

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства  
и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

**Айтов Айтбек Эсенбекович**

**РОЛЬ СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ  
ОСЛОЖНЕНИЙ У ЖЕНЩИН С МОНОХОРИАЛЬНОЙ  
ДИАМНИОТИЧЕСКОЙ ДВОЙНЕЙ**

14.01.01. – акушерство и гинекология

Диссертация

На соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,

Заслуженный врач РФ **Башмакова Надежда Васильевна**

доктор медицинских наук,

профессор, **Чистякова Гузель Нуховна**

Екатеринбург – 2019

## **СОДЕРЖАНИЕ**

**Введение.....**

**Глава 1. Монохориальная диамниотическая двойня, диагностика, патогенез осложнений, роль сосудисто-эндотелиальных факторов в развитии осложнений при беременности (Обзор литературных данных)..**

**1.1. Современный взгляд на монохориальные диамниотические двойни.....**

**1.2.ФФТС и СЗР плода у монохориальных диамниотических двоен, особенности патогенеза.....**

**1.3.Ультразвуковая диагностика осложнений у монохориальных диамниотических двоен.....**

**1.4. Современные методы лечения ФФТС, СЗР.....**

**1.5. Роль эндотелиальной дисфункции, ангиогенеза в патогенезе развития ФФТС, СЗР.....**

**Глава 2. Материалы и методы исследования.....**

**2.1. Дизайн исследования.....**

**2.2. Методы исследования.....**

**2.2.1. Лабораторные методы исследования.....**

**2.2.2.Ультразвуковая диагностика.....**

**2.2.3. Техника фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.....**

**2.2.4. Молекулярно-генетические методы исследования.....**

**2.2.5. Исследование сосудисто-эндотелиальных факторов.....**

**2.2.6. Клиническая характеристика новорожденных.....**

**2.2.7. Морфологическое исследование плацент.....**

**2.2.8. Методы статистической обработки данных.....**

## **Глава 3. Результаты собственных исследований.....**

**3.1. Клиническая характеристика, течение беременности у пациенток исследуемых групп больных.....**

**3.2. Анализ оперативной коррекции ФФТС .....**

**3.3. Анализ способов родоразрешения и перинатальных исходов у пациенток исследуемых групп.....**

**3.4. Результаты морфологического исследования плацент.....**

**3.5. Клиническая характеристика новорожденных .....**

## **ГЛАВА 4. Роль генов ангиогенеза, регуляции сосудистого тонуса и дисфункции эндотелия в формировании ФФТС и СЗР у женщин с монохориальной диамниотической двойней.....**

**4.1. Распределение полиморфных локусов генов VEGF-A и NOS3 у женщин с монохориальной диамниотической двойней, осложненной ФФТС и СЗР плода.....**

**4.2. Особенности функционального состояния эндотелия, регуляции ангиогенеза у пациенток с монохориальной диамниотической двойней.....**

**4.3. Способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.....**

**Заключение.....**

**Выводы .....**

**Практические рекомендации .....**

**Список**

**сокращений.....**

**Список**

**литературы.....**

## **ВВЕДЕНИЕ**

### **Актуальность темы исследования**

Монохориальная многоплодная беременность и ее осложнения, несмотря на развитие современных медицинских технологий до сих пор представляют одну из значимых проблем современного акушерства.

Частота монохориальных двоен составляет в среднем 0,4 % беременностей, и около 20 % случаев многоплодной беременности [117, 125]

Перинатальная заболеваемость и смертность при многоплодной беременности в 7 раз выше по сравнению с одноплодной беременностью [112].

Основными факторами риска перинатальных осложнений у двоен являются высокая частота преждевременных родов и низкая масса тела при рождении [59,75,78,109,150]. При этом в первую очередь течение беременности и прогноз исходов при многоплодии большинство авторов связывают с типом плацентации [143].

При монохориальном типе плацентации имеет место наличие сосудистых анастомозов в единой плаценте, также возможно неравномерное распределение плацентарной площади между близнецами. В соответствии с этими структурными особенностями плаценты, связанных с гемодинамической нестабильностью, формируются такие осложнения как фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка роста плода [70,124,134].

Доказано, что монохориальный тип плацентации относится к факторам риска осложнений для матери и плода, а показатель перинатальной смертности при монохориальных двойнях в 3-4 раза превышает таковой при дихориальной двойне [5,35,97].

Высокая перинатальная смертность связана с ФФТС при развитии которого и прогрессирования тяжести перинатальная смертность достигает 60-100%, при СЗР плода в зависимости от типа неблагоприятный исход беременности может достигать до 15 % случаев [23].

Основные причины неблагоприятных исходов при оперативной коррекции ФФТС это поздняя диагностика на амбулаторном этапе, расположение плацентарной площадки по передней стенке матки, наличие мелких и остаточных ветвей анастомозов после фетоскопии, наличие анастомозов на стороне плодовой поверхности плаценты плода донора, близкое расположение пуповин плодов, осложнения послеоперационного периода. При наличии СЗР плода основными причинами неблагоприятного исхода беременности является преждевременные роды при патологических кровотоках по доплерометрии, высокий риск антенатальной гибели плода.

**Цель исследования:** Оценить роль функционального состояния эндотелия и ангиогенеза в формировании осложнений у монохориальных диамниотических двоен и на основании полученных данных разработать алгоритм ведения беременности.

#### **Задачи исследования**

1. Провести клинико-статистический анализ анамнестических данных, течения беременности, родов и перинатальных исходов у беременных с монохориальной диамниотической двойней.
2. Оценить роль функционального состояния эндотелия, про- и антиангиогенных факторов роста, эндотелиальных прогениторных клеток у пациенток с монохориальной диамниотической двойней.
3. Определить роль полиморфизма генов эндотелиальной функции и регуляции ангиогенеза у пациенток с монохориальной многоплодной беременностью.
4. Разработать алгоритм ведения **осложнений** монохориальной беременности **для коррекции выявленных патологических состояний** на основании наиболее информативных показателей.

#### **Методология и методы исследования**

Для решения поставленных задач выполнено сплошное проспективное, когортное, контролируемое исследование с участием 122 пациенток с

монохориальными диамниотическими двойнями во II и III триместре беременности.

Выбор использованных в работе методов исследования определялся в соответствии с отраслевыми стандартами объемов обследования в акушерстве, рекомендациями по лабораторной диагностике в иммунологии, молекулярно-генетическими и статистическими исследованиями

### **Степень разработанности темы**

За последние десятилетия усилился интерес исследователей к изучению ангиогенных факторов роста, как дополнительных диагностических критериев осложненной монохориальной многоплодной беременности [42].

Однако до настоящего времени остается дискуссионным вопрос о роли маркеров регуляции ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции в патогенезе синдрома фето-фетальной трансфузии и селективной задержке роста плода. Имеющиеся в литературе данные проведены на небольшой когорте монохориальных двоен, что требует проведения дальнейших исследований, что и явилось основанием для выполнения этой работы.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Исследуемые группы были сопоставимы по основным показателям анамнеза, за исключением паритета. Новорожденные из основных групп отмечались степенью недоношенности и осложнений в неонатальном периоде.
2. Полиморфизм C936T гена VEGF-A ассоциирован с риском формирования ФФТС, что позволяет рассматривать полиморфный аллель VEGF-A: 936T, как возможный генетический маркер фето-фетального трансфузионного синдрома.
3. Реализация патологических состояний (фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка **роста** при монохориальной беременности

обусловлена нарушением продукции основных регуляторов ангиогенеза, связанной с дисфункцией эндотелия.

4. Определение плацентарного фактора роста, нитрата азота и уровня эндоглина во втором триместре беременности **обладает** высокой прогностической значимостью в оценке риска реализации антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов

### **Научная новизна**

Установлена ассоциация полиморфизма С936Т гена VEGF-A с риском формирования ФФТС, что позволяет рассматривать полиморфный аллель VEGF-A: 936Т, как возможный генетический маркер фето-фетального трансфузионного синдрома.

Показано, что состояние эндотелия при осложненной монохориальной беременности (фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка развития плода) характеризуется нарушением баланса вазоконстрикторов и вазодилататоров, дисрегуляцией ангиогенеза, снижением продукции эндотелиальных прогениторных клеток.

Определены прогностические критерии риска реализации антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов (содержание плацентарного фактора роста, нитрата азота и уровня эндоглина в периферической крови беременных во втором триместре периода гестации)

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Получены новые данные об особенностях функционального состояния эндотелия и регуляции ангиогенеза при монохориальной беременности, осложненной впоследствии фето-фетальным трансфузионным синдромом или селективной задержкой роста плода до оперативного лечения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов и перед

родами. Результаты исследования вносят вклад в изучение механизмов реализации осложнений, ассоциированных с монохориальным типом плацентации, с позиций нарушения функций эндотелиальной системы.

На основании оценки содержания эндогенных регуляторов: содержания плацентарного фактора роста, нитрата азота и уровня эндоглина в периферической крови беременных, подлежащих оперативной коррекции ФФТС, определены прогностические критерии риска антенатальной гибели плода после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов и разработан «Способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов» (положительное решение по заявке на изобретение № 2018130923 от 27.08.2018). Предложен алгоритм ведения **осложненной** монохориальной беременности **для коррекции выявленных патологических состояний**.

#### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты диссертационного исследования используются в программах постдипломного образования ФГБУ «НИИ ОММ» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Екатеринбург), а также внедрены в лечебный процесс акушерско-гинекологического отделения.

По результатам исследования получено положительное решение от 29.04.2019 по заявке на изобретения «Способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов» на изобретение № 2018130923 от 29.08.2018. Разработан алгоритм ведения монохориальной беременности осложненной **(ФФТС и СЗР)** для коррекции выявленных патологических состояний.

#### **Степень достоверности и апробация результатов работы**

Обоснованность выводов и достоверность диссертационного исследования подтверждена достаточным объемом выборок клинических исследований, корректным анализом и интерпретацией полученных



результатов, статистической обработкой данных, соблюдением принципов доказательной медицины.

Материалы диссертационной работы доложены на III общероссийском научно-практическом семинаре «Репродуктивный потенциал России» Уральские чтения (г.Екатеринбург 2017), X Научно практической конференции с международным участием «Современные тренды развития репродуктивной и перинатальной медицины»(г. Екатеринбург, 2019 г).

#### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе 4 тезисов, 5 статей из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 122 страницах печатного текста, иллюстрирована 5 рисунками и 31 таблицами. Состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 154 источников, из которых 22 отечественных и 132 зарубежных.

# **ГЛАВА 1**

## **МОНОХОРИАЛЬНАЯ ДИАМНИОТИЧЕСКАЯ ДВОЙНЯ, ДИАГНОСТИКА, ПАТОГЕНЕЗ ОСЛОЖНЕНИЙ, РОЛЬ СОСУДИСТО- ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ФАКТОРОВ В РАЗВИТИИ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРНЫХ ДАННЫХ)**

### **1.1. Современный взгляд на монохориальные диамниотические двойни**

За последние десятилетия неуклонно растет количество многоплодной беременности во всем мире и в первую очередь ввиду широкого внедрения вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Причинами высокой частоты наступления многоплодной беременности после ВРТ, является использование современных культуральных сред, различных микроманипуляционных методик, таких как интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида, ассистируемый хетчинг, перенос бластоцист [52,94,127].

В данной ситуации проблемы многоплодной беременности приобретают особую значимость. В связи с высоким риском осложнений монохориальная многоплодная беременность лидирует по частоте акушерских и перинатальных осложнений.

Монохориальная двойня это результат расщепления единственной зиготы. Разделение плодного яйца с формированием монозиготной двойни, происходит в период от 2-х до 15-х суток после оплодотворения. Если разделение произошло с 4-х суток по 7-ые сутки то формируется монохориальная диамниотическая двойня. В случае разделения яйца на 8-ые – 12 –ые сутки происходит формирование монохориальной моноамниотической двойни. В случае разделения плодного яйца в более поздние сроки происходит сращение близнецов - сиамские близнецы [15, 126].

Частота монохориальной многоплодной беременности не превышает 0,3-0,7 % среди всех беременностей, и в структуре многоплодных беременностей этот тип плацентации составляет около 25 % [53].

Монохориальные двойни по сравнению с дихориальными лидируют и по частоте акушерских и перинатальных осложнений. Одним из наиболее значимых проблем являются преждевременные роды (до 37 недель), и в настоящее время преждевременные роды является ведущей причиной госпитализации в стационар и второй по значимости причиной неонатальной смертности [67].

Помимо преждевременных родов при монохориальном типе плацентации возрастает риск развития преэклампсии в 2-3 раза, в 5-7 раз выше смертность плодов, риск развития неврологических осложнений выше в 4 раз по сравнению с одноплодной беременностью [86].

В одном из трех случаев монохориальной беременности формируются специфические осложнения, такие как: фето-фетальный трансфузионный синдром (ФФТС), селективная задержка роста (СЗР), синдром обратной артериальной перфузии или внутриутробная гибель одного плода из двойни [64].

Осложнения характерные для монохориальной беременности обусловлены наличием плацентарных анастомозов в единой плаценте соединяющих системы кровообращения плодов.

Высокая частота осложнений монохориальной беременности сопровождается увеличением доли оперативного родоразрешения и рождения недоношенных детей. Частота оперативных родов путем кесарева сечения у монохориальных двоен по данным различных авторов достигает 55%, низкой массы тела при рождении - до 48%. Каждый третий ребенок данного контингента беременных госпитализируются в отделение реанимации новорожденных и неонатальная заболеваемость достигает 28 % [68,139].

Выбор метода родоразрешения при монохориальных двойнях является достаточно сложной задачей. При этом большинство авторов рекомендуют родоразрешение абдоминальным путем в первую очередь из-за большого риска интранатального ФФТС. При отсутствии осложнений со стороны плодов и матери возможно проведение родов через естественные родовые пути. По поводу оптимального метода пути родоразрешения в случае головного предлежания 1 плода и тазового предлежания 2 плода мнения авторов расходятся. Некоторые авторы утверждают, что при родах через естественные родовые пути риск развития осложнений для второго плода высок и рекомендуют роды путем кесарева сечения. В другом исследовании не было обнаружено статистически значимых различий между детьми родоразрешенными через естественные родовые пути и путем кесарева сечения [115]. Armson и соавт.(2007). показали, что по сравнению с абдоминальными родами при родах через естественные родовые пути риск перинатальных осложнений для второго плода возрастает в три раза [26].

Таким образом, монохориальная многоплодная беременность и ее осложнения вносят значительный вклад в перинатальную заболеваемость и смертность. Решение проблем связанных с монохориальной беременностью, несмотря на развитие современной медицины является одной из актуальных задач современного акушерства.

## **1.2. ФФТС и СЗР плода у монохориальных диамниотических двоен, особенности патогенеза**

В структуре осложнений монохориальной беременности особое место занимает ФФТС и СЗР плода. Доля вышеуказанных осложнений достигает 25% случаев, и являются ведущей причиной раннего родоразрешения и неблагоприятных исходов беременности [96].

ФФТС осложнение течения беременности, характеризующееся несбалансированным потоком крови от одного плода к другому через сосудистые анастомозы в единой плаценте. Вследствие несбалансированного потока крови от одного плода к другому формируется плод донор и плод реципиент. У плода донора вследствие гиповолемии и анемии происходит задержка внутриутробного развития, прогрессирующая олигоурия и анурия и как следствие маловодие. У плода реципиента наблюдается обратная картина в виде гиперволемии, повышенной мочепродукции с многоводием, и изменением со стороны сердечной функции [74].

Некорригированное течение синдрома сопровождается высокой перинатальной смертностью и заболеваемостью с частотой до 100 %, особенно при ранней манифестации синдрома до 20 недель беременности. Данный синдром встречается с частотой от 10-15 % монохориальных двоен [83,135].

ФФТС впервые был описан в Германии в 1882 г. Акушером гинекологом Фридрихом Шатцем (Friedrich Schatz, 1841— 1920), когда он сообщил о 3 случаях многоплодной беременности с сосудистыми анастомозами в плаценте. Особенности фенотипа близнецов Ф. Шатца охарактеризовал как результат гемодинамических изменений, связанных с функцией обнаруженных шунтов, кровотоков в которых он назвал «третьей циркуляцией». Гипотеза Ф. Шатца о плацентарном кровотоке между плодами на протяжении столетия являлась центральной в попытке объяснить развитие ФФТС.

Согласно данным литературы для ФФТС характерны артерио-венозные анастомозы, располагающиеся не на поверхности, а в толще плаценты, тогда как формирующие их сосуды проходят по поверхности плаценты [89].

Сосудистые плацентарные сети приводят к существованию межблизнецовой трансфузии. Анастомозы являются всеобщим фактором, который лежит в основе патологии монохориальной беременности.

В настоящее время этиология фето-фетального трансфузионного синдрома остается неизвестным. Известно, что в основе патогенеза лежит циркуляторный дисбаланс между внутривнутриплацентарными сосудистыми руслами плодов близнецов [43].

