

На правах рукописи

Даценко Наталья Сергеевна

**РОЛЬ АДИПОКИНОВ В ПРОГНОЗИРОВАНИИ
РАЗВИТИЯ ПЛАЦЕНТАРНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ
У ЖЕНЩИН С ОЖИРЕНИЕМ**

3.1.4. Акушерство и гинекология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Якимова Анна Валентиновна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент

Савельева Ирина Вячеславовна

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1)

доктор медицинских наук, профессор

Полякова Валентина Анатольевна

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «_____» _____ 2022 г. в «_____» часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.06 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35); <http://ngmu.ru/dissertation/521>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

К. Ю. Макаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Увеличение количества женщин репродуктивного возраста, страдающих ожирением, стало представлять собой глобальную медицинскую и социальную проблему (Аганезова Н. В., Аганезов С. С., 2016; Дедов И. И. и др., 2021). Ожирение во время беременности связано с рядом серьезных неблагоприятных исходов для матери и плода, включая гестационный сахарный диабет, преэклампсию и задержку роста плода (Сухих Г. Т. и др., 2013; Хромылев А. В., Макацария А. Д., 2017; Радзинский В. Е. и др., 2018; Ходжаева З. С. и др., 2018; Myatt L., Maloyan A., 2016; Wallace J. G. et al., 2019; Bosco A. et al., 2022).

Адипокины – группа сигнальных молекул, продуцируемых клетками жировой ткани, а также плацентой, которые с положительным эффектом принимают участие в метаболических процессах и в организации плацентарного барьера (Долгушина Н. В. и др., 2017; Andersson-Hall U. et al., 2020).

Плаценты рожениц с ожирением характеризуются изменением ряда функций из-за проявлений воспаления и окислительного стресса (Чабанова Н. Б. и др., 2017; Santos-Rosendo C. et al., 2020). В плаценте и других органах фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) регулирует нормальный ангиогенез (Щеголев А. И. и др., 2021). По данным сравнительного иммуногистохимического (ИГХ) изучения плаценты беременных с гестационным и сахарным диабетом 1-го типа, установлено повышение уровня экспрессии VEGF и его рецепторов в терминальных и стволовых ворсинах плаценты, выраженное в большей степени при сахарном диабете 1-го типа (Щеголев А. И. и др., 2013). При развитии и нарастании тяжести преэклампсии методом ИФА были выявлены гестационный эндотелиоз и статистически значимое снижение VEGF в сыворотке крови пациенток (Сидорова И. С., Никитина Н. А., 2015). В целом, соматические заболевания матери могут приводить к гестационным осложнениям и во многих случаях являются факторами риска развития плацентарной недостаточности.

Степень разработанности темы исследования. Материнский адипонектин может быть важным предиктором роста и массы тела плода при рождении независимо от ИМТ и резистентности к инсулину (Lekva T. et al., 2017). У рожениц с ожирением в терминальных ворсинах плаценты снижено содержание лептина и адипонектина, необходимых для ее нормального функционирования (Nogues P. et al., 2019).

При сравнении результатов обследования беременных женщин с гестационным диабетом и контрольной группы, не было выявлено статистически значимых различий по содержанию в крови оментина-1; но были установлены значительно более низкие уровни

оментина-1 у детей от матерей с гестационным диабетом, что увеличивало риск развития инсулинорезистентности в более позднем возрасте (Bellos I. et al., 2019).

В целом, относительно роли адипокинов в развитии беременности у женщин с ожирением имеются противоречивые и неоднозначные результаты, что приводит к необходимости проведения дальнейших исследований (Веджижева Э. Р. и др., 2017; Сухих Г. Т., Ход М., 2017; Langley-Evans S. C., 2022).

Цель исследования. Изучить прогностическую роль адипокинов сыворотки крови в I триместре беременности в развитии плацентарной недостаточности у женщин с высоким индексом массы тела (ИМТ) без гестационного сахарного диабета.

Задачи исследования

1. Сравнить сывороточные показатели оментина-1 и адипонектина у беременных женщин с различной степенью ожирения и с нормальным индексом массы тела в I триместре беременности.

2. Провести корреляционный анализ между показателями оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови у женщин с ожирением в I триместре беременности со структурными изменениями плаценты и экспрессией VEGF-A плацентой в III триместре беременности.

3. Определить пороговые значения содержания в сыворотке крови оментина-1 и адипонектина в I триместре беременности, при которых развиваются структурные изменения плаценты и плацентарная недостаточность в III триместре беременности.

4. Разработать математическую модель прогнозирования развития плацентарной недостаточности у беременных женщин с разной степенью ожирения без сахарного диабета в зависимости от содержания оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови в I триместре беременности.

Научная новизна исследования. Установлено снижение содержания оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови у беременных женщин со II и III степенью ожирения в I триместре беременности по сравнению с показателями данных адипокинов у беременных женщин с I степенью ожирения или нормальным ИМТ. Установлены пороговые значения оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови беременных женщин, страдающих ожирением, которые являются предикторами развития плацентарной недостаточности.

Ожирение матери сопровождается снижением содержания адипонектина и оментина-1 в I триместре беременности, а также структурными изменениями и редукцией экспрессии VEGF-A в плаценте. Высокий индекс массы тела, начиная со II степени ожирения, необходимо рассматривать как фактор риска развития плацентарной недостаточности.

На основании методов математического моделирования создана программа ЭВМ для определения риска развития плацентарной недостаточности у женщин с избыточной массой тела в зависимости от показателей значений оментина-1, адипонектина в I триместре беременности.

Теоретическая и практическая значимость работы. Ожирение II и III степени сопровождается статистически значимым снижением содержания адипонектина и оментина-1 в сыворотке крови у женщин в I триместре беременности и редукцией экспрессии VEGF-A в образцах плаценты в III триместре беременности, что имеет значение для изучения патогенеза плацентарной недостаточности и улучшения ее диагностики. Доказана прогностическая роль адипокинов сыворотки крови в I триместре в развитии плацентарной недостаточности у женщин с высоким индексом массы тела без гестационного сахарного диабета. Математическая модель прогнозирования развития плацентарной недостаточности у беременных женщин в зависимости от показателей значений оментина-1 и адипонектина в I триместре беременности позволит оптимизировать тактику ведения беременных женщин с ожирением.

Методология и методы исследования. В работе применена общенаучная методология, базирующаяся на совокупном подходе с использованием формально-логических, общенаучных и специальных методов. Объект исследования – беременные женщины с ожирением различной степени без гестационного сахарного диабета. Предмет исследования – содержание адипокинов в сыворотке крови в I триместре беременности; экспрессия VEGF-A в образцах плаценты в III триместре.

