnainsky Y, Granot I. The role of inflammation for a successful implantation . *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014;72(2):141-147.
169. DerdaKaya M, Baser E, Kaya S, Kemal Takal M, Sahin F, Kuscu E et al. The effect of Silymarin on VEGF, VEGFR-1 and IL- 1 α levels in placental cultures of severe preeclamptic women. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2014;15:30-35.
170. DPSG-NA Gestational diabetes: Treatment controversy rages on. *MD edge, Clin. Endocrinol. New.;* Jan. 30 p. 2020.
171. Draganovic D, Lucic N, Jojic D, Milicevic S. Correlation of oxidative stress markers with ultrasound and cardiotocography parameters with hypertension induced pregnancy. *Acta Informatica Medica.* 2017;25(1):19–23.

172. Egeland GM, Klungsoyr K, Oyen N. Preconception Cardiovascular Risk Factor Differences Between Gestational Hypertension and Preeclampsia. Cohort Norway Study. *Hypertension*. 2016;67:1173-1180.
173. Erlebacher A. Immunology of the maternal-fetal interface. *Annu. Rev. Immunol.* 2013;31:387-411.
174. Eslami S, Sahebkar A. Glutathione-S-transferase M1 and T1 null genotypes are associated with hypertension risk: a systematic review and meta-analysis of 12 studies. *Curr. Hypertens. Rep.* 2014;16(6):432.
175. Etzerodt A, Berg R, Plovsing R, Andersen M, Bebien M, Habbeddine M, Lawrence T. Soluble ectodomain CD163 and extracellular vesicle-associated CD163 are two differently regulated forms of ‘soluble CD163’ in plasma. *Sci Rep.* 2017;7:11.
176. Faas MM, Spaans F, de Vos P. Monocytes and macrophages in pregnancy and pre-eclampsia. *Front. Immunol.* 2014;30(5):298.
177. Feng Y, Yang H. Metformin—a potentially effective drug for gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017;30:1874–1881.
178. Ferguson KK, McElrath TF, Chen YH. Longitudinal profiling of inflammatory cytokines and C-reactive protein during uncomplicated and preterm pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014;72(3):326-336.
179. Gomez-Lopez N, StLouis D, Lehr MA. Immune cells in term and preterm labor. *Cellular and Molecular Immunology.* 2014;11(6):571-581.
180. Gomez-Lopez N, Romero R, Plasyo O, Panaitescu B, Furcron AE, Miller D, Ronmayah T, Flom E, Hassan SS. Intra-amniotic administration of HMGB1 induces spontaneous preterm labor and birth. *Amer J Reprod Immunol.* [internet] 2016;75:(1):3-7. Available from: <https://doi.org/10.1111/aji.12443>
181. Groten T. eNOS I4 and EPHX1 polymorphisms affect maternal susceptibility to preeclampsia: analysis of five polymorphisms predisposing to cardiovascular disease in 279 Caucasian and 241 African women. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2014;289(3):581-593.

182. Haldar M, Murphy KM. Origin, development, and homeostasis of tissue-resident macrophages. *Immunol. Rev.* 2014;262(1):25-35.
183. Halland F, Morken N. Long-term mortality in mothers with perinatal losses and risk modification by surviving children and attained education: a population-based cohort study. *BMJ Open.* 2016;11(6):14-19.
184. Hentschke M R, Ruszkowski R A, da Costa B E, Poli-de-Figueiredo C E. Placental growth factor and severity of preeclampsia: biomarkers, prediction of preeclampsia. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health.* 2016;6(3):156.
185. Hod T, Cerdeira AS, Karumanchi SA. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2015;75:1-8.
186. Hoeksema MA, et al. IFN-gamma Priming of Macrophages Represses a Part of the Inflammatory Program and Attenuates Neutrophil Recruitment. *J Immunol.* 2015;194(8): 3909-3916.
187. Hwang JW, Park SJ, Oh SY, et al. The Risk Factors That Predict Chronic Hypertension After Delivery in Women With a History of Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Medicine (Baltimore).* 2015;94(42): 1747.
188. Italiani P, Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Front. Immunol.* 2014;113-117.
189. Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo. *Angiogenesis.* 2014;17(1):109-118.
190. Kalafat E., Sukur Y.E., Abdi A., Thilaganathan B, Khalil A. Metformin for prevention of hypertensive disorders of pregnancy in women with gestational diabetes or obesity: systematic review and meta-analysis of randomized trials – *Ultrasound ObstetGynecol* 2018;52:706–714
191. Kenny LC, Mccarthy FP. Risk factors and effective management of preeclampsia. *Integr Blood Press Control.* 2015;8(3):7-12.
192. Kim A, Lee ES, Shin JC. Identification of biomarkers for preterm delivery in mid-trimester amniotic fluid. *Placenta.* 2013;34(10):873-878.