Как известно из особенностей ангиоархитектоники монохориальных двоен, наличие анастомозов между системами кровотока плодов является обязательным фактором в возникновении ФФТС. Однако не у всех монохориальных двоен возникает данная патология. Отсюда следует, что существуют факультативные факторы, способствующие развитию синдрома. К ним можно отнести гемодинамические нарушения в системе кровообращения одного из плодов, а также особенности генотипа близнецов. Так, в исследовании С. J. Marsit и соавт рассматривается возможное влияние эпигенетических факторов на развитие ФФТС [100].

При нормальных условиях наблюдается обмен кровью между плодами через систему плацентарных анастомозов. Возникающий на фоне этого дисбаланс объема нивелируется работой сердца реципиента. Усиление его активности и, как следствие, еще большее повышение давления ведет к открытию поверхностных AA и VV межплодовых анастомозов и кровь сбрасывается обратно в систему донора. Данное динамическое равновесие в обмене кровью поддерживается до тех пор, пока работают компенсаторные механизмы обоих плодов. Врожденные или приобретенные дефекты сердца, стеноз легочной артерии, миокардит или окклюзия пупочных сосудов приводят к тому, что ток крови от плода к плоду приобретает однонаправленный характер и возникает ФФТС [37].

Для определения роли межплодовой гемоциркуляции в возникновении синдрома было проведено исследование, включающее определение типа 131 плаценты монохориальных диамниотических близнецов. Из них 105 были от близнецов, прошедших лечение лазером, а 26 - от близнецов без ФФТС. При подсчете результатов были исключены 45 случаев вследствие фрагментации плацент [48]. В итоге получены следующие данные:

- тип А — плацента не имеет анастомозов — 0% случаев;
- тип В — плацента содержит только глубокие AV-анастомозы — 81% случаев;
- тип С — плацента содержит только поверхностные AA- и VV-анастомозы — 1% случаев;
- тип D — плацента содержит все виды анастомозов — 18% случаев.

Это исследование отражает прямую корреляцию между типом монохориальности плаценты и случаями возникновения ФФТС. В 99% случаев заболевание возникло при типе плацентации с глубокими AV-анастомозами, что доказывает их центральную роль в возникновении синдрома. В 1% случаев СФФТ при типе С объясняется «факультативной» ролью поверхностных анастомозов в патогенезе патологии. При острой форме синдрома эти шунты также могут послужить источником сброса крови от плода-донора к плоду-реципиенту. В связи с этим при селективной лазерной абляции важно удалять все функционирующие анастомозы между плодами. Через глубокие AV-анастомозы кровь посредством сообщения с общим котиледоном направляется из артерий одного плода в вены другого. При недостатке поверхностных AA- и VV-шунтов, количество которых должно быть достаточным для компенсации работы глубоких, гарантируется неравномерное распределение кровяного давления в сосудах обоих близнецов и как следствие односторонний ток определенного объема крови плода-донора в вены плода-реципиента. В свою очередь проведенные постнатальные исследования сосудов плаценты выявили тесную взаимосвязь между отсутствием AA поверхностных шунтов и возникновением ФФТС. На математической модели плацентарного кровотока была доказана исключительная роль этих сосудов в возникновении неравномерного тока крови через AV-шунты [24].

В настоящее время все больше фактов свидетельствует о том, что патофизиологический механизм ФФТС не ограничен наличием артерио-

венозных анастомозов, но имеет комплексный характер. Так, изменения гемодинамики плода-донора и плода-реципиента обуславливают изменения в ренин-ангиотензиновой системе, что в свою очередь приводит к изменению мочепродукции плодов [34].

При снижении ОЦК снижается перфузия почек, и в ответ на снижение давления на клетки юктагломерулярного аппарата почек и сниженную доставку  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  к maculadensa в почках начинает вырабатываться ренин. Под действием ренина из ангиотензиногена вырабатывается ангиотензин I, не обладающий биологической активностью, который под действием ангиотензин-конвертирующего фермента превращается в ангиотензин II. Ангиотензин II способствует вазоконстрикции и увеличению артериального давления. При ФФТС вазоконстрикция почечных артерий у плода донора под действием ангиотензина II приводит к нарастанию маловодия. При тяжелой форме ФФТС у плода донора отмечается увеличение синтеза ренина и дисгенезия канальцев почек, тогда как у плода-реципиента имеет место снижение синтеза ренина и повреждение клубочкового аппарата почек в результате гипертензивной микроангиопатии [99].

Еще одним доказательством роли гипертензивных веществ в патогенезе ФФТС является увеличение концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови плодов реципиентов по сравнению с концентрацией этого же вещества в сыворотке крови плода-донора. Эндотелин является самым мощным из известных сосудосуживающих агентов, его активность в 10 раз превышает активность ангиотензина II. Поданным R. Vajogia и соавт, у плодов-реципиентов концентрация эндотелина-1 в сыворотке крови была в 2,5 раза выше, чем у плода-донора. Более того, при наличии отека у плодов-реципиентов концентрация эндотелина-1 была значительно выше, чем у плодов-реципиентов без отека. Эндотелин-1 может играть важную роль в регуляции количества околоплодных вод как сам по себе, так и благодаря своему стимулирующему влиянию на концентрацию в околоплодных водах натрий уретического пептида [30,31].



Показано, что концентрации эндотелина-1 и натрий-уретического пептида имеют прямую корреляцию с амниотическим индексом при ФФТС. Так, наивысшая концентрация эндотелина-1 и натрийуретического пептида отмечается в околоплодных водах плода-реципиента; при отсутствии ФФТС концентрация эндотелина-1 и натрийуретического пептида в околоплодных водах умеренная; самая низкая концентрация этих веществ отмечается в околоплодных водах плода донора.

Вазоактивные вещества по артериовенозным анастомозам попадают к плоду-реципиенту, что приводит к развитию у него хронической гипертензии и гипертрофической кардиомиопатии. При внутриутробной лазерной коагуляции анастомозов в плаценте у плода-реципиента отмечается нормализация давления, так как прекращается поступление вазоактивных веществ от плода-донора.

Таким образом, патогенез ФФТС носит комплексный характер, ключевым звеном в котором является наличие дисбаланса между системами кровообращения плодов через сосудистые анастомозы, и немаловажную роль в патогенезе данного состояния играют вазоактивные вещества.

СЗР плода наблюдается в 10-15 % случаев у монохориальных двоен. Тяжелые формы ассоциированы высоким риском внутриутробной гибели и неблагоприятным неврологическим исходом для обоих близнецов [114].

По имеющимся на сегодняшний день литературным данным, беременные с монохориальной двойней, даже при отсутствии специфических осложнений монохориального типа плацентации, имеют высокую частоту задержки роста плода, формирующуюся к 28-32 неделям беременности [95].

Основной причиной СЗР плода является неравномерное распределение плацентарной площадки и наличие плацентарных анастомозов у плодов [88, 144].

Неравномерное распределение плаценты между близнецами часто сопровождается аномальным прикреплением (оболочечное или краевое) пуповины [38, 84].

Наличие сосудистых анастомозов в плаценте в некоторых ситуациях могут играть положительную роль, т.к плод с СЗР получает кровь от большего плода с нормальным содержанием кислорода и питательных веществ. В случае наличия множественных анастомозов, как правило тяжелого страдания плода с СЗР не наблюдается, в случае наличия малого количества анастомозов наблюдается более тяжелое отставание в росте и страдание плода.

Исключением из этого правила является наличие крупного анастомоза между артериями (АА), соединяющих пуповины плодов которое наблюдается при III типе СЗР [62].

Таким образом течение и исход беременности при СЗР зависит от распределения плацентарных территорий у плодов и наличия анастомозов. Основное осложнение данного состояния это внутриутробная гибель меньшего плода, которое связано с посмертным фетальным сбросом крови от здорового плода к погибшему. В этой ситуации сопутствующая гибель второго плода наблюдается в 15-20 % случаев, а тяжелые неврологические повреждения в 20-30% случаев [61]. Неврологические нарушения у плода с большей массой могут наблюдаться в случае даже если родились даже оба живых плода [141].

Своевременная диагностика и мониторинг состояния плодов при СЗР плода из монохориальной двойни необходима для выбора оптимальной тактики ведения беременности и своевременного родоразрешения [9,38].

Как было указано ранее существуют 3 типа классификации СЗР при монохориальной двойне. С точки зрения прогноза, описанные типы селективной задержки можно разделить на два типа – с благополучным исходом и неблагоприятным исходом [137].

I тип СЗР плода характеризуется положительным диастолическим кровотоком в артерии пуповины. Этот тип представляет сбалансированную комбинацию двух показателей, в виде небольшой разницы в плацентарных территориях или большого количества плацентарных анастомозов. За счет этого наблюдается более удовлетворительное состояние плода донора, и фетальная трансфузия от большего плода нивелирует последствия плацентарной недостаточности у меньшего плода. Диссоция при этом в массе плодов не будет выраженной [23].

Данный тип задержки также характеризуется благоприятным исходом беременности, частота внутриутробной гибели составляет 2-4 %, а сопутствующие неврологические осложнения наблюдаются менее чем в 5% случаев [113].

При этом рекомендуется проведение регулярного УЗИ один раз в неделю и оптимальным сроком родоразрешения считается 34-36 недель [79].

II тип СЗР характеризуется постоянным нулевым диастолическим кровотоком артерии пуповины. Плацентарная территория при этом крайне мала, анастомозы плаценты не сбалансированы или их число крайне мало

Следовательно внутриутробное страдание плода до 30 недель беременности определяемое аномальным кровотоком в артерии пуповины произойдет в 70-90 % случаев. Неблагоприятный исход беременности при этом непредсказуем [137].

III тип СЗР характеризуется чередованием фаз положительного или нулевого диастолического кровотока. Плацентарная территория при этом крайне мала, неблагоприятный исход также при этом непредсказуем. Однако за счет наличия крупного АА анастомоза долгое время может наблюдаться компенсированное состояние плода с меньшей массой. Риск внутриутробной гибели при этом типе высокий и составляет 15-30 % случаев [65].

Оптимальным сроком родоразрешения при данном типе СЗР является срок беременности 32-34 недель.

Таким образом патогенез СЗР плода основан на неравномерном распределении плацентарной ткани и количеством, типом анастомозов в единой плаценте, что определяет клиническое течение и исход беременности.

### **1.3. Ультразвуковая диагностика осложнений у монохориальных диамниотических двоен**

Ультразвуковое исследование является основным методом диагностики осложнений у монохориальных двоен и тактика ведения беременности в первую очередь зависит от правильного определения типа хориальности в первом триместре беременности. Оптимальным для этого, считается срок беременности от 6 до 9 недель, хотя максимально тип хориальности можно определить до 14 недель гестации, а в дальнейшем точность диагностики снижается [138].

При наличии бихориальной двойни по УЗИ определяются два плодных яйца, разделенных утолщенной перегородкой 2 мм и более. С развитием беременности толщина перегородки уменьшается в связи с истончением хориальной мембраны, но в первом триместре в области основания перегородки при УЗИ определяется участок треугольной формы – «λ-признак». Визуализация в области основания перегородки в 11-14 недель беременности и оценка наличия или отсутствия «λ-признака» позволяют проводить дифференциальную диагностику хориальности плаценты [138].

Ранее, до применения УЗИ в акушерской практике, ФФТС диагностировался неонатологами после рождения двойни на основании классических критериев: разницы концентрации гемоглобина крови более 80г/л и массы тела новорожденных. За счет внедрения пренатальной сонографии в практику акушерской клиники накоплен достаточный опыт раннего доклинического выявления фето-фетальной трансфузии

Ультразвуковое исследование, проведенное в первом и в начале второго триместра, позволяет дифференцировать монохориальные двойни с

высоким риском неблагоприятного исхода, что и определяет в дальнейшем тактику ведения беременности.

Методы ранней УЗ диагностики осложнений монохориальной беременности, весьма ограничены и основываются на ультразвуковых маркерах I триместра. Ультразвуковыми предикторами фето-фетального трансфузионного синдрома в сроках беременности 11-14 недель являются – увеличение толщины воротникового пространства более 3 мм у одного из плодов, а также аномальный тип кровотока в венозном протоке, а при селективной задержки роста плода – уменьшение копчико-теменного размера более на 3 мм одного плода из двойни [1,17,129,145].

Информативность данных ультразвуковых предикторов осложнений монохориальной многоплодной беременности невысока. Так обнаружение расширения воротникового пространства плода (плодов) более 3 мм в гестационном сроке 11–14 недель только в 30% случаев является ранним предиктором ФФТС, а наличие аномального кровотока в венозном протоке в 50% случаев [21,129].

Современные принципы ведения монохориальных двоен включают в себя проведение УЗИ каждые 2 недели после 16 недель, с оценкой количества околоплодных вод, визуализации мочевого пузыря, доплерометрии в основных сосудах у плодов для своевременной диагностики осложнений [77].

ФФТС с помощью УЗИ определяется после 16 недель гестации и диагностика основана на критериях, которые отражают выраженную дискордантность количества околоплодной жидкости в амниотических полостях монохориальных плодов, у одного из которых развивается выраженное маловодие, а у другого – выраженное многоводие [54,57,85].

Общепринятой является УЗ-классификация фето-фетального трансфузионного синдрома и представлена в таблице 1[110].

Таблица 1- Классификация ФФТС по R Quintero(1999).

Стадия	Многоводие / Маловодие	Отсутствие визуализации эхо-тени мочевого пузыря у донора	Нарушения кровообращения в артерии пуповины и/или в венозном протоке	Водянка	Гибель донора и/или реципиента
I	+	-	-	-	-
II	+	+	-	-	-
III	+	+	+	-	-
IV	+	+	+	+	-
V	+	+	+	+	+

Эта классификация основана на выявлении при ультразвуковом исследовании и доплерометрии определенной последовательности признаков у плода-донора и плода-реципиента, при этом выделяют V стадий.

В современной литературе, посвященной диагностике ФФТС, значительное место отводится обсуждению критериев тяжести данного синдрома. В некоторых клинических случаях определенная последовательность признаков ФФТС может не выявляться, например при визуализации эхо-тени мочевого пузыря у плода донора могут быть аномальные кровотоки в артерии пуповины что приравнивается к III стадии синдрома.

В исследованиях Yamamoto(2007) при I стадии ФФТС и визуализации мочевого пузыря у донора отсутствовала динамика мочеиспускания, что означает отсутствие разницы между I и II стадией, и не отражает количество мочепродукции [147].

А внутриутробная гибель плода может наступить даже при I стадии, без явных признаков прогрессирования синдрома трансфузии.

По наблюдениям специалистов ультразвуковыми критериями диссоциации по количеству амниотической жидкости является многоводие реципиента, с максимальным глубоким вертикальным карманом  $\geq 8$  см до 20 недель и  $\geq 10$  см после 20 недель беременности, и маловодием плода донора с вертикальным карманом  $\leq 2$  см при любом сроке гестации [79].

Пороговое значение максимального вертикального кармана  $\geq 8$  см, было основано на сочетанном наблюдении дихориальных и монохориальных близнецов [98].

Как показало исследование проведенное P. Dekoninck et al. (2013) при многоплодной беременности объем амниотической жидкости изменяется со сроком гестации [47].

Согласно данному исследованию максимальный вертикальный карман в норме не должен превышать 5,5 см. Проанализировав вышеуказанные данные А. Khalil и соавт (2017), приходит к выводу, что в настоящее время диагностические критерии фето-фетального трансфузионного синдрома требуют внесения изменений и наличие многоводия у плода реципиента необходимо подтверждать при максимальной величине вертикального кармана  $\geq 6$  см до 18 недель беременности [80].

Реже ФФТС наблюдается при моноамниотической двойне и встречается с частотой 6%, и при УЗИ выявляется выраженное многоводие в общей амниотической полости и несоответствие размеров мочевых пузырей у плодов [72].

Таким образом классификация R. Quintero являясь наиболее широко применяемой в практике, имеет существенные недостатки. Поэтому к данной классификации в зарубежной литературе дополнительно используется оценка кардиоваскулярного статуса реципиента с использованием показателей эхокардиографии и доплерометрии. Суть данного метода основана на балльной оценке 12 показателей кардиоваскулярного статуса плода - реципиента, которые будут определять прогноз для перинатальных исходов при ФФТС [130].

В настоящее время данные показатели не имеет широкого применения, однако может быть использована для прогноза при коррекции ФФТС.

Для ранней диагностики ФФТС может быть использован показатель разницы ВИР (время изоводемического расслабления). На доплеровских эхограммах ВИР определяют как интервал между артефактом и моментом появления ранней (Е) волны диастолического наполнения левого желудочка. Длительность кардиоинтервалов (ЧСС) вычисляют как интервал между началом двух соседних Е волн трансмитрального кровотока. Для каждого плода измеряют ВИР в 3 последовательных кардиоциклах, и затем вычисляют их среднее значение. Расхождение ВИР более 9 мс расценивается как признаки ФФТС. Таким образом, измерение времени изоводемического расслабления в доплеровском режиме непосредственно связано с величиной конечно – систолического давления в левом желудочке и может быть использовано для неинвазивной оценки величины систолического АД [4].

Другая классификация трансфузионного синдрома включает в себя олигоурию – полиурию (TOPS) и трансфузионный синдром с анемией и полицитемией (TAPS).