Положения, выносимые на защиту

1. У беременных женщин с ожирением II и III степени без гестационного сахарного диабета в I триместре содержание в сыворотке крови двух адипокинов – адипонектина и оментина-1 – статистически значимо снижено по сравнению с показателями беременных женщин с нормальным ИМТ и I степенью ожирения.

2. Высокий ИМТ, начиная со II степени ожирения, может рассматриваться как фактор риска развития структурных изменений плаценты, соответствующих плацентарной недостаточности.

3. Снижение содержания оментина-1 (менее 191,2 мкг/мл) и адипонектина (менее 22,5 мкг/мл) в сыворотке крови у беременных женщин в I триместре сопровождается развитием структурных изменений плаценты с редукцией экспрессии VEGF-A в плаценте и возникновением плацентарной недостаточности в III триместре беременности.

Степень достоверности и обоснованности результатов. Все использованные методические приемы (клинический анализ течения беременности, родов и послеродового

периода у матерей и новорожденных, иммуноферментный анализ сыворотки крови, гистологическое и иммуногистохимическое исследование образцов плацент, морфометрический анализ) и способы статистической обработки соответствуют поставленным цели и задачам и позволяют получить достоверные результаты. Диссертация выполнена на достаточном клиническом материале (170 пациенток с ожирением и 55 женщин контрольной группы). Сформулированные научные положения, выводы и практические рекомендации основаны на результатах собственных исследований, проанализированы с помощью адекватной статистической обработки и соответствуют поставленным цели и задачам диссертации.

Апробация результатов диссертации. Основные положения научного исследования были доложены на 14-й Международной научно-практической конференции памяти академика Ю. И. Бородина «Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям» (Новосибирск, 2021), на 4-й Российской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием «Сахарный диабет: от мониторинга к управлению» (Новосибирск, 2021), на 5-м Международном конгрессе «Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине» (Новосибирск, 2021).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Охрана здоровья женщины» Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2022).

Диссертация выполнена в соответствии с утвержденным направлением научно-исследовательской работы Новосибирского государственного медицинского университета по теме «Молекулярно-биологические маркеры прогрессирования атрофических и пролиферативных процессов в органах женской репродуктивной сферы, подходы к диагностике, лечению и реабилитации», номер государственной регистрации 121061700026-4.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты исследования внедрены в клиническую практику акушерской службы Новосибирского городского клинического перинатального центра. Результаты исследования используются в учебном процессе на кафедре акушерства и гинекологии Новосибирского государственного медицинского университета.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 научных работ, в том числе 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ и 4 статьи в научных журналах и изданиях, включённых в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 1 статья в журнале,

входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 171 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы с изложением материала и методов исследования, главы с результатами собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложения. Список литературы представлен 294 источниками, из которых 190 в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 28 таблиц и 36 рисунков.

Личное участие автора. Автор участвовал в выборе темы исследования, разработке цели и задач, в обследовании и родоразрешении пациенток, заборе и подготовке к исследованию биологического материала. Иммуноферментный анализ (ИФА) образцов сыворотки крови выполнен совместно с сотрудниками лаборатории иммунологии (зав. лаб. д-р мед. наук О. О. Обухова) Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины» (Новосибирск). Автором самостоятельно произведена обработка полученных результатов, обобщение и статистический анализ полученных данных. Полученные данные были использованы для разработки математической модели прогнозирования развития плацентарной недостаточности у беременных женщин с ожирением в зависимости от уровней оментина-1 и адипонектина в I триместре беременности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общая характеристика пациенток и деление на группы. Проведено наблюдательное описательное одномоментное исследование 225 беременных женщин, родивших живых доношенных детей без асфиксии, с оценкой по шкале Апгар 7-8 баллов, в том числе 170 женщин с ожирением (с ИМТ до беременности более 30 кг/м^2), разделенных на 3 группы по показателям ИМТ. Исследование проводили в период с 2018 по 2020 год на кафедре акушерства и гинекологии Новосибирского государственного медицинского университета (зав. кафедрой д-р мед. наук, проф. И. О. Маринкин) и ее клинической базе – в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре (главный врач д-р мед. наук, проф. И. М. Поздняков).

Критерии включения в исследование: постановка беременной на учет в женской консультации до 9 недель беременности; спонтанное наступление беременности; возраст женщины от 18 до 39 лет; величина ИМТ более 30 кг/м^2 (основные группы), определенная на сроке беременности до 9 недель; величина ИМТ от 18 до 24 кг/м^2 (группа сравнения), определенная на сроке беременности до 9 недель; информированное согласие на участие

в исследовании. Критерии исключения из исследования: беременность в результате ВРТ; наличие любой тяжелой соматической патологии, кроме ожирения (артериальная гипертензия, сахарный диабет и другая эндокринная патология); тяжелая преэклампсия. Сформированы репрезентативные по возрасту 3 группы беременных женщин с ожирением: 1-я – 105 беременных с ожирением I степени (ИМТ более 30 кг/м²); 2-я – 34 женщины с ожирением II степени (ИМТ более 35 кг/м²); 3-я – 31 женщина с ожирением III степени (ИМТ более 40 кг/м²).

Пациентки подписывали информированное согласие на участие в исследовании в соответствии с законодательством РФ и этическими принципами проведения медицинских исследований, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации с изменениями, принятыми на 59-й Генеральной ассамблее WMA (Сеул, Южная Корея, 2008). Исследование одобрено комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета.

Методы клинического обследования. Проведен анализ акушерского и гинекологического анамнеза, а также сопутствующей соматической патологии, в т. ч. ожирения. Проанализировано течение настоящей беременности, течение родов, осложнения родов, состояние новорожденного на 1-й и 5-й минутах жизни по шкале Апгар. Ультразвуковое исследование выполняли с применением методик ультразвуковой доплерографии с помощью аппарата «General Electric Voluson E8»; кардиотокографию плода – на аппарате «Dixion Overtone 6 900».

Лабораторные методы обследования. Для исследования содержания адипокинов (оментина-1 и адипонектина) в сроке беременности 8–9 нед. из локтевой вены натощак забирали 10 мл крови в сухую пробирку и центрифугировали при 1 500 rpm в течение 10 мин. Супернатант замораживали при –70 °С в пластиковых пробирках. Исследования выполняли с помощью коммерческих тест-систем «The Ray Bio Omentin Enzyme Immunoassay EIA» и «Human Adiponectin ELISA» по инструкциям производителей. Результаты ИФА регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» при длине волны 450 нм. Для определения концентрации каждого из адипокинов в анализируемых образцах строили калибровочные графики по «средним» показателям оптической плотности стандартных растворов.