193. Kwak-Kim J, Bao S, Lee SK. Immunological modes of pregnancy loss: inflammation, immune effectors, and stress. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014;72(2):129-140.
194. Laine JE, Ray P, Bodnar W, Cable PH, Boggess K, Offenbacher S, et al. Placental cadmium levels are associated with increased preeclampsia risk. *PLoS One.* 2015;10(9):46-51.
195. LaMarca B, Cornelius D, Wallace K. Elucidating immune mechanisms causing hypertension during pregnancy. *Physiology (Bethesda).* 2013;28(4):225-233.
196. Laskowska M, Laskowska K, Oleszczuk J. The relation of maternal serum eNOS, NOSTRIN and ADMA levels with aetiopathogenesis of preeclampsia and/or intrauterine fetal growth restriction. *J Matern Fetal Neonatal.* 2014;28(1):26–32.
197. Lau SY, Guild SJ, Barrett CJ. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and interleukin-10 levels are altered in preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013;70(5):412-427.
198. Li W, Mata KM, Mazzuca MQ, Khalil RA. Altered matrix metalloproteinase-2 and 9 expression/activity links placental ischemia and antiangiogenic sFlt-1 to uteroplacental and vascular remodeling and collagen deposition in hypertensive pregnancy. *Biochem Pharmacol.* 2014;89(3):370-385.
199. Li ZN, Wang LL, Liu H, Muyayalo KP, Huang XB, Liao AN. Galectin-9 alleviates LPS-induced preeclampsia — like impairment in rats via switching decidual macrophage polarization to M2 subtype. *Front Immunol.* 2018;9:3142.
200. Li X. Similarities and differences between the risk factors for gestational hypertension and preeclampsia: A population based cohort study in south China. *Pregnancy Hypertens.* 2016;6(1):66-71.
201. Lisonkova S, Joseph KS. Left Truncation Bias as a Potential Explanation for the Protective Effect of Smoking on Preeclampsia. *Epidemiology.* 2015;26(3):436-440.
202. Lowe SA, Bowyer L, Lust K., McMahon LP SOMANZ guidelines for the management of hypertensive disorders of pregnancy 2014. *Aust N Z J ObstetGynaecol.* 2015;55(5):129.
203. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Canadian Hypertensive*

- Disorders of Pregnancy (HDP) Working Group. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(2):105–45
204. Makarov O, Likhachov V, Taranovska O, Dobrovolska L, Vashchenko V. Role of uterine blood flow disturbances in the development of late gestosis. *Wiadomosci Lekarskie.* 2018; 71(9):1719-1721.
205. Mando C. Placental mitochondrial content and function in intrauterine growth restriction and preeclampsia. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2014;306(4):404-413.
206. Manriquez Rocha B, Mbofana F, Loquiha O. Early diagnosis of preeclampsia using placental growth factor: An operational pilot study in Maputo, Mozambique. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health.* 2018;11:26–31.
207. Martin E, Ray PD, Smeester L, Grace MR, Boggess K, Fry RC. Epigenetics and preeclampsia: defining functional epimutations in the preeclamptic placenta related to the TGF-beta pathway. *PLoS One.* 2015;10(10):112-119.
208. Matsubara K. Nitric oxide and reactive oxygen species in the pathogenesis of preeclampsia. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. 16 (3):4600-4614.
209. Mills CD, Ley K. M1 and M2 macrophages: the chicken and the egg of immunity. *J. Innate Immun.* 2014;6:716-726.
210. Mistry HD. Association between maternal micronutrient status, oxidative stress, and common genetic variants in antioxidant enzymes at 15 weeks gestation in nulliparous women who subsequently develop preeclampsia. *Free Radic. Biol. Med.* 2015;78(1):147-155.
211. Mizuno S. The Pre-Eclampsia Ontology: A Disease Ontology Representing the Domain Knowledge Specific to Pre-Eclampsia. *PLoS One.* 2016;11(10):28-34
212. Mudjari NS, Samsu N. Management of hypertension in pregnancy. *Acta Med Indones.* 2015;47(1):78-86.
213. Munro SK, Mitchell MD, Ponnampalam AP. Histone deacetylase inhibition by trichostatin A mitigates LPS induced TNF α and IL-10 production in human placental explants. *Placenta.* 2013;34(7):567-573.