Трансфузионный синдром TAPS характеризуется значительной разницей в концентрации гемоглобина между донором и реципиентом, как правило количество околоплодных вод у плодов не изменяется. Данное осложнение встречается с частотой 3-5 % монохориальных многоплодных беременностей, а также может возникнуть после оперативной коррекции ФФТС с частотой до 16 % случаев [136].

Диагностика TAPS-синдрома основана на выявлении с помощью доплерометрии увеличения пиковой скорости кровотока в средней мозговой артерии (СМА) более 1.5 MOM у одного плода, что указывает на анемию, и снижение пиковой скорости в средней мозговой артерии у другого плода менее 1,0 MOM – полицитемия [123].



Также при ультразвуковом исследовании определяется разнородная эхогенность и толщина плацентарных территорий плода донора и реципиента [32].

В настоящее время классификация TAPS – синдрома различает 5 стадий [93], и представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Классификация ФФТС (TAPS), Lisanne S. A. Tollenaar et al. (2016).

Стадии трансфузии	Допплерометрические изменения
I стадия	Пиковая скорость в СМА у донора >1.5 MOM, у реципиента <1.0 MOM, без других признаков страдания плода.
II	Пиковая скорость в СМА у донора >1.7 MOM, у реципиента <0.8 MOM, без других признаков страдания плода.
III	К доплерометрическим изменениям при I и II стадии + сердечная недостаточность плода донора, критические кровотоки в основных сосудах плода.
IV	К доплерометрическим изменениям при I и III стадии + сердечная недостаточность плода донора + неиммунная водянка плода донора
V	Аntenатальная гибель плода/плодов.

Данная классификация в нашей стране не получила широкого применения, и при выявлении признаков TAPS – синдрома даже I стадии, рекомендуется проведение фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов, а после 26 недель решается вопрос о досрочном родоразрешении.

УЗ - критериями СЗР плода при монохориальной многоплодной беременности являются предполагаемая масса меньшего плода по данным ультразвукового исследования ниже 10-го перцентиля для предполагаемого срока гестации, или несоответствие предполагаемой массы плодов более 25% выявленное при ультразвуковом исследовании. Диссоциация в массе

плодов высчитывается по следующей формуле, от массы большего плода вычитается масса меньшего плода и делится на массу большего плода [76].

Одним из основных методов УЗИ при СЗР кроме определения разницы в массе плодов является исследование доплерометрии в артерии пуповины. Изменения по доплерометрии могут наблюдаться с ранних сроков беременности и обычно остаются неизменными до родов. Во время беременности изменения формы волны в артерии пуповины возникают из за сочетания плацентарной недостаточности и типа анастомозов [140].

Следует отметить, что доплерометрия в артерии пуповины не может интерпретироваться, также как при одноплодной или дихориальной двойне. Согласно доплерометрическому исследованию в артерии пуповины меньшего плода предложена классификация E. Gratagos et al. 2008, которая включает наличие 3-х типов кровотоков. При I типе кровотока в артерии пуповины наблюдается положительный диастолический кровоток, при II типе нулевой диастолический кровоток, а при III типе кровотока перемежающийся нулевой или реверсный кровоток [63].

Таким образом клиническая оценка состояния плодов при монохориальной двойней осложненной СЗР плода основывается на определении дискордантности в массе плодов и доплерометрического исследования в артерии пуповины.

#### **1.4.Современные методы лечения ФФТС и СЗР плода**

Эффективность хирургических методов лечения осложнений монохориальной беременности основано на своевременной диагностике и применении современного оборудования, а также совершенствования опыта фетальных хирургов.

Основные методы лечения ФФТС можно условно разделить на паллиативные и радикальные. Паллиативные методы лечения это септотомия, серийные амниоредукции. В настоящее время септотомия для оперативной коррекции ФФТС не применяется, и возникает при спонтанном

повреждением межамниотической мембраны при проведении фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов [60].

Амниоредукция применяется как завершающий этап фетоскопической лазерной коагуляции анастомозов, целью декомпрессии матки. Значительные объемы эвакуации околоплодных вод проводятся ввиду высокого риска осложнений, таких как угроза прерывания беременности, излитие околоплодных вод на фоне быстрого уменьшения объема полости матки [131].

При отсутствии внутриутробной коррекции синдрома перинатальная смертность достигает 80-90 % случаев обусловленное антенатальной гибелью плодов, выкидыша, или сверхранными родами [51].

К радикальным методам относятся фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов, селективный фетоцид одного плода из монохориальной двойни [45,69,119].

Фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов при ФФТС впервые была предложена DeLia и соавт. в 1990 году, как метод превращения монохориальной плаценты в дихориальную путем тотальной коагуляции сосудов на поверхности плаценты пересекающих межамниотическую границу. Было показано, что независимо от глубины расположения сосудистых анастомозов в толще плаценты, их поверхностные афферентные и эфферентные ветви располагаются на ее поверхности и, таким образом, коагуляция ветвей этих анастомозов позволяет разобщить системы циркуляции плодов при монохориальном многоплодии. Выживаемость плодов при данной методике составляла 53-56%, хотя величина этого показателя незначительно превышала таковую после амниоредукции, после фетоскопической лазерной коагуляции частота выявления повреждений головного мозга новорожденных при ультразвуковом исследовании и магнитно-резонансной томографии была достоверно ниже. В последующем Quintero с соавторами показали, что место расположения сосудистого экватора, а именно расположение анастомозов

между сосудами плодов, не соответствует анатомическому положению межамниотической мембраны на поверхности плаценты. Этот факт стал основой для предложенной ими методики селективной лазерной коагуляции, при которой коагулируются лишь те сосуды, которые являются ветвями анастомозов систем циркуляции обоих плодов. Подобная методика селективной лазерной коагуляции позволила предотвратить коагуляцию ветви сосудов циркуляции второго плода, и сократить число исключенных из фетоплацентарной циркуляции котиледонов, что обеспечило увеличение показателей выживаемости плодов до 62-77% [73,149].

После публикации в 2004 году результатов Европейского многоцентрового проспективного рандомизированного сравнения эффективности серийных амниоредукций и лазерной коагуляции анастомозов, лазерная коагуляция стала считаться «золотым стандартом» лечения ФФТС. В исследовании Eurofetus было проведено сравнение исходов 432 беременностей, при которых была применена лазерная внутриматочная терапия, с 179 беременностями, при которых были выполнены серийные составила 77 и 57% в группе лазерной терапии и 68 и 38 % при лечении методом амниоредукции соответственно. Неонатальная смертность наблюдалась в 4-12% случаев лазерной коагуляции и 14-39% случаев при терапии методом серийных амниоредукций. У выживших новорожденных после лечения ФФТС может иметь место поражение головного мозга в виде перивентрикулярной лейкомаляции, которая была выявлена после лазерной хирургии в 2-33% и после амниоредукции в 18-83% случаев. Graef с со-авт. изучили отдаленные исходы неврологического развития после лазерной коагуляции при ФФТС. У 167 детей, обследованных в возрасте 3 лет, у 87% не было выявлено значимых неврологических нарушений, у 7% – легкие функциональные отклонения, только у 6% выявлены тяжелые неврологические заболевания [120,122].

На сегодняшний день эта операция является основным патофизиологически обоснованным методом лечения данного осложнения монохориального многоплодия.

Фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов проводится в сроке гестации 16 – 26 недель при наличии II – IV стадии ФФТС [2,7,49]

Дискуссия в плане необходимости применения фетальной хирургии при наличии I стадии остается не решенным вопросом. Согласно некоторым литературным данным в 55-70 % случаев наблюдается отсутствие прогрессирования и регресс I стадии трансфузии близнецов [101].

В литературе есть данные о целесообразности применения фетальной хирургии при наличии I стадии ФФТС, с целью улучшения перинатальных исходов у плодов [81].

Рецидив ФФТС может наблюдаться после применения стандартной методики лазерной коагуляции плацентарных анастомозов, за счет остаточных анастомозов или по причине увеличения диаметра анастомозирующих сосудов с увеличением срока гестации [92].

Ввиду этого с 2013 года стала применяться новая модифицированная методика селективной лазерной коагуляции плацентарных анастомозов, так называемая методика Соломона. Данная методика впервые была описана группой специалистов из Нидерландов. Ее суть заключается в непрерывной линейной коагуляции поверхности плаценты на отрезках, соединяющих соседние коагуляционные зоны, образовавшиеся после первого этапа, от одного до другого края плаценты. Целью данной методики является снижение количества рецидивов, коагуляция остаточных анастомозов не видных на фетоскопии [103,132].

В рандомизированном исследовании с участием 274 женщин, из них 135 была применена стандартная методика и 139 применена модифицированная методика Соломона, новая методика была связана со снижением рецидивов ФФТС с 7% до 1 %, перинатальные исходы и

неврологические исходы при этом не различались. Тем не менее наблюдался повышенный риск отслойки плаценты после применения данной методики ввиду более обширного повреждения плацентарной ткани [123].

В литературе существует ограниченное количество исследований с применением внутриутробной внутрисосудистой гемотрансфузии при синдроме анемии и полицитемии у плодов с комбинированием частичного внутриутробного обменного переливания крови между донором и реципиентом. Однако данные методы лечения ФФТС не имеют широкого распространения и достаточной доказательной базы [29,56].

Ежегодно методы фетальной хирургии модифицируются и различными авторами предлагаются новые способы решения различных проблем. Одна из сложных задач в хирургии ФФТС является проксимальное прикрепление пуповин плодов, при котором в настоящее время рекомендуется вместо коагуляции анастомозов применение селективного фетоцида. С целью профилактики преждевременного разрыва плодных оболочек или расслоения амниотических оболочек появились данные о применении нового метода лечения основанного на герметизации пункционного отверстия, что позволяет уменьшить частоту ятрогенных осложнений [20].

Несмотря на достаточную эффективность коррекции ФФТС, лазерная коагуляция является инвазивным методом лечения с определенным риском осложнений для беременной [105,128].

Поэтому зарубежные авторы сообщают о возможности применения фокусированной ультразвуковой аблации сосудов пуповины у акардиального плода [118].

Тем не менее безопасность и перспективы данного метода лечения требуют дальнейших исследований.

В настоящее время существует несколько вариантов тактики ведения монохориальной многоплодной беременности осложненной селективной задержкой одного плода из двойни. В зависимости от тяжести диссоциации в массе плодов, срока беременности и типа СЗР применяется выжидательная

тактика или методы фетальной хирургии как фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов и селективный фетоцид. Выжидательная тактика применяется в случаях отсутствия выраженной диссоциации в массе плодов, и удовлетворительных показателях доплерометрии в артерии пуповины [79].

Фетальная хирургия применяется при тяжелой задержке более 50% и до 22 недель или в случаях нimenуемой гибели плода и только с согласия супружеской пары [7,10,41, 91].

Впервые лазерную коагуляцию плацентарных анастомозов при СЗР применил в исследовании R. Quintero и соавт (2001), как один из альтернативных методов лечения. При лазерной коагуляции анастомозов из 142 беременностей с СЗР II типа отмечена высокая доля потери плодов, при этом не только плода с СЗР (выживаемость 39,5 %), но и второго плода из двойни (выживаемость 69,3 %), со средним сроком родоразрешения в 32 недели [108].

Коагуляция плацентарных анастомозов при СЗР, ситуации в виде многоводия плода реципиента не наблюдается, что затрудняет визуализацию сосудистого экватора и анастомозов, что в свою очередь увеличивает время оперативного вмешательства и увеличивает частоту осложнений. По мнению других авторов, лучшие результаты лечения регистрируются при коагуляции сосудов пуповины [23].

Последние исследования зарубежных авторов включающие 90 случаев тяжелой СЗР II и III типа с применением коагуляции сосудов пуповины, показало выживаемость 1 плода на уровне 93,3 % со средним сроком родоразрешения в 36,4 недель [107].

В отечественной литературе единое **мнение** по данному вопросу отсутствуют, **протокол** ведения монохориальной беременности осложненной селективной задержкой роста одного из плодов в настоящее время **не разработан**. Таким образом, требуются дальнейшие исследования в этой

области с целью оптимизации тактики ведения данного осложнения монохориальной многоплодной беременности.

Существующие в настоящее время методы коррекции фето-фетального трансфузионного синдрома, СЗР постоянно модифицируются, однако монохориальная многоплодная беременность и ее осложнения до сих пор представляют одну из значимых проблем современного акушерства.

### 1.5. Роль эндотелиальной дисфункции, ангиогенеза в патогенезе развития

#### ФФТС, СЗР

Согласно литературным данным, вынашивание беременности во многом определяется носительством тех или иных аллельных вариантов генов, принимающих участие в процессах имплантации, плацентации, роста и развития плода, а также регуляции артериального давления, сосудистого тонуса, функционального состояния эндотелия и других иммуноопосредованных процессов [11,13,19,58].

Носительство неблагоприятных полиморфных аллелей вне беременности может не проявляться, однако в процессе гестации, являющемся своеобразным тестом на состоятельность механизмов сохранения и прогрессирования беременности, организму не всегда удается оставаться в рамках компенсированного состояния [6,12].

Патогенетической основой развития специфических и неспецифических осложнений, характерных только для монохориального типа плацентации являются особенности ангиоархитектуры плаценты [50].

Ангиогенез – важнейший процесс, необходимый для нормального функционирования системы «Мать-плацента-плод», в котором важная роль отводится скоординированному действию взаимозависимых про и ангиогенных факторов.

В работах последних лет получены убедительные данные о роли VEGF в формировании сосудистой системы плаценты и в патогенезе нарушений



ангиогенеза при плацентарной недостаточности и задержки роста плода [3,22,111].

Инициация ангиогенеза происходит при участии оксида азота, отвечающего за сосудистый тонус. Изменение экспрессии гена сосудисто-эндотелиального фактора роста и NO-синтазы, что может приводить к снижению или, наоборот, неадекватному повышению уровня VEGF и NO может быть обусловлено заменой нуклеотидов в последовательности их генов [14].

Эндотелий сосудов, представляющий собой монослой из эндотелиальных клеток, участвует в регуляции процессов воспаления, тромбообразования и поддержания тонуса сосудов.

Эндотелий сосудов, представляющий собой монослой из эндотелиальных клеток, участвует в регуляции процессов воспаления, тромбообразования и поддержания тонуса сосудов [28,133].

Вследствие воздействия неблагоприятных факторов которые нарушают данный баланс, происходит формирование дисфункции эндотелия, изменения процессов васкуло- и ангиогенеза, нарушения структурной целостности и регуляции сосудистого тонуса [66].

Считается, что процессы восстановления поврежденного эндотелия сосудов происходят за счет миграции и пролиферации собственных клеток эндотелия. В результате открытия ЭПК восстановление целостности эндотелия связано с данными клетками. Циркулирующие прогениторные клетки были описаны в 1997 г. Asahara и соавт. как циркулирующие клетки предшественники эндотелиальных клеток участвующие в процессе васкулогенеза [27].

В многочисленных экспериментальных работах было показано активное участие ЭПК в процессах неоваскулогенеза и репарации эндотелия [39, 104].

Вслед за определением этих двух основных функций, ЭПК начали рассматривать как интегральный компонент **сердечно-сосудистой системы**, участвующий в процессе восстановления и поддержания стабильности эндотелиального слоя. Как следствие, уменьшение количества ЭПК и ухудшение их функций приводит к нарушению восстановления целостности эндотелия, что является одним из основных факторов развития и прогрессирования сосудистых заболеваний при различных клинических состояниях [104].

Идентификация ЭПК является сложной задачей. Для выделения их из периферической крови в настоящее время используется 2 подхода: анализ культуры и колониеобразования и выбор субпопуляций на основе поверхностных маркеров [82].

ЭПК, по сегодняшним представлениям, складывается из минимального антигенного состава, включающего один маркер стволовой клетки (обычно CD34 и/или CD133), а также один эндотелиальный маркер (обычно VEGFR-2) с низкой экспрессией или отсутствием ее общего лейкоцитарного антигена CD45.

Одним из основных звеньев формирования физиологической беременности, является ангиогенез, который играет центральную роль в развитии и нормальном функционировании плацентарной ткани. Участвуя в процессах регуляции на этапе формирования плаценты, они обеспечивают полноценное существование фето-плацентарного комплекса. Процессы регуляции ангиогенеза происходят с участием про и антиангиогенных факторов роста. Основными факторами инициации ангиогенеза являются плацентарный фактор роста (PLGF), васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF) и антиангиогенные факторы роста продуцируемые плацентой – рецептор 1 растворимого васкулоэндотелиального фактора роста (s-VEGFR-1) и растворимый эндоглин (s-Eng). Данные факторы роста запускают

процессы адаптации маточно-плацентарного кровотока к возрастающим потребностям плода.

Нарушения ангиогенеза при беременности сопровождаются недостаточностью первой и второй волны инвазии цитотрофобласта и приводят к формированию плацентарной недостаточности, преждевременным родам, развитию преэклампсии [116].

Механизм инициации ангиогенеза возможен также при участии оксида азота, отвечающего за сосудистый тонус. Изменение экспрессии гена сосудисто-эндотелиального фактора роста и NO-синтазы, что может приводить к снижению или, наоборот, неадекватному повышению уровня VEGF и NO может быть обусловлено заменой нуклеотидов в последовательности их генов [18].