Исследование плацент. Проводили органомерию, макро- и микроскопическое исследование с оценкой соответствия структурных компонентов плаценты сроку гестации; акцентировали внимание на морфометрических маркерах плацентарной недостаточности, а также на степени их выраженности.

Иммуногистохимическое исследование. Изучали экспрессию VEGF

на парафиновых срезах образцов в плаценте у 6 женщин из каждой группы с помощью кроличьих моноклональных антител. Использовали набор «UltraVision Quanto Detection System HRP» (ThermoScientific) с диаминобензидином (DAB); ядра клеток докрасивали гематоксилином. Продукты ИГХ-реакции изучали в 15 полях зрения (90 на группу) с помощью микроскопа Axio Scope.A1 с фотокамерой AxioCam MRc5 и программой анализа изображения Zen blue (C. Zeiss) при увеличении 400, отдельно акцентируя внимание на суммарной экспрессии (VEGF_{СУММ}), в синцитиотрофобласте (VEGF_{СТБ}) и капиллярах плода (VEGF_{КАП ПЛОДА}), которые выражали в мкм².

Статистический анализ проведен в соответствии с рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных исследования проводилось при помощи критерия χ^2 Пирсона, позволяющего оценить значимость различий между фактическим количеством исходов или качественных характеристик выборки, попадающих в каждую категорию, и теоретическим количеством, которое можно ожидать в изучаемых группах при справедливости нулевой гипотезы.

Оценка нормальности распределения количественных признаков, учитывая численность двух из четырех исследуемых групп, в каждой из которых менее 50 человек, проводилась с помощью критерия Шапиро – Уилка. Учитывая распределение признаков, отличное от нормального во всех исследуемых группах, полученные данные представлены в виде медианы, первого и третьего квартилей: Me (Q1; Q3). Ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису (H) применялся для сравнения четырех независимых групп по одному количественному признаку. При наличии статистически значимых различий, проводилось попарное сравнение с помощью критерия Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.

Для определения корреляционных связей между исследуемыми параметрами использовали коэффициент Спирмена. Силу связи между исследуемыми параметрами определяли по шкале Чеддока. Прогностические модели построены путем бинарной логистической регрессии. Для определения прогностической ценности значимых параметров и разработанных модели использовали ROC-анализ. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,00125$. Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью пакета программ «IBM SPSS Statistics Version 25.0» (International Business Machines Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ клинических проявлений плацентарной недостаточности. Признаки ПН были выявлены у 68,2 % (116/170) беременных женщин с ожирением. Из них у 44,7 % (76/170) беременных выявлены клинические проявления

хронической компенсированной ПН: раннее созревание плаценты, снижение индекса амниотической жидкости без задержки роста плода по данным УЗ-исследования и нарушение маточно-плацентарного кровотока по данным доплерометрии. У 19,4 % (33/170) беременных имели место признаки хронической субкомпенсированной ПН: ЗРП I – II степеней, нарушение плодово-плацентарного кровотока IБ или II степени по данным доплерометрии, начальные признаки дистресса плода по данным КТГ в сочетании с мекониальным характером околоплодных вод. У остальных 4,1 % (7/170) женщин развилась декомпенсированная ПН с нарушением плодово-плацентарного кровотока III степени и ЗРП III степени. В группе контроля в 16,4 % (9/55) случаев выявлена компенсированная ПН и в 5,4 % случаев (3/55) – субкомпенсированная.

Признаки хронической компенсированной ПН при попарном сравнении с контрольной группой, встречались чаще у женщин с ожирением: в 1-й группе в 2,4 раза ($p < 0,001$), во 2-й и 3-й группах – в 3,3 раза ($p < 0,001$). Признаки субкомпенсированной ПН у женщин с ожирением встречались в 3,6 раза чаще ($p < 0,001$) в сравнении с пациентками с нормальным ИМТ. Важно отметить, что хроническая декомпенсированная ПН встречалась чаще ($p < 0,001$) во 2-й и 3-й группах с высоким ИМТ по сравнению с 1-й группой (с I степенью ожирения).

По характеру течения родового акта женщины с ожирением суммарно всех групп характеризовались статистически значимым снижением показателей физиологически протекающих родов; при попарном сравнении наименьшее количество самопроизвольных родов отмечено в 3-й группе ($p < 0,01$) по сравнению с контрольной.

Характеристика новорожденных. Статистически значимых различий по росту и весу новорожденных выявлено не было, однако наибольший разброс по массе плода зафиксирован в 3-й группе с максимально высоким ИМТ (от 4 600 до 1 200 г); при этом в группе контроля разброс по массе плода был минимальным (от 4 200 до 2 800 г) (Рисунок 1).

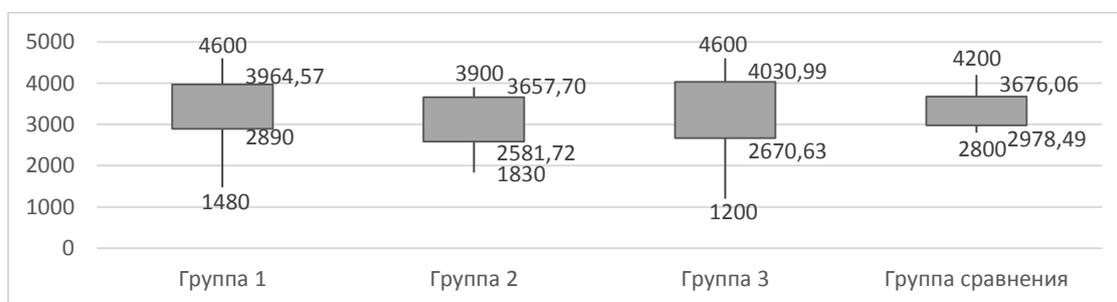


Рисунок 1 – Сравнительная характеристика массы тела новорожденных

Исследование содержания адипокинов в сыворотке крови. В сроке беременности 8–9 нед. содержание адипонектина в сыворотке крови женщин контрольной группы составило 41,17 (20,86) мкг/мл, что статистически значимо превышало показатели каждой из групп женщин с ожирением: 1-й группы (26,66 (13,90) мкг/мл, $p = 0,0029$), 2-й – (26,93 (16,55) мкг/мл, $p = 0,0031$) и 3-й – (17,41 (9,82) мкг/мл, ($p < 0,0001$)). При попарном сравнении показатели 1-й группы превышали показатели 3-й ($p = 0,0202$) и показатели 2-й группы превышали показатели 3-й ($p = 0,0325$), однако 1-я и 2-я группы практически не различались между собой ($p = 0,9526$) (Рисунок 2).