214. Murray PJ. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines. *Immunity*. 2014;41:14-20.
215. Nelson DB. Placental pathology suggesting that preeclampsia is more than one disease. *J. Obstet. Gynecol.* 2014;210(1):66-67.
216. Nikuei P, Malekzadeh K, Rajaei, Nejatizadeh A, Ghasemi N. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia. *Iran J Reprod Med.* 2015;13(5):251-62.
217. Ozarowski M, Mikolajczak P, Kujawski R, Wielgus K, Klejewski A, Wolski H, et al. Pharmacological effect of quercetin in hypertension and its potential application in pregnancy-induced hypertension: review of in vitro, in vivo, and clinical studies evid based complement. *Alternat Med.* 2018;19.
218. Ozcan J, Balson IF, Dennis AT. New diagnosis myasthenia gravis and preeclampsia in late pregnancy. *BMJ Case Rep.* 2015;26 p.
219. Panova IA, Malyskina AI, Khlipunova DA, Rokotyanskaya EA, Sytova LA, Kudryashova AV. Immunological criteria for differential diagnosis of hypertension in pregnant women. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2015;7(3):103–108.
220. Papamitsou T, Toskas A, Papadopoulou K. Immunohistochemical study of immunological markers: HLAG, CD16, CD25, CD56 and CD68 in placenta tissues in recurrent pregnancy loss. *Histol. Histopathol.* 2014;29(8):1047-1055.
221. Pare E, Parry S, McElrath T. Clinical Risk Factors for Preeclampsia in the 21st Century. *Obstet. Gynec.* 2014;124(4):763-770.
222. Perez-Calatayud AA, Briones-Garduno JC, Alvarez-Goris Mdel P, Sanchez Zamora R, Torres Aguilar AA, Mendoza-Mórales RE. Atypical uremic hemolytic syndrome in pregnancy. *Cir.* 2016;84(4):344-349.
223. Perfilova VN, Mikhailova LM, Tyurenkov IN. Role of endothelial biologically active substances in the prediction of preeclampsia and in the evaluation of its severity. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2013;11:24–29.
224. Pimentel AM, Pereira NR, Costa CA, Mann GE, Cordeiro VS, de Moura RS, et al. L-arginine-nitric oxide pathway and oxidative stress in plasma and platelets of patients with preeclampsia. *Hypertens Res.* 2013;36(9):783–788.

225. Possomato-Vieira JS, Khalil RA. Mechanisms of endothelial dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia. *Advances in pharmacology*. 2016;77:361–431.
226. Racicot K, Kwon JY, Aldo P. Understanding the complexity of the immune system during pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2014;72(2):107-116.
227. Raghuraman N. Adverse maternal and fetal outcomes and deaths related to preeclampsia and eclampsia in Haiti. *Pregnancy Hypertens.* 2014;4(4):279-286.
228. Rahayu B, Baktiyani SCW, Nurdiana N. Theobroma cacao increases cells viability and reduces IL-6 and sVCAM-1 level in endothelial cells induced by plasma from preeclamptic patients. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health.* 2016;6(1):42–46.
229. Randolph GJ. A macrophage revolution-and beyond. *Immunol. Rev.* 2014;262(1):5-8.
230. Redman CWG. The six stages of pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health.* 2014;4(3):246.
231. Rehfeldt M, Eklund E, Struck J, et al. Relaxin-2 connecting peptide (pro-RLX2) levels in second trimester serum samples to predict preeclampsia. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health.* 2018;11:124–128.
232. Robbins PD, Dorronsoro A, Booker CN. Regulation of chronic inflammatory and immune processes by extracellular vesicles. *J. Hum. Hypertens.* 2014;28(2):133-139.
233. Roberge S, Nicolaides K, Demers S, Hyett J, Chaillet N, Bujold E. The role of aspirin dose on the prevention of preeclampsia and fetal growth restriction: systematic review and meta - analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;216:110–120.
234. Rochazka M, Procházková J, Lubušký M, Pilka R, Úlehlová J, Michalec I, et al. Markers of endothelial activation in preeclampsia. *Clin Lab.* 2015;61(1–2):39–46.
235. Rokotyanskaya EA, Malyshkina AI, Nazarov SB, Smirnova EV, Sytova LA, Panova IA. Markers of endothelial dysfunction as criteria for differential diagnosis of hypertensive disorders in pregnant women. *Sovremennye tehnologii v medicine.* 2016;8(3):75–81.

236. Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O’Gorman N, Syngelaki A, de Paco Matallana C et al. Aspirin versus placebo in pregnancies at high risk for preterm preeclampsia. *N Engl J Med* 2017;377:613–622.
237. Rolnik DL, Wright D, Poon LCY, Syngelaki A, O’Gorman N, de Paco Matallana C, et al. ASPRE trial: performance of screening for preterm pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50:492–495.
238. Romero R, Erez O, Huttemann M, Maymon E, Panaitescu B, Conde-Agudelo A, et al. Metformin, the aspirin of the 21st century: its role in gestational diabetes mellitus, prevention of preeclampsia and cancer and the promotion of longevity. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217:282–302.
239. Salimi S. The early-onset preeclampsia is associated with MTHFR and FVL polymorphisms. *Arch. Gynecol. Obstet.* 2014;291(6): 1303-1312.
240. Sánchez-Aranguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol.* 2014;10(5):372.
241. Sandoval-Carrillo A. Polymorphisms in the GSTT1 and GSTM1 genes are associated with increased risk of preeclampsia in the Mexican mestizo population. *Genet. Mol. Res.* 2014;13(1):2160-2165.
242. Schürger N, Klein E, Hapfelmeier A, Kiechle M, Paepke D. Demand for integrative medicine among women in pregnancy and childbed: a German survey on patients’ needs. *BMC Complementary and Alternative Medicine.* 2018;18(1):187.
243. Seremak-Mrozikiewicz A. The importance of MTHFR, MTR, MTRR and CSE expression levels in Caucasian women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2015;188:113-117.
244. Shi DD, Guo JJ, Zhou L, Wang N. Epigallocatechin gallate enhances treatment efficacy of oral nifedipine against pregnancy-induced severe pre-eclampsia: A double-blind, randomized and placebo-controlled clinical study. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics.* 2018;43(1):21–25.
245. Siwetz M, Blaschitz A, El-Heliebi A. TNF- α alters the inflammatory secretion profile of human first trimester placenta. *Lab. Invest.* 2016;96(4): 428-438.

246. Sones JL, Lob HE, Isroff CE. Role of decidual natural killer cells, interleukin-15, and interferon- γ in placental development and preeclampsia. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2014;307(5):490-492.
247. Stepan H, Kusef S, Klockenbusch W, Rath W. Diagnosis and Treatment of Hypertensive Pregnancy Disorders. Guideline of DGGG. *GeburtshilfeFrauenheilkd.* 2015;75(9):900–914.
248. Svensson-Arvelund J, Ernerudh J. The role of macrophages in promoting and maintaining homeostasis at the fetal-maternal interface. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2015;74(2): 100-109.
249. Sykes L, Macintyre DA, Teoh TG, Bennet PR. Anti-inflammatory prostaglandins for the prevention of preterm labor. *Reprod.* [internet] 2014;148(2):29-40. Available from: <https://doi.org/10.1530/rep-13-0587>
250. Sykes SD, Pringle KG, Zhou A, Dekker GA, Roberts CT, Lumbers ER. Fetal sex and the circulating renin-angiotensin system during early gestation in women who later develop preeclampsia or gestational hypertension. *Journal of Human Hypertension.* 2014;28: 133–139.
251. Syngelaki A, Nicolaides KH, Balani J, Hyer S, Akolekar R, Kotecha R, et al. Metformin versus placebo in obese pregnant women without diabetes mellitus. *NEnglJ Med.* 2016;374:434–443.
252. Szpera-Gozdziewicz A, Breborowicz GH. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front. Biosci.* 2014;19: 734-746.
253. Tamblyn JA, Hewison M, Wagner CL, Bulmer JN and Kilby MD. Immunological role of vitamin D at the maternal–fetal interface *Journal of Endocrinology.* 2015;224:107–121
254. Tang MX, Hu XH, Liu ZZ. What are the roles of macrophages and monocytes in human pregnancy *J. Reprod. Immunol.* 2015;112:73-80.
255. Tang Z, Buhimschi IA, Buhimschi CS, Tadesse S, Norwitz E, Niven-Fairchild T, et al. Decreased level of folate receptor- β and reduced numbers of fetal macrophages (Hofbauer cells) in placentas from pregnancies with severe pre-eclampsia. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2013;70(2): 104-115.