За последние десятилетия усилился интерес исследователей к изучению ангиогенных факторов роста как дополнительных диагностических критериев в осложнении монохориальной многоплодной беременности [55].

Исследования показали, что у пациенток с монохориальной беременностью, осложнившейся синдромом фето-фетальной трансфузии в сроках гестации 16-26 недель отмечаются значительно более высокие концентрации в плазме крови матери VEGFR-1, и также значительно более низкое содержание ангиогенных факторов PlGF, VEGF у пациенток без синдрома фето-фетальной трансфузии [87].

По данным Y. Yinon 2014 и соавт, при монохориальной беременности осложненной трансфузионным синдромом и селективной задержкой роста плода наблюдался дисбаланс сосудисто - эндотелиальных факторов роста [148].

В материнской плазме крови концентрации антиангиогенных факторов роста (s-VEGFR-1, s-Eng) при фето-фетальном трансфузионном синдроме были значительно выше по сравнению с нормальным течением монохориальной беременности. При этом образцы материнской плазмы

крови исследовались в сроках беременности 13-20 недель и 21-28 недель. В противоположность в группе с селективной задержкой роста повышение концентрации ангиогенных факторов зарегистрировано только в сроке беременности 21-28 недель. Как показали исследования Chop A.H. et al. (2017), также показана высокая концентрация ангиогенных факторов в сыворотке плазмы крови матерей с фето-фетальным трансфузионным синдромом и отмечено снижение концентрации данных факторов (s-VEGFR-1, s-Eng) после оперативной коррекции данного синдрома [42].

Данные **работы** проводились на небольшой когорте монохориальных двоен и требуются дальнейшие **исследования** в данной области для лучшего понимания патофизиологии осложнений монохориальной многоплодной беременности. В современной литературе нет четких ответов, что является причиной изменения ангиогенного статуса при осложнениях монохориальной многоплодной беременности. Мы полагаем, что дальнейшие исследования в этом направлении помогут лучше понять этиологию, клинические проявления осложнений монохориальной многоплодной беременности.

Остается дискуссионным вопрос роли ангиогенных и ангиогенных факторов роста, эндотелиальной дисфункции в патогенезе синдрома фето-фетальной трансфузии. Механизмы формирования осложнений монохориальной беременности остаются непонятными. Роль ангиогенных факторов, описанных в литературе, до конца не ясна, что определяет актуальность проведения дальнейших исследований в этой области акушерства.

## ГЛАВА 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Дизайн исследования

Работа выполнена на базе ФГБУ «НИИ ОММ» МЗ РФ в 2015 – 2019

В исследование были включены 122 пациентки с монохориальной диамниотической двойней. Исходно все пациентки были разделены на три группы в зависимости от наличия следующих осложнений беременности: ФФТС, СЗР одного из плодов и группа сравнения без вышеуказанных осложнений. Формирование групп основывалось на сплошной выборке. Учитывались критерии включения и исключения.

**Группа 1 (n=45)**, пациентки с ФФТС( TOPS и TAPS).

В первую группу вошли пациентки с монохориальной диамниотической двойней, у которых течение беременности во втором триместре осложнилось формированием ФФТС. Диагноз ФФТС устанавливался на основании общепринятой классификации R. Quintero по данным УЗИ [96].

**Группа 2 (n=27)**, пациентки с СЗР плода

Во вторую группу вошли пациентки, у которых течение беременности осложнилось формированием СЗР одного из плода в монохориальной двойне. Диагноз СЗР устанавливался при наличии диссоциации в массе плодов более 25% по данным УЗИ, или при уменьшении диаметра окружности живота менее 10 перцентили для предполагаемого срока беременности [44].

**Группа 3 (n=50)**, пациентки группы сравнения (монохориальная двойня без ФФТС и СЗР).

В третью группу вошли пациентки, с монохориальной двойней у которых при беременности по данным УЗИ не отмечались осложнения в виде ФФТС и СЗР плода из двойни.

**Критерии включения пациенток в исследование:**

- пациентки с монохориальной диамниотической двойней без тяжелой соматической патологии.

**Критерии исключения:**

- тяжелая экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации
- ФФТС I и V стадии
- преэклампсия
- наличие тяжелых врожденных пороков развития у плода(ов).
- отказ от обследования и лечения

Фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов выполнялась при наличии II и не более IV стадии, в сроке беременности от 16 до 26 недель, согласно международным рекомендациям [33].

Для выполнения фетоскопии использовали комплект оборудования и инструментов фирмы «Карл Шторц», АИГ-лазер «Дорнье». Для доступа в амниотическую полость использовали прямой и изогнутый троакар диаметром 3.9 мм со стилетами. Доступ осуществлялся через все слои передней брюшной стенки в амниотическую полость плода реципиента. При локализации плаценты по передней стенке матки использовался изогнутый троакар, а при локализации плаценты по задней стенке матки применялся прямой троакар. Для коагуляции плацентарных анастомозов использовали хирургический полупроводниковый АИГ – лазер «Dornier Medilia fiberto 5100» 1 mWt, устанавливали мощность 45-50 Ватт в режиме лапароскопия + абляция. Перед началом непосредственно коагуляции в обязательном порядке определяли межплодовую перегородку и тщательно отслеживали все сосуды, пересекающие ее. Ход сосудов по возможности просматривали до зоны анастомозов. Обращали внимание не только на количество, но тип анастомозов (артерио-артериальный, артерио-венозный, вено-венозный) и диаметр сосудов.

Хирургическая коррекция ФФТС осуществлялась под эндотрахеальным наркозом под медленной инфузией гинипрала, в условиях эндоскопической

операционной при ультразвуковом мониторинге. При госпитализации в стационар проводилось стандартное клинико-лабораторное обследование, с обязательным исследованием бактериологического посева из цервикального канала. На федеральном пренатальном акушерском консилиуме обсуждались показания для оперативной коррекции ФФТС в обязательном порядке, проводилась беседа с пациенткой, оформлялось письменное информированное согласие на операцию.

В послеоперационном периоде по показаниям проводилась антибактериальная терапия, токолитики (гинипрал), терапия гестагенами. Контрольное УЗИ проводилось на 1-е, 3-е, 7 –е сутки после операции. Эффективность операции оценивалась по двум критериям: течение и исход самой операции и раннего послеоперационного периода, а также исход беременности. Благоприятным исход считался, в случае рождения хотя бы одного живого плода [90].

**Методология исследования:** сплошное проспективное, когортное, контролируемое исследование.

Исследование было одобрено локальным этическим комитетом, у беременных получено информированное согласие на участие в исследовании.

Рис 1-Дизайн исследования



## 2.2 Методы исследования

### 2.2.1. Общеклинические исследования

Оценка состояния женщин включала анализ соматического, акушерско-гинекологического анамнеза. Учитывали возраст матери, особенности течения предшествующей беременности и родов, анализ применения методов внутриутробной хирургии в группе пациенток с ФФТС, способ родоразрешения. При клинической оценке состояния новорожденных – гестационный возраст, морфо-функциональную зрелость, антропометрические данные, оценку по шкале Апгар, необходимость в проведении реанимационных и других медицинских мероприятий.

### 2.2.2. Лабораторные методы исследования.

Всем беременным в сроке гестации 16-22 недель проводился общий анализ крови (определение гемоглобина, количества форменных элементов периферической крови, лейкоцитарной формулы) с использованием



гематологических анализаторов «Cell-Dyn 1700R» (США) и «HORIBA ABX Micros 60» (Франция).

Определялись биохимические показатели (уровень белка, сахара, билирубина, уровня АЛТ/ АСТ) на анализаторах «Sapphire 400» (Япония), «SpotChem EZ» (Япония).

Лабораторная диагностика системы гемостаза осуществлялась на коагулографе серии Helena, модель Helena AC-4 (HELENA BioSciences Europe, Великобритания) использовались реагенты и расходные материалы к коагулографу серии Helena (HELENA BioSciences Europe, Великобритания) и тромбоэластографу TEG, рег. номер ФС№2006/2518, США, расходные материалы для TEG ФС№2006/2519, США.

Для оценки состояния плазменного звена гемостаза определялось активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), тромбиновое время (ТВ), фибринолитическая активность по скорости лизиса эуглобулинов плазмы (ФА), уровень фибриногена (ФГ), международное нормализованное отношение (МНО), признаки тромбинемии – растворимые комплексы фибрин-мономеров (РФМК).

### **2.2.3. Молекулярно-генетические методы исследования**

В работе изучено 4 полиморфных вариантов локусов в генах ангиогенеза и в генах регуляции сосудистого тонуса. Оценку генетических полиморфизмов NOS3: 786 T>C и 894G>T и гена VEGF A-2578 C>A и 936 C>T проводили методом ПЦР в режиме реального времени с использованием детектирующего амплификатора ДТ-96 с автоматическим программным обеспечением ООО «НПО ДНК-Технология» (Россия). Для генотипирования исследовали венозную кровь. ДНК выделяли с помощью реагентов «Проба ГС-Генетика». Из 0,5 мл крови, взятой в пробирку с ЭДТА в качестве антикоагулянта. В исследование брали не менее 1,0 нг геномной ДНК на реакцию. Затем проводили ПЦР в режиме «реального времени» с использованием комплекта реагентов и протоколов ООО «ТестГен» (Россия).

Детекцию флуоресценции осуществляли « по конечной точке» согласно протоколу детектирующего амплификатора ДТ-96 (НПО «ДНК-Технология», Россия). Анализ полученных данных проводился согласно рекомендациям в инструкции по применению набора реагентов для генотипирования полиморфных маркеров ООО «ТестГен» (Россия).

#### **2.2.4. Исследование концентрации сосудисто-эндотелиальных факторов.**

Содержание васкуло-эндотелиального фактора роста (VEGF), плацентарного фактора роста (PLGF), эндоглина (sEnd) определяли с помощью коммерческих тест-систем «Bender Medsystems» (Австрия); концентрацию эндотелина-1 – с помощью тест-систем фирмы «Biomedica» (Австрия) методом иммуноферментного анализа. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (NO) (эндогенного нитрита (NO<sub>2</sub>), общего нитрита (NO<sub>2</sub>) и нитрата (NO<sub>3</sub>) –спектрофотометрическим методом, в реакции Грисса, с помощью тест-систем «R&D Systems» (США). Детекцию проводили на иммуноферментном анализаторе «Wallac 1420 (Victor2)» фирмы «PerkinElmer» (Финляндия). Иммунофенотипирование прогениторных эндотелиальных клеток (CD133+CD34+ и CD309+CD34+) осуществляли методом проточной лазерной цитофлуориметрии на анализаторе «FACS Calibur» фирмы «Becton Dickinson» (США) с использованием наборов моноклональных антител того же производителя.

Исследование концентрации ангиогенных факторов, проводили во втором триместре беременности в промежутке от 16 до 22 недель гестации и непосредственно перед родоразрешением.

#### **2.2.5. Клиническая характеристика новорожденных**

Характеристика состояния новорожденного включала оценку по шкале Апгар на момент рождения, определение весо-ростовых параметров, комплексное клинико-лабораторное обследование.

#### **2.2.6. Морфологическое исследование плацент**

При макроскопическом исследовании последов осуществлялась органометрия и давалось описание последа, как в целом, так и его компонентов: материнской поверхности, оболочек, пуповины, учитывая ее место отхождения. Характеризовалось состояние тканей на параллельных разрезах.

После гистологической проводки производилось микроскопическое исследование взятых образцов тканей. Оценивалось соответствие структурных компонентов плаценты сроку гестации, уточнялись морфологические признаки, характеризующие как наличие плацентарной недостаточности, так и степень ее выраженности. Устанавливались особенности компенсаторно-приспособительных реакций со стороны материнского и плодового русла кровообращения.

Для оценки плацентарной гипоксии изучали состояние синцитио-капиллярных мембран (СКМ) – основного места обмена крови между матерью и плодом. Выраженность СКМ определяли по их количеству в терминальных ворсинках плаценты в поле зрения микроскопа при увеличении 200.

#### **2.2.7. Методы статистической обработки данных**

**Статистические методы анализа.** Статистическую обработку материала проводили при помощи пакета программ «STATISTICA 7.0». Проверку нормальности распределения признаков осуществляли с использованием критерия Хи-квадрат.

При анализе количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, использовали непараметрические методы –

критерий Краскела-Уоллиса, затем переходили к попарным сравнениям с использованием критерия Манна-Уитни, данные представляли в виде медианы (Me), верхнего (P25) и нижнего (P75) квартилей. Качественные показатели сравнивали с использованием критерия хи-квадрат. Для оценки зависимости между количественными переменными использовали коэффициент корреляции Спирмена, между качественными и количественными переменными – коэффициент корреляции Кендалл-тау. Для оценки корреляционных взаимосвязей уровень значимости  $p$  принимали за 0,05. Силу ассоциаций оценивали в значениях показателя соотношения шансов Odds Ratio (OR). Тест на соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга в выборках проводили с помощью критерия  $\chi^2$  с использованием программы Hardy-Weinberge quilibrium. Прогнозирование проводилось с помощью общего дискриминантного анализа.

### **Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1 Клиническая характеристика, течение беременности у пациенток исследуемых групп пациенток.**

При изучении анамнеза женщин с монохориальной беременностью были выявлены следующие особенности.

В 51,6 % случаев женщины были направлены в НИИ ОММ из других областей и регионов Российской Федерации. Преимущественно (85,2 %) пациентки были городскими жителями. Высшее образование имели 22,2 % женщин основных групп и 20 % в группе сравнения ( $p > 0,05$ ).

Многоплодная беременность в исследуемых группах в 57% случаев наступила у женщин старше 30 лет. Согласно полученным данным средний

возраст в первой группе составил  $30,1 \pm 5,2$  лет, во второй группе  $29 \pm 5,5$  лет, в третьей группе  $30,6 \pm 4,3$  лет ( $p > 0,05$ ).

Анализ антропометрических данных обследованных женщин не выявил статистически значимых различий в росто-весовых показателях. Масса тела женщин составила  $66,6 \pm 12,8$  кг,  $70,8 \pm 17,3$  кг,  $69,1 \pm 14,7$  кг, рост –  $162 \pm 8,4$  см,  $164,7 \pm 6,3$  см и  $164,5 \pm 7,1$  см, соответственно в первой, второй и третьей группах ( $p > 0,05$  во всех случаях).

Большинство женщин основных групп и группы сравнения были соматически здоровы. В структуре хронических заболеваний доминировали болезни органов пищеварения. В группе женщин с СЗР-плода в два раза чаще регистрировались болезни эндокринной системы, нарушения питания и обмена веществ, однако статистически значимых различий между группами не выявлено ( $p > 0,05$  во всех случаях), (таблица.3).

Таблица 3 – Структура соматической патологии

Класс заболеваний по МКБ	1-я группа (n=45)		2-я группа (n=27)		3-я группа сравнения (n=50)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Класс IV. Болезни эндокринной системы, расстройства питания и нарушения обмена веществ	6	13,3	7	25,9	9	18
Класс IX. Болезни системы кровообращения	9	20	4	14,8	10	20
Класс XI. Болезни органов пищеварения	15	33,3	10	37,3	19	38
Класс XIV. Болезни мочеполовой системы	7	15,5	3	11,1	7	14
Класс X. Болезни органов дыхания	6	13,3	2	7,4	5	10

Примечание: p-уровень значимости различий между группами  $p > 0,05$  – во всех случаях

Характеристика менструального цикла у исследуемых групп женщин представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристика менструального цикла

Параметры	1-я группа (n=45)	2-я группа (n=27)	3-я группа сравнения (n=50)
Возраст менархе, лет	14 ±1,9	13±1,0	13,6±1,3
Цикл менструальный, сутки	28±1,9	28±2,0	27,7±1,7
Длительность менструации, сутки	5±0,8	5±1,0	4,7±1,1
Начало половой жизни, лет	18±2,4	18±3,0	17,7±1,8

Примечание: p–уровень значимости межгрупповых различий >0,05 во всех случаях

При анализе гинекологического анамнеза установлено, что начало менархе, продолжительность менструального цикла, начало половой жизни у женщин исследуемых групп не отличались ( $p>0,05$ ).

В структуре гинекологических болезней в первой группе доминировали заболевания шейки матки в 2,2 раза выше по сравнению со второй группой. Во второй группе женщин достоверно чаще наблюдалось бесплодие в анамнезе в 3,7 и 2,8 раза чаще по сравнению с первой и третьей группой ( $p<0,05$ ), (таблица 5).

Таблица 5– Гинекологические заболевания .

Параметры	1-я группа (n=45)		2-я группа (n=27)		3-я группа сравнения (n=50)		Уровень p
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Миома матки	3	6,6	2	7	2	4	$P_{1-2}=0,9$ $P_{1-3}=0,5$ $P_{2-3}=0,5$

Внутренний и наружный эндометриоз	1	2,2	-	-	1	2	$P_{1-2}=0,4$ $P_{1-3}=0,9$ $P_{2-3}=0,4$
Заболевания шейки матки	7	15,6	2	7	8	16	$P_{1-2}=0,3$ $P_{1-3}=0,9$ $P_{2-3}=0,2$
Бесплодие в анамнезе	4	8,9	9	33,3	6	12	$P_{1-2}=0,01$ $P_{1-3}=0,6$ $P_{2-3}=0,02$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

В структуре акушерского анамнеза обследованных женщин в первой группе с ФФТС доминировали повторнородящие, во второй группе – первородящие ( $p_{1-2}$ ,  $p_{2-3} < 0,001$ ). В группе сравнения количество перво- и повторнородящих не отличалось (таблица 6).