С целью выявления закономерности между содержанием адипонектина в крови и ИМТ был проведен корреляционный анализ. Статистически значимые результаты получены только у женщин 2-й и 3-й групп – с ожирением II и III степени (Рисунок 3): с нарастанием ИМТ содержание адипонектина снижалось. Коэффициент корреляции Спирмена $r_s = -0,46$, $p = 0,003$, ДИ от $-0,678$ до $-0,171$.

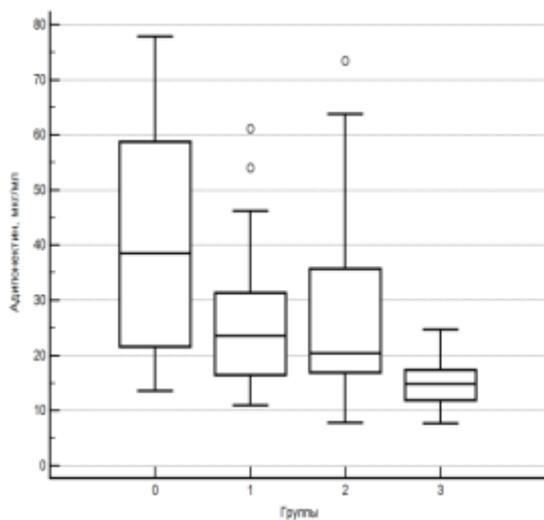


Рисунок 2 – Содержание адипонектина в крови (на сроке 8–9 нед.).
0 – контрольная группа; 1, 2 и 3 подгруппа – женщины с ожирением I, II и III степени соответственно. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3).

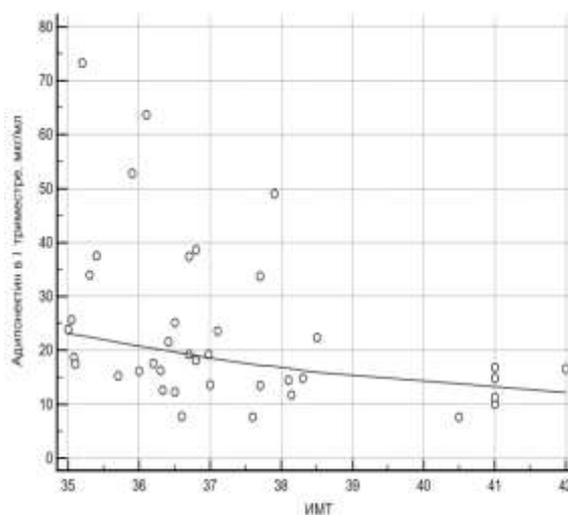


Рисунок 3 – Корреляционный анализ между содержанием адипонектина в крови (на сроке 8–9 нед.) и индексом массы тела (ИМТ) у женщин 2-й и 3-й подгруппы – с ожирением II и III степени соответственно. Коэффициент корреляции Спирмена $r_s = -0,46$, $p = 0,0031$, ДИ от $-0,678$ до $-0,171$.

Содержание оментина-1 в крови (на сроке 8–9 нед.) женщин контрольной группы составило 346,49 (78,26) мкг/мл и статистически значимо не отличалось от 1-й группы (308,72 (110,88) мкг/мл, $p = 0,0826$), при этом средние значения и контрольной, и 1-й группы превышали показатели 2-й группы (179,63 (88,25), $p < 0,0001$ при обоих сравнениях) и 3-й группы (191,16 (90,26) мкг/мл, $p < 0,0001$ и $p = 0,0006$ соответственно). При этом содержание

оментина-1 в крови женщин с ожирением II и III степеней практически не отличалось, $p = 0,6717$ (Рисунок 4). Выявлена умеренная отрицательная корреляция между ИМТ женщин всех групп и содержанием оментина-1: $r_s = -0,565$, $p < 0,0001$ (Рисунок 5).

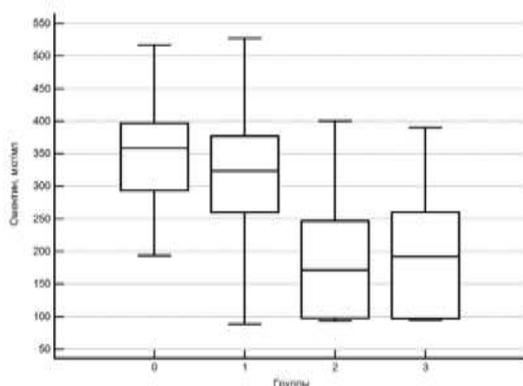


Рисунок 4 – Содержание оментина в крови (на сроке беременности 8–9 нед.).

0 – контрольная группа; 1, 2 и 3 подгруппа – женщины с ожирением I, II и III степени соответственно. Данные представлены в виде Ме (Q1; Q3).

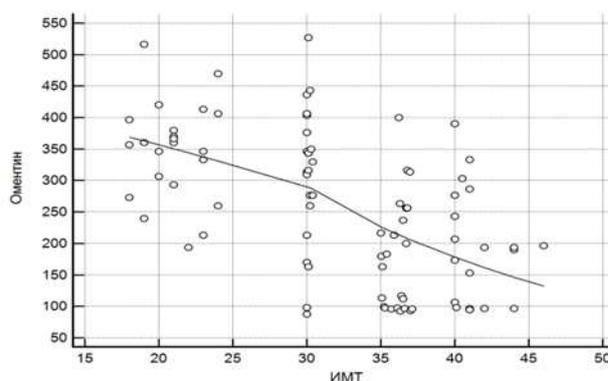


Рисунок 5 – Умеренная отрицательная корреляция между содержанием оментина в крови на 8–9 нед. беременности и ИМТ женщин всех групп (ранговый коэффициент корреляции Спирмена $r_s = -0,565$, $p < 0,0001$).

Исследование образцов плацент. При гистологическом морфометрическом исследовании плацент беременных женщин с ожирением обращало на себя внимание статистически значимое снижение объемной плотности терминальных ворсин с увеличением степени ожирения (в 1-й группе – в 3,7 раза, во 2-й – в 4,8 раза, в 3-й – в 5,0 раз) по сравнению с показателем контрольной группы) (Таблица 1). Одновременно установлено прогрессирующее снижение количества численной плотности капилляров в терминальных ворсинах плацент женщин с ожирением: в 1-й группе – в 2,0 раза, во 2-й – в 2,2 раза, в 3-й группе – в 2,5 раза, – по сравнению с показателем в группе контроля ($p < 0,001$), что свидетельствует о редукции васкулогенеза.