256. Tang Z, Niven-Fairchild T, Tadesse S. Glucocorticoids enhance CD163 expression in placental Hofbauer cells. *Endocrinology*. 2013;154(1):471-482.
257. Taranovska O, Likhachov V, Dobrovolska L, Makarov O, Shymanska Y. Possibility for non-invasive diagnosis of chronic endometritis in women at risk during pregravid preparation. *Wiadomosci Lekarskie*. 2019;72(1):64-67.
258. Topping V, Romero R, Than NG. Interleukin-33 in the human placenta. *J.Matern. Fetal Neonatal Med*. 2013;26(4):327-338.
259. Tortladze M. Blood antioxidant enzyme activity during physiological and preeclampsia syndrome complicated pregnancy .*Georg. Med News*. 2013;215:12-16.
260. Townsend R, O'Brien P, Khalil A. Current best practice in the management of hypertensive disorders in pregnancy. *Integrated Blood Pressure Control*. 2016;9:79–94.
261. Trends in maternal mortality: 1990 to 2015: estimates by WHO, UNICEF, UNFPA, World Bank Group and the United Nations Population Division. Geneva: World Health Organization; 2015.
262. Van den Bossche J, Baardman J, de Winther M. Metabolic characterization of polarized M1 and M2 bone marrow-derived macrophages using real-time extracellular flux analysis department of medical biochemistry, experimental vascular biology. Amsterdam: Academic medical center; 2015.24 p.
263. Van den Bossche J. Pivotal Advance: Arginase-1-independent polyamine production stimulates the expression of IL-4-induced alternatively activated macrophage markers while inhibiting LPS-induced expression of inflammatory genes. *Journal of leukocyte biology*. 2012;91:685-699.
264. Van Oostwaard MF, van Eerden L, de Laat MW. Maternal and neonatal outcomes in women with severe early onset pre-eclampsia before 26 weeks of gestation, a case series. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2017;124(9):1440-1447.
265. Vieira MC, Poston L, Fyfe E, Gillett A, Kenny LC, Roberts CT, et al. Clinical and biochemical factors associated with preeclampsia in women with obesity. *Obesity (Silver Spring)*. 2017;25(2):460-467.

266. Wang XM, Wu HY, Qiu XJ. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism and risk of preeclampsia: An updated meta-analysis based on 51 studies .Arch. Med. Res. 2013;44(3):159-168.
267. Wasnik S, Rundle CH, Baylink DJ, SafaieYazdiM,Carreon EE, Xu Y et al. 25-Dihydroxyvitamin D suppresses M1 macrophages and promotes M2 differentiation at bone injury sites. JCI Insight. 2018;17(3):11.
268. Werner EF,Hauspurg AK,Rouse DJ. A cost-benefit analysis of low-dose aspirin prophylaxis for the prevention of preeclampsia in the United States. Obstet Gynecol. 2015;126:1242–1250.
269. Wu X. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. J. Assist. Reprod. Genet. 2015;32(5):797-805.
270. Young OM, Tang Z, Niven-Fairchild T. Toll-like receptor-mediated responses by placental Hofbauer cells (HBCs): a potential pro-inflammatory role for fetal M2 macrophages. Am. J. Reprod. Immunol. 2015;73(1):22-35.
271. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC , Sennstrom M et al. Predictive value of the sFlt-1: PlGFratio in women with suspected preeclampsia. N Engl J Med. 2016;374:13–22.
272. Zenclussen AC. Adaptive immune responses during pregnancy. Am. J. Reprod. Immunol. 2013;69(4):291-303.
273. Ziganshina MM. Time course of the cytokine profiles during the early period of normalpregnancy and in patients with a history of habitual. Bull. Exp. Biol. Med. 2013;154(3):385–387.
274. Zhang Y, Fei M, Xue G. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in preeclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease. J Cell Mol Med. 2012;16: 249–259.