Таблица 6 - Структура акушерского анамнеза у пациенток с монохориальным двойнями

Акушерский анамнез	1-я группа (n=45)		2-я группа (n=27)		3-я группа сравнения (n=50)		Уровень значимости
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Первородящие	12	26,6	19	70,3	25	50	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,05$
Повторнородящие	33	73,4	8	29,7	25	50	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,02$
Многорожавщие (более 3 родов в анамнезе)	3	6,6	1	3,7	4	8	
Медицинский аборт	9	20	2	7,4	10	20	
Рубец на матке от операции кесарево сечение	5	11,1	3	11,1	9	18	
Самопроизвольный выкидыш	3	6,6	-	-	3	6	

Регрессирующая беременность	7	15,5	1	3,7	6	12	
Беременность, наступившая в результате ВРТ	2	4,4	7	25,93	5	10	$P_{1-2}=0,008$ $P_{1-3}=0,3$ $P_{2-3}=0,103$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Беременность в результате ВРТ во второй группе в 5,8 и 2,6 раза чаще регистрировалась по сравнению с первой и третьей группой ( $P_{1-2}<0,05$ ,  $p_{2-3}>0,05$ ).

Регрессирующая беременность в анамнезе в группе женщин с ФФТС наблюдалась в 4,1 и в 1,2 раза чаще по сравнению со второй и третьей группой ( $p>0,05$ ).

Статистически значимых различий в частоте медицинских аборт, самопроизвольного прерывания беременности не выявлено ( $p>0,05$  во всех случаях).

Кесарево сечение в анамнезе отмечалось во всех группах женщин с одинаковой частотой ( $p>0,05$ ).

Анализ клинического течения настоящей беременности показал, что в структуре патологических состояний у всех обследованных женщин превалировала анемия беременных – 60 %, 51,8% и 40% случаев соответственно в первой, второй и третьей группах ( $p<0,05$ ) (таблица.7).

Угроза прерывания беременности с формированием истмико-цервикальной недостаточности наблюдалась в 1,2 и 1,4 раза чаще в группе женщин с ФФТС ( $p>0,05$ ). Повышенная частота формирования ИЦН в первой группе была обусловлена наличием многоводия у плода реципиента, что приводит к дополнительной механической нагрузке на шейку матки. Согласно зарубежным авторам у беременных с ФФТС наблюдается высокая частота формирования ИЦН, а также укорочение длинны шейки матки, что является одним из факторов риска неблагоприятного исхода беременности



после оперативной коррекции синдрома трансфузии, особенно при длине шейки матки менее 20 мм [40,106].

Таблица 7- Особенности клинического течения беременности у пациенток с монохориальной многоплодной беременностью

Параметры	1-я группа (n=45)		2-я группа (n=27)		3-я группа сравнения (n=50)		Уровень значимости
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	
Анемия беременных	27	60	14	51,8	20	40	$P_{1-2}=0,5$ $P_{1-3}=0,8$ $P_{2-3}=0,4$
Плацентарная недостаточность с НМПК 1Б ст	3	6,6	10	37	1	2	$P_{1-2}<0,001$ $P_{1-3}=0,8$ $P_{2-3}<0,001$
Угроза прерывания беременности с формированием ИЦН	19	42,2	9	33,3	15	30	$P_{1-2}=0,4$ $P_{1-3}=0,2$ $P_{2-3}=0,7$
ГСД	7	15,5	4	14,81	7	14	$P_{1-2}=0,4$ $P_{1-3}=0,2$ $P_{2-3}=0,7$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Субкомпенсированная плацентарная недостаточность с нарушением маточно-плацентарного кровообращения (НМПК) 1Б степени наблюдалась у женщин с СЗР плода в 5,6 и 18,5 раза чаще относительно показателей женщин с ФФТС и группы сравнения ( $p<0,001$ ).

При исследовании гематологических показателей крови во II триместре выявлены следующие особенности: в первой и третьей группах женщин наблюдается снижение средней концентрации гемоглобина в крови ( $P_{2-3}<0,04$ ,таблица 8).

Таблица 8 - Показатели красной крови во II триместре беременности

Параметр общего анализа	1-я группа	2 группа	3 группа	Уровень
-------------------------	------------	----------	----------	---------

крови, ед. изм.	(n=45)	(n=27)	сравнения (n=50)	значимости(p)
эритроциты, $\times 10^{12}/л$	3,62(3,45-3,89)	3,81(3,58-3,94)	3,72(3,4-3,89)	
гемоглобин, г/л	109(100-114)	111,5(103,7-117,2)	104(100,7-113)	$P_{2,3}=0,04$
гематокрит в %	34,1(31,3-35,6)	34,7(32-36,25)	33,3(30,9-35,5)	
лейкоциты, $10^9/л$	8,59(7,6-9,72)	9,15(7,55-10,3)	9,1(7,65-11,56)	
нейтрофилы в %	72,35(68,55-75,73)	73,7(71,88-75,65)	72,6(69,45-75,15)	$P_{1,2}=0,04$
эозинофилы в %	1,1(0,8-1,85)	1,45(1,2-1,68)	1,5(1-2,25)	
моноциты в %	5,85(5,13-7,13)	6,25(5,88-7,35)	6(4,95-7)	
лимфоциты в %	18,7(16,3-22,2)	18,35(16,08-19,7)	19(17,6-21,8)	
СОЭ мм/час	39(33,75-45,75)	33(27-38)	39(31-44)	

Примечание:  $P_{1,2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1,3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2,3}$  - между 2 и группой сравнения.

У женщин с осложненной монохориальной двойней в сравнении с женщинами третьей группы, статистически значимых различий не выявлено, за исключением более высокой концентрации нейтрофилов в ОАК, обнаруженной у женщин с СЗР плода по сравнению с группой женщин с ФФТС ( $p_{1,2}<0,05$ ).

Оценка системы гемостаза показала, что в группе женщин с ФФТС и СЗР плода наблюдались признаки гиперкоагуляции, более высокие показатели РФМК, ПТИ относительно показателей группы сравнения ( $p<0,05$ ), (таблица 9).

Таблица 9 - Сравнительная характеристика показателей гемостаза во втором триместре монохориальной беременности

Параметры	1-я группа (n=45)	2-я группа (n=27)	3-я группа сравнения (n=50)	Уровень значимости (p)
Тромбоциты	244(187,7-270)	225(200,5-258,2)	233(210,2-273,5)	
Фибриноген, г/л	4,6(4,3-5,3)	4,4(4,0-4,7)	4,8(4,28-5,03)	
РФМК, мг/%	17(14-22)	17(11-19)	15(11-19)	$P_{1,3}=0,05$
ТВ, сек	14,4(13,8-14,75)	14,3(13,9-14,8)	14,1(13,8-14,4)	
АЧТВ,сек	27,5(26,35-31,3)	28,1(26,43-31,48)	26,8(24,75-28,45)	

ПТИ %	101,4(95-107,7)	100(92,55-103,6)	95,6(93-98,5)	P <sub>1-3</sub> =0,02
МНО, %	1(0,93-1,07)	1,01(0,97-1,09)	1,06(1,04-1,08)	

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub>- между 2 и группой сравнения.

Статистически значимых различий в остальных показателях гемостаза указанных в таблице не выявлено (p>0,05).

При анализе результатов биохимических показателей крови высокие уровни печеночных ферментов АЛТ/АСТ наблюдались в группе женщин с ФФТС по сравнению со второй группой женщин и группой сравнения (p<0,005), (таблица 10). При этом в 26,6% (n=12) случаев концентрация АЛТ и АСТ у женщин этой группы превышала нормативные значения (37 Ед/л).

Таблица 10 - Сравнительная характеристика показателей биохимического анализа крови во втором триместре беременности

Параметр, ед. изм.	1-я группа (n=45)	2-я группа (n=27)	3-я группа сравнения (n=50)	Уровень значимости (p)
Общий белок, г/л	62,1(59,93-64,4)	61,51(58,5-64)	62(58,75-65,2)	
Альбумин, г/л	36,95 (35,3-38,7)	39(37,7-39,8)	36,9(35,1-38,3)	P <sub>1-2</sub> =0,02 P <sub>2-3</sub> =0,02
Креатинин, мкмоль/л	59,15(57,9-61,5)	59,25(57,4-61,7)	59,3(57,63-61,4)	
Мочевина, ммоль/л	2,05(1,8-2,78)	2,3(2,0-2,65)	2,35(2-2,9)	
Билирубин общий, мкмоль/л	7(5,78-8,68)	6,5(5-11,15)	7,8(6,0-10,9)	
Глюкоза, ммоль/л	4,4(4,08-4,63)	4,16(3,78-4,58)	4,3(4,0-4,56)	
АСТ, Ед/л	26(18,25-45)	21(18,75-25,2)	21,5(16-29,5)	P <sub>1-2</sub> =0,01 P <sub>1-3</sub> =0,01
АЛТ, Ед/л	24,6(19-66)	21(16,75-25,35)	18(13,38-25,5)	P <sub>1-3</sub> =0,01 P <sub>1-2</sub> =0,02

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub>- между 2 и группой сравнения.

С повышением уровня печеночных ферментов при беременности возрастает риск преждевременных родов, появления околоплодных вод окрашенных меконием, респираторного дистресс-синдрома и мертворождения

Wood A, Livingston E, Hughes B, Kuller J. Intrahepatic Cholestasis of Pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 2018;73(2):103-109. doi:10.1097/ogx.0000000000000524

Статистически значимых различий в содержании общего белка, креатинина, глюкозы, билирубина у женщин сравниваемых групп не выявлено ( $p > 0,05$ ).

### **3.2. Анализ оперативной коррекции**

С целью коррекции ФФТС в первой группе женщин согласно протоколу по ведению монохориальной беременности было проведено оперативное вмешательство способом фетоскопии и лазерной коагуляции плацентарных анастомозов (ФЛКПА) при наличии II-IV стадии ФФТС.

В данном исследовании из 45 пациенток с ФФТС: 8 (17,7%) пациенток имели II стадию синдрома трансфузии, 29 (64,4%) женщин – III стадию, одна (4,5%) пациентка – IV стадию ФФТС и 7 (15,5 %) женщин ФФТС (ТАРС). В большинстве случаев у женщин преобладала III стадия (64,4%), что свидетельствует о запоздалой диагностике на амбулаторном этапе, когда уже имеются выраженные гемодинамические нарушения в виде нулевого или

отрицательного диастолического кровотока в артерии пуповины. В одном из наблюдений имела место IV стадия, когда тяжелое течение ФФТС привело к формированию гидроперикарда, кардиомегалии у плода реципиента.

Средний срок беременности, при котором выполнялась операция, в данном исследовании составил  $19,6 \pm 2,1$  недель, минимальный срок гестации составил 16 недель, максимальный срок гестации при котором выполнялось оперативное вмешательство – 24 недели, что согласуется с общепринятыми рекомендациями [90,102, 149].

В большинстве случаев в 71,2 % плацента локализовалась по задней стенке матки. В среднем длительность операции составила  $44,2 \pm 19,2$  минут. Амниоредукция практически во всех случаях проводилась однократно, в двух случаях была необходимость проведения амниоредукции повторно в связи с выраженным многоводием плода реципиента. В среднем объем редукции околоплодных вод составил  $838,4 \pm 565$  мл.

Наибольшее количество коагуляции анастомозов проводилось при III стадии ФФТС (TOPS). противоположность этому, при ФФТС (TAPS) регистрировалось наименьшее количество анастомозов (таблица 11).

Таблица 11 - Количество анастомозов и стадии ФФТС

Стадия и формы ФФТС	Количество анастомозов. Общее								
	До 3			До 5			Более 5		
	А-А	А-В	В-В	А-А	А-В	В-В	А-А	А-В	В-В-
II	3	4	8	4	4	-	1	2	-
III	13	12	29	13	13	-	3	4	-
IV	-	1	-	1	-	-	-	1	-
TAPS	4	4	7	2	2	-	-	-	-

Первым признаком эффективности оперативного вмешательства считали появление эхо-тени мочевого пузыря у плода донора на последующие сутки по УЗИ. В дальнейшем, с увеличением прошедшего

после операции времени, регистрировалось исчезновение маловодия у донора, нормализация пуповинного кровотока и уменьшение диссоциации плодов в массе.

Превалирующее количество пациентов были родоразрешены двумя живыми плодами при наличии II стадии ФФТС (ТОПС), а наименьшее количество пациентов – у пациентов с ФФТС (ТАПС) (таблица 12).

**Примечание [ААЭ1]:** Сколько пациентов с ТОПС и ТАПС

Таблица 12 - Исходы беременности после ФЛКПА у пациенток с ФФТС

**Примечание [ААЭ2]:** Описать исходы перинатальные

Стадия и форма ФФТС (n=45)	Двое живых детей		Один живой ребенок		Выживаемость одного или двух плодов		Излитие околоплодных вод, включая выкидыш		Внутриутробная гибель плодов		Неблагоприятный исход	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Общее количество	22	48,8	12	26,7	34	75,5	4	8,8	7	15,5	11	24,5
II	5	11,1	2	4,4	7	15,5	-	-	1	2,2	1	2,2
III	13	28,8	9	20	22	48,8	4	8,8	3	6,6	7	15,5
IV	1	2,2	-	-	1	2,9	-	-	-	-	-	-
ТАПС	3	6,6	1	2,2	4	8,8	-	-	3	6,6	3	6,6

Из дополнительных методов оперативной коррекции в раннем послеоперационном периоде ФФТС необходимо отметить следующие оперативные вмешательства: лазерную коагуляцию сосудов пуповины, диагностический кордоцентез с последующим внутриутробным внутрисосудистым переливанием крови плоду. Коагуляция сосудов пуповины плода донора проводилась в четырех случаях: в одном случае в связи с критическим состоянием плода и в трех случаях в связи с формированием синдрома анемии и полицитемии в послеоперационном

периоде, что в дальнейшем способствовало пролонгированию беременности одним плодом. В трех случаях проводился диагностический кордоцентез с последующим внутриутробным внутрисосудистым переливанием крови в связи с диагностированной тяжелой анемией.

Примечание [ААЭЗ]: Вставить таблицу

В послеоперационном периоде госпитализация продолжалась не менее 7 дней. Всем беременным в послеоперационном периоде проводилась сохраняющая терапия гестагенами, токолитики не менее 3 дней (гинипрал), антибактериальная терапия. При выписке рекомендовалось контроль УЗИ не менее чем каждые 14 дней, госпитализация в критические сроки в 22-23, 27-28 недель, и непосредственно перед родоразрешением.

При оценке результатов эффективности, положительный исход беременности наблюдался в 75,5 % случаев, что согласуется с данными зарубежных авторов [69].

У 11 (24,5%) пациенток регистрировался неблагоприятный исход беременности ввиду таких осложнений раннего послеоперационного периода, как преждевременный разрыв плодных оболочек, антенатальная гибель обоих плодов. В дальнейшем беременность была завершена медикаментозной индукцией плодоизгнания.

Как известно при наличии плаценты по передней стенке матки наблюдаются определенные трудности в технике и методике проведения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов. В данном исследовании при локализации плаценты по передней стенке матки неблагоприятный исход беременности наблюдался в 33,3 %(n=4) случаев против 21,1%(n=7) задней стенке. Достоверных различий в исходах беременности в зависимости от локализации плаценты не выявлено ( $p>0,05$ ).

Таким образом, при изучении исходов беременности количество осложнений зависело от типа и тяжести ФФТС, наибольшее количество осложнений в раннем послеоперационном периоде наблюдалось при ФФТС (TOPS) III стадия, ФФТС (TAPS).

### 3.3. Анализ способов родоразрешения и перинатальных исходов у пациенток исследуемых групп.

Доминирующее большинство пациенток трех групп родоразрешены способом операции кесарева сечения, что в среднем составило 77,3 %. В группе женщин с ФФТС практически в трети случаев наблюдались роды одним плодом через естественные родовые пути, после антенатальной гибели плода из двойни. Из них практически в половине случаев наблюдались роды в доношенном сроке беременности. Во второй группе женщин с СЗР-плода в одном случае беременность завершилась в доношенном сроке самостоятельными родами. В третьей группе роды через естественные родовые пути наблюдались у 4 (8%) женщин ( $P_{1-2}<0,002$ ,  $P_{1-3}<0,001$ ) (таблица 13).

Таблица 13 – Структура способов родоразрешения у женщин исследуемых групп.