С увеличением степени ожирения постепенно нивелировались проявления адаптационных процессов в плаценте: статистически значимо снизилась объемная плотность хориальных симпластов в 1-й группе – в 1,5 раза, во 2-й группе – в 2,2 раза, в 3-й группе – в 2,4 раза (см. Таблицу 1). При наличии ожирения в третичных ворсинах плаценты также уменьшилась объемная плотность синцитио-капиллярных мембран: в 1-й группе – в 4,0 раза, во 2-й группе – в 4,7 раза, в 3-й группе – в 5,4 раза). Напротив, с увеличением ИМТ объемная плотность склерозированных бессосудистых ворсин в сравнении с показателем в контрольной группе нарастала: в 1-й группе – в 2,5 раза, во 2-й группе – в 3,8 раза, в 3-й группе – в 4,7 раза (см. Таблицу 1).

Таблица 1 – Результаты морфометрического исследования образцов плаценты у беременных женщин с ожирением Me (Q1; Q3)

Морфометрические показатели	Группы женщин с ожирением				Тестовая статистика, df = 3
	контрольная n = 55	1-я группа, n = 105	2-я группа, n = 34	3-я группа, n = 31	
Численная плотность третичных ворсин	7,0 (6,7; 7,0)	6,0 (5,9; 6,3)	5,0 (4,7; 5,1)	5,0 (4,7; 5,0)	H = 121,3, p < 0,001
Объемная плотность терминальных ворсин	69,0 (67,1; 69,6)	14,0 (13,3; 15,0)	14,0 (13,3; 14,4)	18,5 (17,9; 19,3)	H = 286,8, p < 0,001
Объемная плотность симпластических узелков	3,0 (3,0; 3,6)	2,5 (2,5; 2,9)	3,0 (3,0; 3,4)	3,5 (3,4; 3,9)	H = 15,8, p = 0,001
Объемная плотность свободного цитотрофобласта	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 0,2)	0,0 (0,0; 0,4)	H = 21,9, p < 0,001
Объемная плотность бессосудистых ворсин	0,0 (0,0; 1,0)	3,0 (2,4; 3,1)	2,0 (1,5; 2,0)	3,0 (2,9; 3,8)	H = 68,8, P < 0,001
Численная плотность капилляров ворсин	14,0 (13,6; 14,5)	7,0 (6,8; 7,7)	6,0 (6,0; 6,8)	6,0 (6,0; 6,9)	H = 177,0, p < 0,001
Объемная плотность синцитио-капиллярных мембран	12,0 (11,6; 12,6)	3,0 (2,7; 3,2)	3,0 (2,8; 3,1)	3,0 (2,5; 3,0)	H = 246,0, p < 0,001
Объемная плотность центральных капилляров	2,5 (2,3; 2,7)	2,0 (2,0; 2,5)	2,0 (1,6; 2,0)	2,0 (2,0; 2,3)	H = 16,5, p = 0,001
Объемная плотность межворсинчатых пространств	30,0 (29,5; 31,3)	20,0 (20,0; 23,2)	24,0 (23,8; 26,1)	28,0 (27,0; 28,9)	H = 49,2, p < 0,001
Объемная плотность фибриноида	0,0 (0,0; 0,9)	3,0 (2,8; 4,3)	5,0 (4,4; 5,8)	1,5 (1,1; 1,9)	H = 69,4, p < 0,001

Изучение закономерностей изменения содержания адипокинов в сыворотке крови в I триместре беременности и структурных изменений плаценты выявило умеренную корреляцию между объемной плотностью терминальных ворсин и содержанием оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови женщин с высоким ИМТ. В результате анализа обнаружена умеренная обратная корреляционная связь между численной плотностью сосудов в третичных ворсинах и содержанием адипонектина у женщин в I триместре беременности во 2-й и 3-й группах ($r_s = -0,346$, $p = 0,001$). Кроме того, у женщин 3-й группы выявлена умеренная обратная корреляционная связь между численной плотностью сосудов в ворсинах плаценты и содержанием оментина-1 в сыворотке крови в I триместре беременности ($r_s = -0,476$, $p < 0,001$).

Изучение экспрессии VEGF-A в образцах плаценты родильниц. При ИГХ исследовании образцов плацент отмечено варьирование экспрессии VEGF в терминальных и вторичных ворсинах с уменьшением DAB-позитивного окрашивания при прогрессировании ожирения, в т. ч. за счет большей выраженности атрофии и фиброза. Использование автоматического анализа изображения (Рисунок 6) выявило статистически значимое ($p < 0,0001$) уменьшение площади DAB-позитивных зон у женщин с ожирением (508 809 (228 264) $\mu\text{км}^2$ в 1-й группе, 368 556 (225 529) $\mu\text{км}^2$ во 2-й и 349 441 (148 609) $\mu\text{км}^2$ в 3-й группе) по сравнению с контрольной группой (864 662 (230 605) $\mu\text{км}^2$), при этом 2-я и 3-я группы не различались между собой ($p = 0,4572$), имея меньшие показатели по сравнению с 1-й группой ($p < 0,0001$).

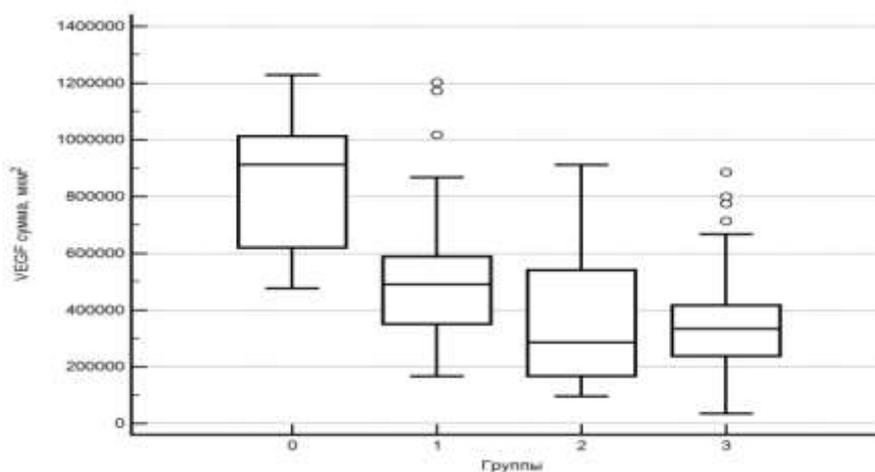


Рисунок 6 – Суммарная экспрессия VEGF-A в терминальных ворсинах плаценты родильниц по данным автоматического анализа изображения: 0 – контрольная группа, 1-я, 2-я и 3-я группы – женщины с ожирением I, II и III степени соответственно. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3).

При выделении зон капилляров плода и автоматической оценке в них площади экспрессии VEGF получены результаты, аналогичные особенностям суммарной экспрессии в 4 группах (Рисунок 7). Так, по сравнению с контрольной группой (311 810 (107 857) мкм²), выявлено статистически значимое ($p < 0,0001$) уменьшение площади DAB-позитивных зон у рожениц с ожирением (114 607 (58 286) мкм² в 1-й группе, 56 906 (41 221) мкм² во 2-й и 51 531 (45 571) мкм² в 3-й группе), при этом 2-я и 3-я группы не имели различий между собой ($p = 0,5049$), но были меньше по сравнению с 1-й группой ($p < 0,0001$).

В результате проведенного исследования также удалось установить умеренную отрицательную корреляцию во 2-й и 3-й группах с ожирением между ИМТ и экспрессией VEGF в капиллярах плода терминальных ворсин плаценты: $r_s = -0,67$, $p < 0,0001$, ДИ от $-0,786$ до $-0,509$ (Рисунок 8).

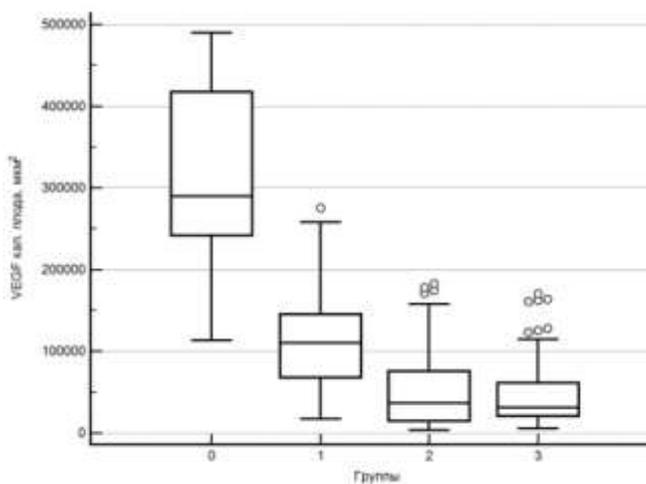


Рисунок 7 – Экспрессия VEGF в плодовых капиллярах терминальных ворсин плаценты рожениц по данным автоматического анализа изображения: 0 – контрольная группа; 1, 2 и 3 подгруппы – женщины с ожирением I, II и III степени соответственно. Данные представлены в виде Me (Q1; Q3).

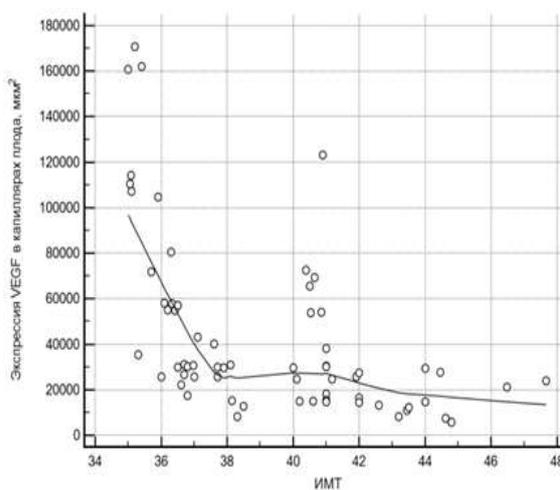


Рисунок 8 – Умеренная отрицательная корреляция ожирения II и III степени (по ИМТ) и экспрессии VEGF в капиллярах плода терминальных ворсин плаценты: ранговый коэффициент корреляции Спирмена $r_s = -0,67$, $p < 0,0001$, ДИ от $-0,786$ до $-0,509$.

Ожирение II и III степени у беременных женщин способствует развитию плацентарной недостаточности, о чем свидетельствуют выявленные нами структурные изменения терминальных ворсин и фиброзные изменения вторичных ворсин по сравнению с контрольной группой и ожирением I степени. Ожирение беременной женщины без коморбидной патологии может быть причиной плацентарной недостаточности, поскольку в

начале беременности ожирение способствует формированию системного воспаления на протяжении всей беременности со снижением общей «антиоксидантной емкости», не сопровождающейся при этом окислительным повреждением плаценты (Santos-Rosendo C. et al., 2020). Высокие адаптационные возможности данного внезародышевого органа продемонстрированы при различных патологических процессах. По-видимому, когда ожирение – единственное заболевание беременной, даже значительное снижение экспрессии VEGF-A в ворсинах плаценты не всегда приводит к плацентарной недостаточности, о чем свидетельствуют наши клинические данные.

Ранее показано, что экспрессия VEGF-A возрастала в плаценте женщин с гестационным диабетом и сахарным диабетом I типа, что расценивалось как компенсаторная реакция в условиях гипоксии (Щеголев А. И. и др., 2013). Фактор роста эндотелия сосудов в норме высоко экспрессирован в плаценте; как и в других тканях, VEGF-A стимулирует рост, выживание и пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов. Механизм действия VEGF-A достаточно хорошо известен: в условиях гипоксии/ишемии ткани повышается продукция транскрипционного фактора HIF, который стимулирует высвобождение VEGF. Циркулирующий VEGF-A затем связывается с рецепторами VEGF на эндотелиальных клетках, активируя тирозинкиназу и молекулярные механизмы ангиогенеза. Наряду с этим, VEGF-A является вазодилататором (опосредованно, через повышение синтеза оксида азота) (Ribatti D., 2005).

Полученный нами результат, синхронное снижение экспрессии VEGF-A при нарастании степени ожирения беременных женщин, возможно, свидетельствует об изменении типа компенсаторно-приспособительных реакций плаценты, подавлении сосудистого типа адаптации (который считается наиболее эффективным) (Якимова А. В. и др., 2014) с заменой его клеточным типом.

Таким образом, у беременных женщин с ожирением без гестационного сахарного диабета выявлено позитивное влияние двух адипокинов сыворотки крови, оцениваемое с помощью ИФА в I триместре беременности: чем выше содержание адипонектина и оментина-1 в I триместре, тем меньше клинически выражена некомпенсированная плацентарная недостаточность и экспрессия VEGF-A в терминальных ворсинах плаценты при срочных родах.