Изучаемый параметр.	1-я группа (n=45)		2 группа (n=27)		3 группа сравнения (n=50)		Уровень значимости(p).
	abc	%	abc	%	abc	%	
Родоразрешены всего	<b>34</b>	75,5	<b>27</b>	100	<b>50</b>	100	
<b>Роды per vias naturales из них</b>	<b>13</b>	28,9	<b>1</b>	3,7	<b>4</b>	8	$P_{1-2}<0,002$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}<0,4$
Роды срочные	<b>6</b>	13,3	<b>1</b>	3,7	<b>1</b>	2	$P_{1-2}=0,348$ $P_{1-3}=0,053$ $P_{2-3}=0,261$
Роды преждевременные	<b>7</b>	15,6	-	-	<b>3</b>	6,0	$P_{1-3}=0,865$
<b>Оперативные роды (кесарево сечение(24-36,6 нед.) из них).</b>	<b>21</b>	46,6	<b>26</b>	96,3	<b>46</b>	90	$P_{1-2}<0,002$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}<0,4$
Очень ранние (до 28 недель)	<b>3</b>	6,7	<b>2</b>	7,4	<b>1</b>	2	$P_{1-2}=0,463$ $P_{1-3}=0,053$ $P_{2-3}=0,261$
Ранние преждевременные роды (28-30,6 недели)	<b>5</b>	11,1	<b>4</b>	14,8	<b>1</b>	2	$P_{1-2}=0,466$ $P_{1-3}=0,005$



							$P_{2-3}=0,03$
Преждевременные роды (31-33,6 недель)	<b>6</b>	13,3	<b>11</b>	40,7	<b>4</b>	8	$P_{1-2}=0,33$ $P_{1-3}=0,03$ $P_{2-3}<0,001$
Поздние преждевременные роды (34-36 недель 6 дней)	<b>7</b>	15,6	<b>9</b>	33,3	<b>40</b>	80	$P_{1-2}=0,927$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}<0,001$
<b>Индукцированный выкидыш, из них</b>	<b>11</b>	24,4	-	-	-	-	

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Способом операции кесарева сечения до 28 недель беременности родоразрешились не более 7,4 % всех исследуемых женщин. Ранние преждевременные роды до 31 недель гестации не превышали 14,8 % случаев в первой и второй группах, в группе сравнения наблюдались у 4,4 % ( $n=1$ ) женщины ( $P_{1-3}=0,005$ ).

Абдоминальные преждевременные роды в группе женщин с ФФТС регистрировались в 1,6 чаще, чем у пациенток группы сравнения. Во второй группе женщин оперативные роды в данных сроках беременности наблюдались в 5 раз достоверно чаще по сравнению с третьей группой женщин ( $P_{1-3}=0,005$ ,  $P_{2-3}<0,00$ ), (таблица 13).

В сроке гестации 34-36,6 недель частота оперативных родов в первой и второй группе не превышала 9%, а в группе сравнения наблюдалась в 4 раза чаще ( $P_{1-3}<0,001$ ,  $P_{2-3}<0,001$ ).

В первой группе женщин в связи антенатальной гибелью плодов и преждевременным разрывом плодных оболочек после фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов в 11 случаях беременность завершена поздним индуцированным выкидышем.

При изучении **числа оперативных родов** в группе пациенток с ФФТС четыре из десяти беременных были родоразрешены абдоминальным путем. Во второй и третьей группе практически девять пациенток из десяти были

родоразрешены способом операции кесарева сечения в плановом порядке ( $P_{1-2}<0,001$ ,  $P_{1-3}<0,001$ ), (таблица 14).

В первой группе женщин основными показаниями к плановому абдоминальному родоразрешению явилось наличие рубца на матке или неправильное членорасположение одного из плодов.

Во второй группе женщин с СЗР плода основными показаниями к плановым абдоминальным родам явилось наличие суб-, декомпенсированной плацентарной недостаточности при наличии СЗР одного из плода. В группе сравнения наличие рубца на матке, неправильного членорасположения плодов, сочетание показаний в виде, монохориального типа плацентации и отягощенного акушерского анамнеза, отсутствие условий для программированных родов, хроническая гипоксия плода, сопутствующая соматическая патология в сроке гестации 34-36 недель ( $P_{1-2}<0,001$   $P_{1-3}<0,001$ ), (таблица 14).

Таблица 14 – Структура показаний для родоразрешения у женщин исследуемых групп.

Изучаемый параметр	1-я группа (n=21)		2-я группа (n=26)		3-я группа (n=46)		Уровень значимости(p).
	Число	Процент	Число	Процент	Число	Процент	
<b>Кесарево сечение плановое - показания из них</b>	<b>4</b>	<b>19,0</b>	<b>23</b>	<b>88,4</b>	<b>41</b>	<b>89,1</b>	$P_{1-2}<0,001$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}=0,9$
Неправильное членорасположение, тазовое предлежание	2	8,5	2	7,6	8	17,3	
Хроническая фетоплацентарная недостаточность, из них:							
НМПК 3 степени			3	11,5			
НМПК 1 Б ст (субкомпенсированная)			7	26,9			
СЗР плода			11	42,3			

Острая гипоксия плода							
Рубец на матке от операции кесарева сечения	2	8,5			8	17,3	
<b>Другие показания к абдоминальному родоразрешению</b>					25	54,3	
<b>Экстренное,</b>	<b>17</b>	<b>80,9</b>	<b>3</b>	<b>11,5</b>	<b>5</b>	<b>10,8</b>	$P_{1-2}<0,001$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}=0,9$
Преждевременный разрыв плодного пузыря	10	47,6	1	3,8	3	6,5	$P_{1-2}<0,001$ $P_{1-3}<0,001$ $P_{2-3}=0,478$
АГП плода из двойни	1	4,2					
Рецидив ФФТС	5	23,8					
Преждевременная отслойка плаценты	1	4,2	2	7,6			
Острая гипоксия плода							
Слабость родовой деятельности					1	4,6	
<b>Индукцированный выкидыш, из них</b>	<b>11</b>	<b>24,4</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	
АГП обоих плодов после ФЛКПА	7	15,5					
ПРПП	4	8,8					

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

При изучении структуры оперативных родов в группе женщин с ФФТС преобладали экстренные показания к родоразрешению которые регистрировались в 2,2 и 1,6 раза чаще по сравнению со второй и третьей группой ( $P_{1-2}<0,001$ ,  $P_{1-3}<0,001$ ), (табл.14). В первой группе достоверно чаще регистрировались осложнения беременности, что явилось показаниями к экстренному родоразрешению в виде преждевременного излития околоплодных вод и рецидива ФФТС ( $P_{1-2}<0,001$ ,  $P_{1-3}<0,001$ ).

### 3.4. Клиническая характеристика новорожденных от женщин с монохориальной беременностью.

В соответствии с поставленными задачами проанализированы перинатальные исходы у 49 и 44 новорожденных первой и второй групп и у 60 детей группы сравнения.

Для детального изучения перинатальных исходов новорожденные первой группы разделены на реципиента и донора. Во второй группе для оценки новорожденных, дети были разделены на детей с задержкой роста и без задержки роста. В группе сравнения разделения детей не проводилось, ввиду отсутствия ФФТС и СЗР плода, и новорожденные оценивались в общей массе.

В группе женщин с ФФТС родилось 49 новорожденных от 34 матерей, из них в 69,3 % (n=34) наблюдались роды двумя живыми детьми, в 6,6% (n=3) случаев только новорожденным донором, в 35,5 % (n=12) случаях только реципиентом, вследствие антенатальной гибели одного плода из двойни. Высокая частота гибели плода донора после коагуляции анастомозов можно предположить, что вероятно связано с исходным страданием, гиповолемией и задержкой роста и внутриутробной гипоксией.

В большинстве 93,7%(n=10) случаев в исследуемых группах дети родились недоношенными. Средний гестационный возраст у новорожденных от женщин с осложненным течением беременности был достоверно ниже по сравнению с третьей группой (p=0,03, p=0,02, таблица 15).

Таблица 15 – Антропометрические показатели новорожденных исследуемых групп.

Параметры	1-я группа (n=49)		2-я группа (n=44)		3-я группа (n=60)	Уровень значимости , p
	Донор n=29	Реципиент n=20	СЗР (n=22)	Без СЗР(n=22)	Оба плода	
Срок	31,6±3,6		32,7±2,7		34±2,18	P <sub>1-2</sub> =0,18

гестации, недель						$P_{1-3}=0,03$ $P_{2-3}=0,02$
Масса тела, г	1689±680	1860±760	1460±544	1780±500	2163,5±391,67	$P_{1-2}=0,01$ $P_{1-3}=0,2$ $P_{2-3}=0,0004$
Длина тела, см	40,1±6,09	42±5,9	36,83±4,06	39,08±3,9	43,75±3,36	$P_{1-2}=0,06$ $P_{1-3}=0,03$ $P_{2-3}=0,00002$
Окружность голова, см	29,57±3,6	29±1,89	27,9±2,2	29,25±2,4	31,49±2,37	$P_{1-2}=0,25$ $P_{1-3}=0,02$ $P_{2-3}=0,0005$
Окружность груди, см	28,53±4,1	28±2,9	26,3±3	27,9±2,6	30,24±1,77	$P_{1-2}=0,27$ $P_{1-3}=0,03$ $P_{2-3}=0,0003$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

При изучении массо-ростовых показателей новорожденных исследуемых групп женщин наименьшие показатели антропометрии наблюдались у детей, рожденных от женщин первой и второй группы. При этом во второй группе диссоциация в массе новорожденных к моменту родов составила 20% и более ( $P_{1-3}<0,05$ ,  $P_{2-3}<0,05$ ).

Анализ состояния детей на момент рождения (оценка на 1 и 5 минуте) установил, что в большинстве случаев дети рождались в состоянии тяжелой асфиксии в первой и во второй группе (таблица 16).

Таблица 16 – Оценка по шкала Апгар, тяжесть асфиксии в исследуемых группах. [Где на нее ссылка??](#)

Параметры	1-я группа (n=49)		2-я группа (n=44)		3-я группа сравнения (n=60)	Уровень значимости , p
	Донор	Реципиент	Плод с СЗР	Плод без	Оба плода	

	n=29	n=20	(n=22	СЗР(n=22)		
1-ая минута,	5,32±1,8	5,25±1,9	5,1±1,1	5,8±1,4	5,8±0,4	P <sub>1-2</sub> =0,26 P <sub>1-3</sub> =0,24 P <sub>2-3</sub> =0,006
5-я минута	6,52±1,8	6,75±1	6,5±0,6	6,5±0,7	6,92±0,2	P <sub>1-2</sub> =0,23 P <sub>1-3</sub> =0,35 P <sub>2-3</sub> =0,23

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub> - между 2 и группой сравнения.

У новорожденных с задержкой роста во второй группе наблюдались низкие показатели оценки по шкале Апгар на 1 минуте по сравнению со вторым плодом, но в дальнейшем на 5 минуте показатели Апгар были идентичными у обоих детей. Можно предположить, что это связано с внутриутробной адаптацией к условиям хронической гипоксии (p<sub>2-3</sub>=0,006),

При детальной оценке состояния детей на 1 минуте после родов у женщин с осложненным течением беременности тяжелое состояние асфиксии наблюдалось чаще у новорожденных в первой и группе и новорожденных с **СЗР (таблица 17)**.

Таблица 17 - Оценка по шкале Апгар полученные между исследуемыми группами.

Шкала Апгар	1-я группа (n=49)				2-я группа (n=44)				3-я группа сравнения (n=60)	
	Донор(n=29)		Реципиент (n=20)		СЗР (n=22)		Без СЗР (n=22)		Оба плод(n=60)	
	1 мин	5 мин	1 мин	5 мин	1 мин	5 мин	1 мин	5 мин	1 мин	5 мин
0/3 баллов	10,3% (3)	3,4% (1)	20% (4)	-	4,5% (1)		9% (2)	13,6% (2)	5% (3)	3,3% (2)
4/5 баллов	24,1% (7)	31% (9)	20% (4)	15% (3)	18,1 % (5)	22,7% (4)	13,6 % (3)	9 % (2)	10% (6)	8,3 % (5)
6/7 баллов	65,5% (19)	65,5% (19)	60 % (12)	70% (17)	72,2% (16)	81,8 % (18)	72,7 % (17)	81,8 % (18)	85% (51)	88,8% (53)

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий между 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  – между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  – между 2 и группой сравнения.

Асфиксия средней степени тяжести в группе детей с осложненным течением беременности практически в два раза встречалось чаще по сравнению с третьей группой новорожденных.

Для оценки состояния новорожденных на первые сутки был проведен анализ капиллярной крови на КОС.

**Таблица 18** - Показатели КОС у новорожденных в исследуемых группах

Показатели КОС	1 группа новорожденные (n=49)	2 группа новорожденных (n=50)	3 группа сравнения (n=60)	Уровень значимости (P)
PH	7,25±0,5	7,29±0,7	7,38±0,5	$P_{1-2}=0,08$ $P_{1-3}=0,5$ $P_{2-3}=0,9$
pO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	52,4±9,3	56,7±11	63,1±12,3	$P_{1-2}=0,76$ $P_{1-3}=0,4$ $P_{2-3}=0,6$
pCO <sub>2</sub> , мм рт. ст.	32,6±9,2	36,4±10,1	31,4±8,98	$P_{1-2}=0,78$ $P_{1-3}=0,09$ $P_{2-3}=0,71$
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ммоль/л	25,4±7,7	24,03±2,1	22,6±3,34	$P_{1-2}=0,19$ $P_{1-3}=0,01$ $P_{2-3}=0,03$
SBE, ммоль/л	-4,44±4,7	-3,4±3,1	-2,25±4,8	$P_{1-2}=0,08$ $P_{1-3}=0,74$ $P_{2-3}=0,84$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  – между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  – между 2 и группой сравнения.

При оценке у новорожденных показателя PH на первые сутки находились в пределах допустимых значений. Дефицит буферных оснований у новорожденных первой группы был в 2 раза более выражен, чем в группе сравнения.

Показатели гемограммы у новорожденных в исследуемых группах соответствовали допустимым значениям (таблица 19).

Таблица 19- Показатели гемограммы у новорожденных в исследуемых группах

Показатели гемограммы	1-я группа новорожденные (n=49)	2-я группа новорожденных (n=44)	3-я группа сравнения (n=60)	Уровень значимости (P)
Лейкоциты	12,06±8,1	10,7±2,69	12,03±3,4	P <sub>1-2</sub> =0,19 P <sub>1-3</sub> =0,49 P <sub>2-3</sub> =0,06
Эритроциты	4,3±0,61	4,5±0,51	4,7±0,69	P <sub>1-2</sub> =0,16 P <sub>1-3</sub> =0,07 P <sub>2-3</sub> =0,08
Гемоглобин	164,3±23,69	163,7±28,18	166,48±32,79	P <sub>1-2</sub> =0,48 P <sub>1-3</sub> =0,4 P <sub>2-3</sub> =0,38
Гематокрит	49,69±6,85	52,02±5,87	50,79±8,57	P <sub>1-2</sub> =0,15 P <sub>1-3</sub> =0,37 P <sub>2-3</sub> =0,26

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub> - между 2 и группой сравнения.

При отсутствии нарушения витальных функций новорожденные от многоплодной беременности согласно внутреннему приказу госпитализировались в отделение палаты интенсивного наблюдения с последующей реабилитацией в клиниках патологии новорожденных. В зависимости от тяжести асфиксии и дыхательных нарушений проводился биназальный СРАР. В случае тяжелого состояния детей и массы менее 1850 грамм необходимости проведения ИВЛ новорожденные из родового блока госпитализировались в отделение реанимации новорожденных.

Различия в длительности проведения неинвазивной респираторной поддержки методом СРАР (биназальный), регистрировалось практически с одинаковой частотой во всех группах без достоверных различий. Это обусловлено сроком гестации и первую очередь в связи с недоношенностью. Однако **продолжительность** в респираторной поддержке в первой и второй



группе новорожденных была **более длительной** по сравнению с группой сравнения. В первой группе новорожденных длительность СРАР (биназальный) составил  $11 \pm 5$  суток, во второй группе до  $4 \pm 2$  суток, в группе сравнения до  $2 \pm 1$  суток (таблица 20).

Таблица 20 – Количество детей с респираторной поддержкой и длительность пребывания в отделениях.

Показатель	1-я группа новорожден ные (n=49)	2-я группа новорожденных (n=44)	3-я группа сравнения (n=60)	Уровень значимости (P)
СРАР(моно- биназальный)	9 (18,3%)	8(16%)	11(18,3%)	$P_{1-2}=0,7$ $P_{1-3}=0,9$ $P_{2-3}=0,7$
ИВЛ	17(34,6%)	13(26%)	8(16%)	$P_{1-2}=0,34$ $P_{1-3}=0,009$ $P_{2-3}=0,09$
Пребывание в ОРИТН	$8,1 \pm 6,5$	$5,5 \pm 3,6$	$3 \pm 1,5$	$P_{1-2}=0,07$ $P_{1-3}=0,06$ $P_{2-3}=0,16$
Пребывание в ОПННД	$34 \pm 22,8$	$37,0,9 \pm 15,5$	$17,8 \pm 10,4$	$P_{1-2}=0,33$ $P_{1-3}=0,0001$ $P_{2-3}=0,0001$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Искусственная вентиляция легких обусловленная тяжелыми дыхательными нарушениями в 1,3 и 3,1 раза больше применялась детям от родильниц первой группы по сравнению со второй и третьей группой ( $P_{1-3}=0,009$  $P_{2-3}=0,09$ ).

Длительность реабилитации детей на втором этапе выхаживания в первой и второй группе достоверно выше, поскольку эти дети родились в

тяжелом состоянии и реализовали патологию перинатального периода.