Согласно результатам нашего исследования, снижение содержания некоторых адипокинов в сыворотке крови в I триместре беременности, характерное для беременных женщин со II и III степени ожирения, может служить предиктором снижения экспрессии VEGF-A в III триместре беременности у женщин с ожирением.

Предиктивная ценность адипокинов в прогнозировании развития плацентарной недостаточности. С целью анализа предсказательной ценности отобранных биомаркеров в результате поэтапного отбора переменных в итоговую статистически значимую модель вошли показатели оментина-1, адипонектина и глюкозы в сыворотке крови женщин в I триместре беременности и определены их пороговые значения, при которых с большой вероятностью можно прогнозировать развитие плацентарных нарушений.

Точка отсечения для адипонектина – 22,5 мкг/мл. Чувствительность данного показателя указанной точки отсечения составляет 0,63; специфичность – 0,82; площадь под ROC-кривой составляет 0,738 (95 % ДИ 0,614–0,862); стандартная ошибка – 0,063.

Точка отсечения для оментина – 191,2 мкг/мл. Чувствительность данного показателя оставляет 0,68; специфичность – 0,81; площадь под ROC-кривой составляет 0,803 (95 % ДИ 0,709–0,897); стандартная ошибка – 0,048.

Точка отсечения для глюкозы – 3,65 ммоль/л. Чувствительность указанной точки отсечения составляет 0,80; специфичность – 0,88; площадь под ROC-кривой составляет 0,821 (95 % ДИ 0,741–0,902); стандартная ошибка – 0,041.

Проведена оценка риска развития ПН у женщин с ожирением, исследован вклад независимых факторов – выполнен анализ ROC-кривых для сравнения диагностической ценности изучаемых лабораторных характеристик. Для получения численного значения клинической значимости теста, а также для сравнения тестов использовали показатель площади под ROC-кривой (AUC). При сравнительном анализе информативности показателей наибольшей информативностью обладает оментин-1. При сравнении площадей под ROC-кривыми (Рисунок 9) приходим к выводу, что наиболее информативно использовать оба адипокина с целью прогнозирования ПН.

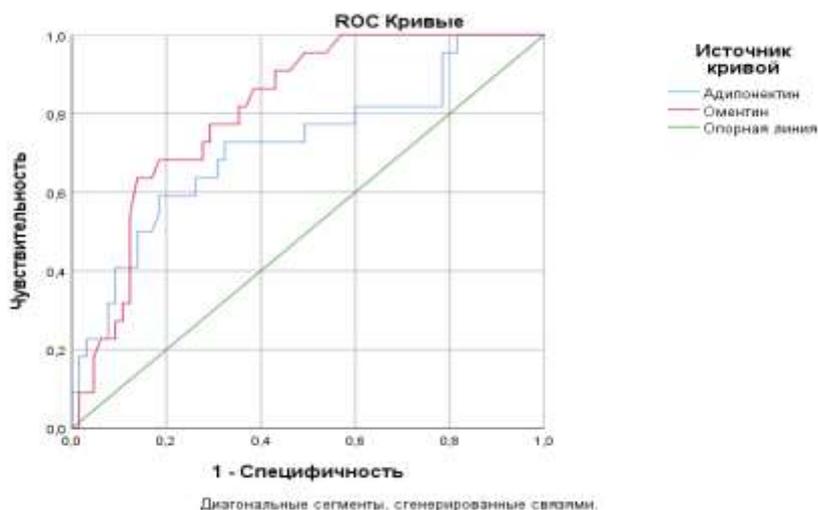


Рисунок 9 – Сравнение показателей под ROC-кривой для оментина и адипонектина

На основе результатов логистической регрессии непрерывных и бинарных признаков была построена прогностическая модель развития ПН у беременных женщин с высоким ИМТ. В I триместре беременности наиболее ценными предикторами развития ПН, подтвержденной гистологически, оказались показатели оментина-1 (мкг/мл), адипонектина (мкг/мл) и глюкозы (ммоль/л) (Таблица 2).

Таблица 2 – Значимость показателей в структуре прогностической модели

Модель	В	Средне-квадратичная ошибка	Вальда	Степень свободы	Значимость	Exp (В)	95 % ДИ для EXP(В)	
							Нижняя	Верхняя
Константа	2,048	2,030	1,018	1	0,313	7,750	—	—
Адипонектин	-0,066	0,025	7,101	1	0,008	0,936	0,892	0,983
Оментин	-0,013	0,004	9,469	1	0,002	0,987	0,979	0,995
Глюкоза	1,151	0,476	5,844	1	0,016	3,160	1,243	8,032

Таким образом, было получено уравнение:

$$H = \frac{1}{1 + e^{2,048 - 1,151 \times \text{Глюкоза} + 0,066 \times \text{Адипонектин} + 0,013 \times \text{Оментин}}}$$

где Н (histological) – коэффициент, отражающий вероятность развития плацентарной недостаточности,

2,048 – константа (регрессионный коэффициент b_0),

1,151 и 0,066 – нестандартизованные коэффициенты b ,

Глюкоза – уровень глюкозы плазмы венозной крови натощак (ммоль/д),

Адипонектин – уровень в сыворотке крови в сроке беременности 8–9 недель гестации (мкг/мл),

Оментин – уровень в сыворотке крови в сроке беременности 8–9 недель гестации (мкг/мл),

e – основание натурального логарифма ($e \sim 2,72$).

При Н более 0,68 прогнозируют развитие плацентарной недостаточности. Значение Н у пациенток без плацентарной недостаточности составляет 0,36 (0,28; 0,41), у пациенток с плацентарной недостаточностью – 0,86 (0,74; 0,84).

Чувствительность прогностической модели составляет 0,78; специфичность – 0,91; площадь под ROC-кривой составляет 0,895 (95 % ДИ 0,813–0,977); стандартная ошибка составляет 0,042. Значение показателя AUC составило 0,895, что свидетельствует о высоком качестве модели (Ланг Т. А., Сессик М., 2011).

Таким образом, нами выявлены дополнительные биомаркеры и их пороговые значения для прогнозирования развития ПН у женщин, страдающих ожирением. Для I триместра такими маркерами являются показатели оментина-1, адипонектина и глюкозы в сыворотке крови. Изучение взаимосвязи и установление наиболее важных факторов, влияющих на развитие ПН у женщин с повышенным ИМТ, дает возможность выделить дополнительные критерии для формирования групп высокого риска по развитию данной патологии и прогнозировать течение беременности. Разработанная нами математическая модель с высокой диагностической чувствительностью, специфичностью и эффективностью позволит успешно использовать ее в клинической практике с целью прогнозирования хронической ПН и улучшения перинатальных исходов у беременных женщин с ожирением без гестационного сахарного диабета.

ВЫВОДЫ

1. У беременных женщин с ожирением II и III степени при сроке гестации 8–9 недель содержание в сыворотке крови оментина-1 ($rs = -0,565$, $p < 0,0001$) и адипонектина ($rs = -0,46$, $p = 0,001$) статистически значимо снижено по сравнению с беременными женщинами с нормальным индексом массы тела.

2. Снижение содержания оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови в I триместре беременности у женщин со II и III степенью ожирения является предиктором структурных изменений ворсин плаценты со снижением экспрессии VEGF-а в III триместре беременности ($rs = -0,67$, $p < 0,0001$, ДИ от $-0,786$ до $-0,509$).

3. Пороговыми значениями адипокинов в сыворотке крови как предикторов плацентарной недостаточности являются: для адипонектина – 22,5 мкг/мл (чувствительность 0,63; специфичность 0,82; 95 % ДИ 0,614–0,862); для оментина-1 – 191,2 мкг/мл (чувствительность 0,68, специфичность 0,81; 95 % ДИ 0,709–0,897).

4. Разработана математическая модель (чувствительность 0,78; специфичность 0,91) и создана программа ЭВМ для определения риска развития плацентарной недостаточности у женщин с избыточной массой тела в зависимости от содержания оментина-1 и адипонектина в сыворотке крови в I триместре беременности.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У беременных женщин с ожирением II и III степени (с индексом массы тела более 35) при сроке гестации 8–9 недель необходимо определять в сыворотке крови

содержание оментина-1 и адипонектина для прогнозирования плацентарной недостаточности. Снижение содержания в сыворотке крови оментина-1 и адипонектина как предикторов плацентарной недостаточности позволяет провести раннее прогнозирование этого осложнения и тем самым улучшить исходы беременности для матери и плода у женщин с ожирением без гестационного сахарного диабета.

2. Для определения индивидуального риска развития плацентарной недостаточности у женщин с ожирением в I триместре беременности следует использовать предложенную прогностическую модель путем внесения результатов обследования (показатели оментина-1 и адипонектина) в программу ЭВМ, совместимую с Android и iOS для расчета риска развития плацентарной недостаточности у беременных женщин с ожирением I–III степени.

3. Женщинам с предполагаемым «высоким» и «средним» риском развития плацентарной недостаточности целесообразно в условиях женской консультации проводить дополнительно фетометрию и доплерометрию в сроке гестации 32–34 недели с целью раннего выявления и своевременной коррекции признаков плацентарной недостаточности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Клинико-морфологические проявления плацентарной недостаточности у женщин с ожирением / **Н. С. Даценко**, Е. В. Никитенко, Т. А. Агеева, А. В. Якимова // **Уральский медицинский журнал**. – 2020. – № 3. – С. 48–51.

2. **Даценко, Н. С.** Оментин как объективный показатель вероятности нарушения углеводного и липидного обмена при ожирении беременных женщин в первом триместре гестации / **Н. С. Даценко**, А. В. Якимова // **Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки**. – 2020. – № 9. – С. 163–166.

3. Раннее прогнозирование развития плацентарной недостаточности у женщин, страдающих ожирением / **Н. С. Даценко**, И. О. Маринкин, Т. М. Соколова [и др.] // **Архив акушерства и гинекологии В. Ф. Снегирева**. – 2021. – Т. 8, № 1. – С. 40–47.

4. Особенности формирования плацентарной недостаточности у беременных женщин с высоким индексом массы тела без гестационного диабета / **Н. С. Даценко**, А. В. Волчек, А. В. Якимова [и др.] // **Акушерство и гинекология**. – 2021 – № 1. – С. 68–75.

5. **Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ 2021663595** Российская Федерация. Программа для определения риска развития плацентарной недостаточности у женщин с избыточной массой тела : № 2021662671: заявл. 09.08.2021: опуб. 19.08.2021 / **Даценко Н. С.**, Якимова А. В., Мудров В. А.; заявитель и правообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. – 1 с.

6. Morphological aspects of placenta among women who suffer from obesity / **N. S. Datsenko**, E. V. Nikitenko, T. A. Ageyeva, A. V. Yakimova // European Journal of Natural History. – 2020. – № 3. – С. 4–7.

7. Оментин как сывороточный маркер тяжести ожирения беременных женщин / Т. М. Соколова **Н. С. Даценко**, А. В. Якимова [и др.] // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2021. – № 6. – С. 140–143.

8. Структурные маркеры плацентарной недостаточности при прогрессировании ожирения / **Н. С. Даценко**, Т. А. Агеева, А. В. Якимова, И. О. Маринкин // Лимфология: от фундаментальных исследований к медицинским технологиям : материалы 14-й Международной научно-практической конференции памяти академика Ю. И. Бородина, 26–27 марта 2021 г. – Новосибирск, 2021. – С. 103–106.

9. **Даценко, Н. С.** Маркеры нарушения липидного и углеводного обмена при прогрессировании ожирения у беременных / **Н. С. Даценко**, А. В. Якимова // Сахарный диабет: от мониторинга к управлению: материалы 4-й Российской междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием, 26-27 мая 2021 г. – Новосибирск, 2021. – С. 37–39.

10. Раннее прогнозирование развития плацентарной недостаточности у женщин, страдающих ожирением // **Н. С. Даценко**, И. О. Маринкин, К. Ю. Макаров [и др.] // Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине: материалы 5-го Международного конгресса, 22–25 апреля 2021. – Новосибирск, 2021. – С. 128–129.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ЗРП	– задержка роста плода
ИГХ	– иммуногистохимическое исследование
ИМТ	– индекс массы тела
ИФА	– иммуноферментный анализ
ПН	– плацентарная недостаточность
AUC	– площадь под ROC-кривой.
DAB	– диаминобензидин
H	– ранговый анализ вариаций по Краскелу – Уоллису
p	– критический уровень значимости
Q1; Q3	– первый и третий квартили.
ROC	– анализ (Receiver Operating Characteristic) – способ оценить точность предсказаний статистической модели
rs	– коэффициент корреляции Спирмена
VEGF	– фактор роста эндотелия сосудов
χ^2	– хи-квадрат Пирсона
Me	– медиана