Структура заболеваемости представлена в таблице 21.

Таблица 21 - Структура заболеваемости детей в раннем неонатальном периоде

Параметры	1-я группа (n=49)		2-я группа (n=44)		3-я группа сравнения (n=60)		Уровень значимости (p)
	Абс	%	Абс	%	Абс	%	
Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС легкой степени	10	24,4	12	25	8	13	$P_{1-2}=0,4$ $P_{1-3}=0,6$ $P_{2-3}=0,1$
Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС средней степени	18	36,73	18	40,9	15	25	$P_{1-2}=0,6$ $P_{1-3}=0,8$ $P_{2-3}=0,8$
Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС тяжелой степени	20	40,8	12	27,2	5	8,3	$P_{1-2}=0,1$ $P_{1-3}=0,001$ $P_{2-3}=0,001$
ВПС	6	12,4	3	6,8	2		$P_{1-2}=0,3$ $P_{1-3}=0,07$ $P_{2-3}=0,4$
Респираторный дистресс синдром	17	16,3	14	31,8	11	3,3	$P_{1-2}=0,7$ $P_{1-3}=0,05$ $P_{2-3}=0,2$
ВУИ	13	26,5	7	15,9	2	3,3	$P_{1-2}=0,2$ $P_{1-3}=0,001$ $P_{2-3}=0,02$
Бронхолегочная дисплазия	6	12,2	10	22,7	2	3,3	$P_{1-2}=0,1$ $P_{1-3}=0,07$ $P_{2-3}=0,003$
Постнатальная гибель новорожденного	10	20,4	2	4,5	1	1,67	$P_{1-2}=0,02$ $P_{1-3}=0,002$ $P_{2-3}=0,3$

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС тяжелой степени достоверно чаще регистрировалось у новорожденных от женщин первой и второй группы в соответствии с группой сравнения ( $P_{1-3}=0,001$ ,  $P_{2-3}=0,001$ , табл.20).

Врожденные пороки развития сердца выявлены у 6 новорожденных от женщин с ФФТС, что в 2 и 3 раза превышал аналогичный показатель у новорожденных от женщин второй группы и сравнения, но без достоверных различий ( $P_{1-3}=0,07$ ).

Респираторный дистресс-синдром регистрировался у новорожденных первой и второй группы в 1,9 и 1,7 раза чаще, чем у женщин группы сравнения, и достоверные различия выявлены между первой и группой сравнения ( $p_{1-3}<0,05$ ).

Внутриутробная инфекция у новорожденных от женщин с осложненным течением беременности регистрировалась в 5,6 и 6,4 раза чаще по сравнению с новорожденными группы сравнения ( $P_{1-3}=0,008$ ,  $P_{2-3}=0,0001$ ).

Бронхолегочная дисплазия, обусловленная длительным нахождением на респираторной поддержке и инфекционным процессом в 4,3 и 3 раза чаще наблюдалась у детей от женщин с СЗР и ФФТС, по сравнению в новорожденными третьей группы ( $P_{2-3}=0,007$ ).

Высокая частота постнатальной гибели новорожденных в группе женщин с ФФТС обусловленн высокой частотой преждевременного родоразрешения. В одном случае у плода из несостоявшейся монохориальной двойни зарегистрирован тяжелый порок развития легких в виде кистозно-аденоматочного порока развития легкого, с антенатальной потерей в сроке гестации 35 недель. У каждой третьей женщины с ФФТС имела место постнатальная потеря.

## ГЛАВА 4. РОЛЬ ГЕНОВ АНГИОГЕНЕЗА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗВИТИЮ ФФТС И СЗР У ЖЕНЩИН С МОНОХОРИАЛЬНОЙ ДВОЙНЕЙ

### 4.1. Распределение полиморфных локусов генов VEGF-A и NOS3 у женщин с монохориальной двойней, осложненной ФФТС

У всех женщин с монохориальным типом плацентации проведен сравнительный анализ распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам генов, отвечающих за функционирование эндотелия : NOS3: 786 T>C и 894G>T и ангиогенез: VEGF A-2578 C>A и 936 C>T.

Возможное влияние генотипа на формирование осложнений монохориальной беременности оценивалось по общей, мультипликативной и доминантной моделям.

Полученные результаты свидетельствуют, что характер распределения аллелей и генотипов по полиморфным вариантам гена NOS3 и VEGF в обеих группах соответствует равновесию Харди-Вайнберга.

Анализ различий частот генотипов и аллелей между группой женщин с ФФТС и группой сравнения не выявил ассоциаций с ФФТС по маркерам C786T и G894T гена NOS3.(Таблица 22 и 23)

**Таблица 22 - Распределение частот аллелей полиморфных маркеров гена NOS3 в группе женщин с ФФТС и группе сравнения**

Аллели	Случаи	Контроли	$\chi^2$	p	OR	
	n = 28	n = 41			знач.	95% CI
NOS3-786 T	0.714	0.756	0.30	0.58	0.81	0.37 – 1.74
NOS3-786 C	0.286	0.244			1.24	0.58 – 2.67
NOS 894 G	0.464	0.561	2.13	0.09	0.68	0.34 – 1.24
NOS 894 T	0.536	0.439			1.63	1.08 – 2.92

Группа 1 и группа2, где группа 1- основная, а группа 2-сравнения или контрольная.

**Таблица 23 - Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам гена NOS3 в группе женщин с ФФТС и группе сравнения.**

Генотипы	Случаи	Контроли	$\chi^2$	p	OR	
	n = 28	n = 41			знач.	95% CI
NOS3-786 TT	0.571	0.610	0.34	0.84	0.85	0.32 – 2.27
NOS3-786 TC	0.286	0.293			0.97	0.33 – 2.79
NOS3-786 CC	0.143	0.098			1.54	0.35 – 6.76
NOS 894 GG	0.286	0.366	1.1	0.58	0.69	0.25 – 1.96
NOS 894 GT	0.357	0.390			0.87	0.32 – 2.35
NOS 894 TT	0.357	0.244			1.72	0.60 – 4.93

При анализе распределения частот генотипов и аллелей по полиморфным маркерам гена VEGF-A в группах женщин с монохориальной двойней с синдромом ФФТС и без него были получены статистически значимые отличия для маркера С936Т (таблица 24).

**Таблица 24 - Распределение частот аллелей полиморфных маркеров гена VEGF-A- в группе женщин с ФФТС и группе сравнения**

Аллели	Случаи	Контроли	$\chi^2$	p	OR	
	n = 28	n = 41			знач.	95% CI
VEGF-2578 C	0.571	0.549	0.07	0.79	1.1	0.55 – 2.17
VEGF-2578 A	0.429	0.451			0.91	0.46 – 1.81
VEGF936 C	0.821	0.915	3.12	0.05	0.43	0.15 – 1.17
VEGF936 T	0.179	0.085			2.53	1.19 – 6.55

Частота встречаемости аллеля VEGF-A: 936T была выше у женщин с ФФТС, чем в группе сравнения ( $p=0,05$ ,  $OR=2,53$ ,  $CI$  1,19-6,55). Вариантный аллель VEGF-A: C936 наоборот чаще регистрировался в группе сравнения ( $p=0,05$ ,  $OR=0,43$ ,  $CI$  0,15-1,17)

Для анализа возможного влияния генотипа на формирование ФФТС у женщин с монохориальным типом плацентации была использована доминантная модель частоты распределения генотипов по исследуемым локусам гена VEGF-A (Таблица 25).

Таблица 25 - Распределение частот генотипов по полиморфным маркерам гена VEGF-A в группе женщин с ФФТС и группе сравнения (Доминантная модель).

Генотипы	Случаи	Контроли	$\chi^2$	p	OR	
	n = 28	n = 41			знач.	95% CI
VEGF-2578 CC	0.786	0.707	0.53	0.47	1.52	0.49 – 4.68
VEGF-2578 CA+AA	0.214	0.293			0.66	0.21 – 2.03
VEGF936 CC	0.679	0.854	3.00	0.03	0.36	0.11 – 1.04
VEGF936 CT+TT	0.321	0.146			3.62	1.43 – 8.94

Результаты проведенного анализа показали, что в группе женщин с ФФТС достоверно чаще регистрировались генотипы, содержащие вариантный аллель VEGF-A: 936T в гомо и/или гетерозиготном состоянии ( $p=0,03$ ,  $OR=3,62$ ,  $CI$  1,43-8,94). В группе женщин без ФФТС чаще выявлялись альтернативные генотипы VEGF-A: 936 CC ( $p=0,04$ ,  $OR=0,36$ ,  $CI$  0,11-1,04).

Статистически значимых отличий по частоте встречаемости генотипов и аллелей по полиморфному локусу VEGF-A:-2756C>A в сравниваемых группах женщин выявлено не было.

Молекулярными механизмами формирования данной патологии могут служить изменения экспрессии факторов роста, обусловленные однонуклеотидными заменами в генах их кодирующих.

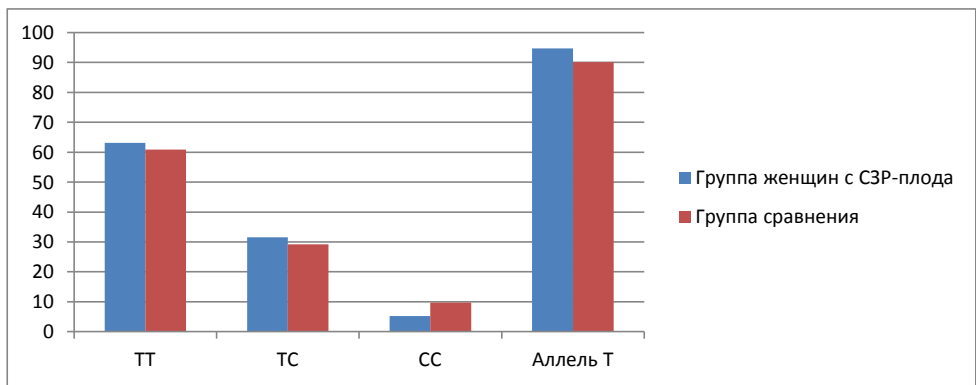
Для проверки данной гипотезы были исследованы частоты аллелей и генотипов по полиморфным маркерам А-2578 С>А и 936 С>Т гена VEGF и

786 Т>С и 894G>Т гена NOS3. В основную группу вошли женщины с монохориальной двойней, осложненной СЗР плода, группу сравнения составили **составили** беременные с монохориальной диамниотической двойней течение беременности, которых не осложнилось ФФТС, СЗР плода.

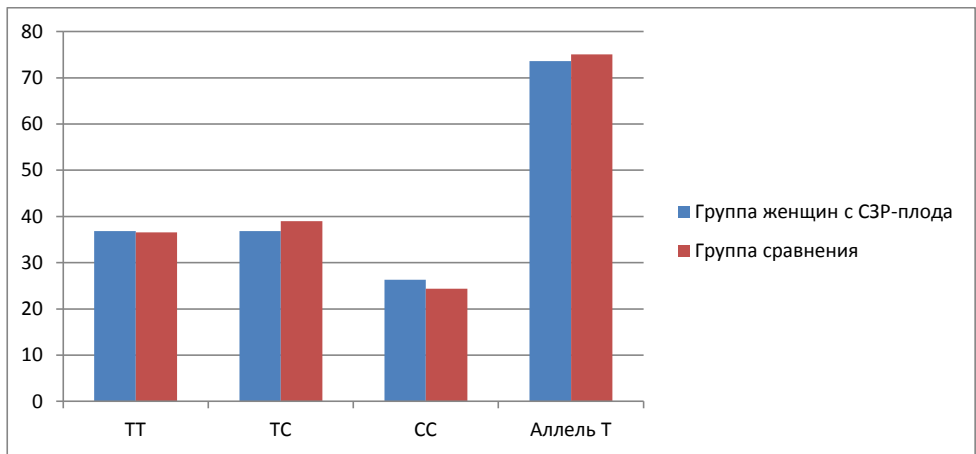
В результате проведенного исследования было установлено, что распределение частот генотипов по полиморфным локусам генов VEGF-А и NOS3 в группе женщин с монохориальной двойней, осложненной СЗР **П** и группе сравнения соответствует теоретически ожидаемому, согласно закону Харди-Вайнберга.

По всем проанализированным SNP статистически значимых различий между изученными группам зарегистрировано не было. Частоты их аллелей и генотипов представлены в графическом виде на рисунке **3???**.

**Рис 3** - Распределение % частот генотипов и мажорных аллелей по регуляции сосудистого тонуса и ангиогенеза. Полиморфизм NOS3: 786 Т>С

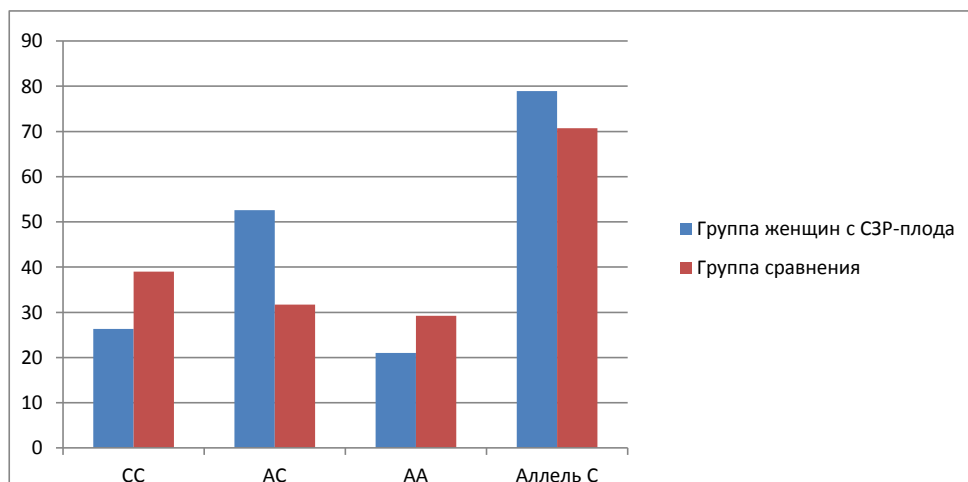


**Рис 4.** Распределение % частот генотипов и мажорных аллелей по регуляции сосудистого тонуса и ангиогенеза. Полиморфизм NOS3: 786 T>C

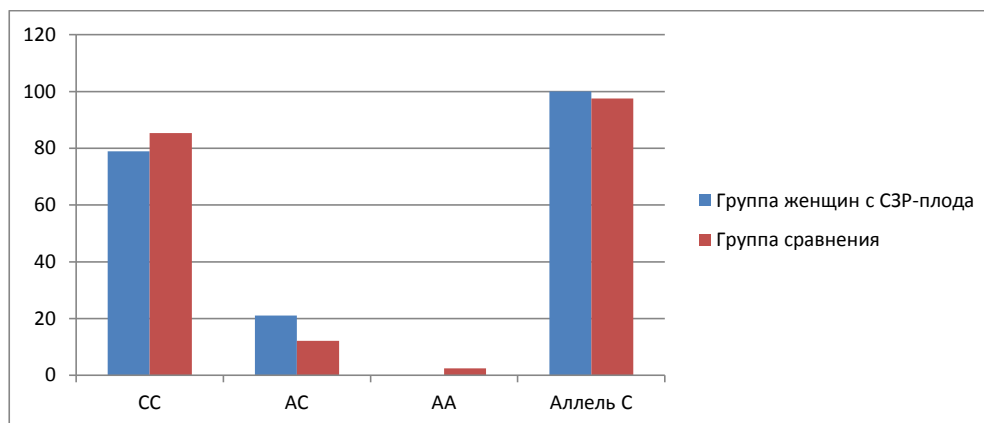


**Рис 5** - Полиморфизм NOS3: 894G>T





**Рис 6** - Полиморфизм VEGF A-2578 C>A



**Рис 7** - Полиморфизм VEGF A-2 936 C>T

**Неверна нумерация рисунков, нет ссылок на рисунки, не по ГОСТ оформлены**

Проведенные исследования распределения аллелей и генотипов по полиморфным маркерам гена VEGF A и NOS3 не выявили различий в группах женщин с монохориальной двойней, осложненной СЗРП и без осложнений, что может свидетельствовать об отсутствии ассоциации данных генетических маркеров с изучаемой патологией.

Однако, в группе женщин с монохориальной двойней, осложненной ФФТС, была установлена ассоциация полиморфизма -936C>T гена VEGF с риском формирования ФФТС. Статистически значимый рост риска между

полиморфизмом VEGF-A: 936T и ФФТС был обнаружен в доминантной модели (OR=3,62, CI 1,43-8,94) Вариантный генотип VEGF-A: 936 CC обладает протективным эффектом в отношении формирования данной патологии.

Проведенный анализ позволяет предположить, что носительство в генотипе женщины аллеля -936T гена VEGF в гомо - и/или гетерозиготном состоянии является фактором, повышающим риск формирования ФФТС при беременности с монохориальным типом плацентации.

Продукт гена VEGF –А - сосудисто-эндотелиальный фактор роста является чрезвычайно специфичным митогеном эндотелиальных клеток, который стимулирует эндотелиальную пролиферацию, миграцию клеток и замедляет апоптоз клеток хориона и децидуальной ткани. Среди белков семейства VEGF фактор роста VEGF-A является самым мощным проангиогенным протеином и играет ключевую роль в регуляцию ангиогенеза. Предполагается, что плазменный уровень VEGF-A опосредован полиморфизмом гена VEGF-A. Экспрессия гена VEGF-A регулируется различными факторами. В работах Wang B., 2009 показано, что гипоксия вызывает повышение экспрессии гена VEGF-A в том числе и в трофобласте. Полиморфный маркер VEGF-A: +936 C>T (rs 3025039) расположен в нетранслируемом 3 регионе гена и аллель 936T ассоциирован с низким уровнем продукта

Низкая экспрессия сосудисто-эндотелиального фактора роста может приводить к нарушению проницаемости сосудов и снижать пролиферативную активность эндотелиальных клеток, что вызывает нарушение формирования маточно-плацентарной области и препятствует нормальному развитию хориона. В литературе имеются данные об ассоциации аллеля +936T гена VEGF с риском формирования неразвивающейся беременности [16].

Наличие низкого уровня сосудисто-эндотелиального фактора роста вследствие носительства в генотипе вариантного аллеля +936T гена VEGF косвенно подтверждается исследованиями Kusanovic et al. (2008), показавшие повышение s-Eng и VEGFR-1 и снижение PlGF в материнской плазме при наличии фето-фетального трансфузионного синдрома [87].

В рамках настоящего исследования установлена ассоциация полиморфизма C936T гена VEGF-A с риском формирования ФФТС, что позволяет рассматривать полиморфный аллель VEGF-A: 936T, как возможный генетический маркер фето-фетального трансфузионного синдрома.

#### **3.4. Особенности функционального состояния эндотелия, регуляции ангиогенеза у пациенток с монохориальной многоплодной беременностью**

Оценка функционального состояния эндотелия показала, что содержание эндотелина-1, в группе женщин с ФФТС в 3,2 и 1,4 раза превышало аналогичные показатели второй и группы сравнения, однако статистически значимых различий из-за большого разброса показателей не выявлено ( $p > 0,05$ ), (таблица 26).

Таблица 26. Маркеры эндотелиальной дисфункции и факторы регуляции ангиогенеза у женщин с осложненной монохориальной беременностью во 2 триместре

Параметры	Группа 1 (n=45)	Группа 2 (n=27)	Группа 3 (n=50)	Уровень значимости различий, p
Эндотелин-1, фмоль/л	0,129(0,029-0,52)	0,04(0,026-0,239)	0,09(0,06-0,32)	$P_{1-3}=0,65$ $P_{1-2}=0,26$ $P_{2-3}=0,42$
NO2 общий, мкмоль/л	12,98(9-19,08)	12,98(11,37-15,04)	16,28(13,4-20,48)	$P_{1-3}=0,03$ $P_{1-2}=0,9$ $P_{2-3}=0,021$

NO <sub>2</sub> эндот., мкмоль/л	1,19(0,63-1,48)	1,03(0,51-1,48)	0,89(0,51-1,03)	P <sub>1-3</sub> =0,21 P <sub>1-2</sub> =0,76 P <sub>2-3</sub> =0,31
NO <sub>3</sub> , мкмоль/л	12(9,29-17,41)	11,69(9,75-14,52)	14,73(12,07-18,77)	P <sub>1-3</sub> =0,13 P <sub>1-2</sub> =0,72 P <sub>2-3</sub> =0,04
PLGF, пг/мл	275,42(223,73- 323,32)	271,77(144,33- 367,57)	430,32(347,6- 501,43)	P <sub>1-3</sub> =0,0016 P <sub>1-2</sub> =0,46 P <sub>2-3</sub> =0,006
VEGF – А, пг/мл	28,34(22,92- 45,47)	24,2(21,9-31,61)	29,19(25,7-46,47)	P <sub>1-3</sub> =0,13 P <sub>1-2</sub> =0,17 P <sub>2-3</sub> =0,009
Эндоглин, нг/мл	9,78(8,43-10,32)	9,5(7,33-10,03)	7,2(5,9-8)	P <sub>1-3</sub> =0,0002 P <sub>1-2</sub> =0,4 P <sub>2-3</sub> =0,002

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub> - между 2 и группой сравнения.

При исследовании концентрации стабильных метаболитов азота у пациенток основных групп (ФФТС и СЗР) плода выявлено достоверное снижение уровня общего нитрита (NO<sub>2</sub><sup>-</sup> общ.) в 1,2 раза у пациенток по сравнению с третьей группой (P<sub>1-3</sub>=0,03, P<sub>2-3</sub>=0,021). Концентрация нитрата (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) у беременных с СЗР также в 1,2 раза была достоверно снижена по сравнению с третьей группой (P<sub>2-3</sub>=0,04).

Анализ факторов роста показал, что в группах пациенток с ФФТС и в женщин с СЗР плода отмечалось снижение концентрации PLGF (в 1,6 раза), относительно показателей группы сравнения (P<sub>1-3</sub>=0,0016, P<sub>2-3</sub>=0,006).

В содержание VEGF, у женщин с осложненным течением монохориальной беременности статистически значимых различий не выявлено (P<sub>2-3</sub>=0,009).

В то же время отмечалось повышенное содержание антиангиогенного эндоглина (s-End) в 1,4 и 1,3 раза, как у беременных с ФФТС, так и у женщин с СЗР в отличие от группы сравнения (p<sub>1-3</sub>=0,0002, p<sub>2-3</sub>=0,002).

При изучении концентрации эндотелиальных прогениторных клеток в крови у матерей с осложненным течением беременности (ФФТС и СЗР плода), выявлено их достоверное снижение таблица 27.

Таблица 27 - Содержание эндотелиальных прогениторных клеток во II триместре беременности у женщин с монохориальной многоплодной беременностью, ME (P25-P75)

Параметры	Группа 1 (n=45)	Группа 2 (n=27)	Группа 3 (n=50)	Уровень значимости различий, p
CD133+CD14+, %	43(32,25-63,9)	42(36,5-48,94)	53(51-58,7)	P <sub>1-3</sub> =0,02 P <sub>1-2</sub> =0,65 P <sub>2-3</sub> =0,0007
CD 309+CD14+, %	23,81(16,62-29,5)	22,44(17-26)	21(16,9-26,06)	P <sub>1-3</sub> =0,217 P <sub>1-2</sub> =0,55 P <sub>2-3</sub> =0,42
CD133+CD34+, %	1,53(1,1-2,76)	1,08(0,72-2,21)	2,01(1,84-2,39)	P <sub>1-3</sub> =0,05 P <sub>1-2</sub> =0,15 P <sub>2-3</sub> =0,003
CD309+CD34+, %	1,7(1-3,14)	1,51(1,16-2)	2,29(2,23-3,37)	P <sub>1-3</sub> =0,006 P <sub>1-2</sub> =0,65 P <sub>2-3</sub> =0,0015

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub> - между 2 и группой сравнения.

Так, в 1,2 раза отмечалось снижение уровня экспрессии рецептора CD133+CD14+ моноцитами крови в первой и третьей группах относительно показателей группы сравнения (P<sub>1-3</sub>=0,02, P<sub>2-3</sub>=0,0007). Уменьшение относительного числа CD133+CD34+ регистрировалось на уровне тенденции у женщин с ФФТС (p=0,05) и статистически значимо у пациенток с СЗР (0,003). Аналогичная тенденция, выявлена для маркера активации CD309CD14, уровень которого у всех женщин с осложненным течением монохориальной беременности был достоверно снижен (p<sub>1-3, 2-3</sub><0,01).

Проведение корреляционного анализа позволило выявить статистически значимые зависимости генетических факторов с маркерами эндотелиальной дисфункции и регуляции ангиогенеза, а также взаимосвязь вазоконстрикторов и вазодилататоров с про- и антиангиогенными факторами (табл. 28).

Таблица 28 – Корреляционные взаимосвязи между генетическими факторами, маркерами эндотелиальной дисфункции и регуляции ангиогенеза у женщин с монохориальной беременностью

Корреляционные пары		r	p	Корреляционные пары		r	p	Корреляционные пары		r	p
1-я группа				2-я группа				3-я группа			
CD133 CD14	ЭТ-1	-0,74	0,03	CD309 CD14	ЭТ-1	0,97	0,004	ЭТ-1	NO2энд	-0,54	0,01
CD133 CD34	VEGF-A	-0,71	0,04	CD309 CD14	PLGF	0,9	0,03	ЭТ-1	VEGF-2578/3 AA3	0,51	0,02
ЭТ-1	VEGF-A	0,993	0,000	ЭТ-1	NO2общ	0,59	0,02	PLGF	Эндоглин	0,63	0,008
ЭТ-1	NO2	0,567	0,027	ЭТ-1	NO3	0,55	0,03	PLGF	VEGF-2578/3 CC3	0,51	0,03
VEGF-A	NO2	0,545	0,035	VEGF-A	NOS894 G>T2 GG2	0,52	0,04	NO2общ	VEGF-2578/3	0,61	0,002
NO3	VEGF-2578/C C	-0,518	0,048	VEGF-A	NOS894 G>T2 GT2	0,58	0,02	NO2общ	VEGF-2578/3 AA3	0,619	0,0000
ЭТ-1	NOS3-786 T>C1	0,49	0,03	NO2 эндотел	NOS894 G>T2 GG2	0,6	0,01	NO2общ	VEGF-2578/3 CC3	0,46	0,027
ЭТ-1	VEGF2578/3	0,47	0,04	NO3	PLGF	0,53	0,05	NO2энд	VEGF936 C>T4	-0,45	0,03
ЭТ-1	VEGF2578/C C	0,47	0,04	Эндоглин	VEGF-2578/3 AA3	0,62	0,01	NO2энд	VEGF936 C>T4/CT	0,45	0,03
NO2энд	NOS3-786 T>C1 TT	0,49	0,04	Эндоглин	VEGF-2578/3 CA3	0,65	0,01	NO2энд	VEGF936 C>T4/CC	0,45	0,03
NO3	NOS894 G>T2 GG	0,51	0,02	PLGF	VEGF-2578/3	-0,6	0,049	NO3	VEGF-2578/3	-0,56	0,005
NO3	VEGF-2578/3 CC	0,48	0,03					NO3	VEGF-2578/3/A A	0,71	0,0001
Эндоглин	NOS3-786 T>C1 TT	0,51	0,02					Эндоглин	PLGF	0,63	0,0008
								Эндоглин	VEGF936 C>T4	0,53	0,03

								Эндоглин	VEGF936 C>T4/CT 4	- 0.5 3	0.03	
								Эндоглин	VEGF936 C>T4/CC 4	0.5 3	0.03	

**Описать корреляции, дать графическое изображение**

При исследовании концентрации вазоактивных веществ и ангиогенных факторов роста в крови у беременных основных групп с монохориальными двойнями в III триместре беременности достоверных различий не выявлено (таблица 29).

После проведения лазерной коагуляции у всех женщин с осложненной монохориальной беременностью регистрировалось повышение уровня эндотелина-1, общего нитрита и нитрата, содержания PLGF и VEGF, а также снижение концентрации эндоглина до значений группы сравнения.

Таблица 29 - Маркеры эндотелиальной дисфункции и факторы регуляции ангиогенеза у женщин с осложненной монохориальной беременностью в III триместре

Параметры	Группа 1 (n=45)	Группа 2 (n=27)	Группа 3 (n=50)	Уровень значимости различий, p
Эндоглин-1, фмоль/л	0,334(0,04-0,84)	0,238(0,07-0,3)	0,2(0,03-1,16)	P <sub>1-3</sub> =0,48 P <sub>1-2</sub> =0,39 P <sub>2-3</sub> =0,81
NO2 общий, мкмоль/л	12,91(9,59-15,344)	15,429(11,88-22,19)	11,52(9,17-17,53)	P <sub>1-3</sub> =0,71 P <sub>1-2</sub> =0,19 P <sub>2-3</sub> =0,11
NO2 эндот., мкмоль/л	1,194(1,12-1,48)	1,044(0,518-1,48)	0,91(0,73-1,48)	P <sub>1-3</sub> =0,08 P <sub>1-2</sub> =0,38 P <sub>2-3</sub> =0,92
NO3, мкмоль/л	11,39(8,7-14,21)	13,51(10,76-21,69)	10,67(8,12-16,82)	P <sub>1-3</sub> =0,8

				P <sub>1-2</sub> =0,18 P <sub>2-3</sub> =0,13
PLGF, пг/мл	464,56(332,97-628,1)	351,45(272,47-603,18)	437,04(240,66-713,11)	P <sub>1-3</sub> =0,94 P <sub>1-2</sub> =0,84 P <sub>2-3</sub> =0,79
VEGF – А, пг/мл	26,1(25,4-63,7)	24,87(22,41-40,91)	24,95(23,08-34,2)	P <sub>1-3</sub> =0,25 P <sub>1-2</sub> =0,63 P <sub>2-3</sub> =0,62
Эндоглин, нг/мл	10,41(8,98-10,53)	10,24(10,09-10,56)	10,29(9,95-11,045)	P <sub>1-3</sub> =0,81 P <sub>1-2</sub> =0,75 P <sub>2-3</sub> =0,68

Примечание: P<sub>1-2</sub> – уровень значимости различий 1 и 2 группами, P<sub>1-3</sub> - между 1 и группой сравнения, P<sub>2-3</sub> - между 2 и группой сравнения.

Для изучения влияния фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов на содержание ЭПК в крови в динамике у женщин с ФФТС было проведено сравнение концентрации данных факторов. При изучении содержания ЭПК выявлено их снижение III триместре беременности относительно показателей II **триместра (Таблица.30).**

Таблица 30. Содержание эндотелиальных прогениторных клеток в III триместре беременности, МЕ (P25-P75)

Параметры	Группа 1 (n=45)	Группа 2 (n=27)	Группа 3 (n=50)	Уровень значимости различий, p
CD133/14	14(4,44-14)	11(9-23)	21,5(15-28)	P <sub>1-3</sub> =0,37 P <sub>1-2</sub> =0,61 P <sub>2-3</sub> =0,29
CD 309/14	12(12-19,9)	10(5,38-16)	14(13-15)	P <sub>1-3</sub> =0,37 P <sub>1-2</sub> =0,05 P <sub>2-3</sub> =0,37
CD133/34	2,88(1,04-3,31)	1,43(0,97-2,04)	1,18(0,8-1,55)	P <sub>1-3</sub> =0,07 P <sub>1-2</sub> =0,04 P <sub>2-3</sub> =0,29
CD309/34	2,5(1,83-4,32)	1,11(0,5-1,46)	1,02(0,21-1,82)	P <sub>1-3</sub> =0,0004 P <sub>1-2</sub> =0,001 P <sub>2-3</sub> =1



Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Таким образом, подтверждается гипотеза обусловлена влиянием дисфункции эндотелия и нарушением процессов репарации эндотелия сосудов **на что?**. Сохранение структурной и функциональной целостности эндотелия, имеет важное значение в поддержании сосудистого гомеостаза. При ФФТС в данном исследовании показано снижение концентрации ЭПК в крови, как следствие уменьшение количества ЭПК, что приводит к ухудшению процессов репарации, дисфункции эндотелия, что является одной из патогенетических **причин** и прогрессирования осложнений монохориального типа плацентации. **После оперативной коррекции в данном исследовании наблюдалось купирование клиники ФФТС и пролонгирование беременности в среднем в группе с ФФТС на 13 недель, наряду с вышеуказанным параллельно имело место нормализация ЭПК в крови у беременных.**

Полученные результаты исследования позволяют предположить, что реализация патологических состояний (фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка развития) при монохориальной беременности обусловлена нарушением продукции основных регуляторов ангиогенеза, изменением концентрации ЭПК, связанной с дисфункцией эндотелия.

#### **4.2. Способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.**

На основании математической обработки результатов исследования методом дискриминантного анализа, получены информативные признаки и сформирован способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной

коагуляции плацентарных анастомозов, которое заключается в определении диагностического индекса (DI) по формуле:

$$DI = 1,197X_1 + 0,01X_2 - 0,204X_3 - 1,43 X_4 - 12,094 \text{ где}$$

$X_1$  – срок беременности, недель

$X_2$  – концентрация PLGF, пг/мл;

$X_3$  – концентрация общего NO<sub>3</sub>, мкмоль/л

$X_4$  – концентрация эндоглина, нг/мл

При DI менее 0 делают заключение о высоком риске гибели плода после фетоскопического вмешательства.

Предлагаемый способ дает вероятность правильной классификации (специфичность метода) – 82,4% для нормы, для патологии (чувствительность метода) – 78%. Эффективность метода – 80,2%. **Подана заявка на изобретение, получена приоритетная справка (№2018130923 от 29.08.2019 г).**

**Пример 1.** Пациентка П (истор.родов № 4735), 25 лет повторнородящая, первородящая. Беременность наступила самостоятельно, двойней монохориальной диамниотической. Течение данной беременности осложнилось формированием ФФТС 3 стадии с 19 недель беременности. По данным УЗИ определяется наличие плода донора с отсутствием визуализации мочевого пузыря, отсутствием околоплодных вод, и наличием нулевого диастолического кровотока в артерии пуповины. У плода реципиента отмечается наличие перерастяжения мочевого пузыря, выраженное многоводие (ВК-10 см).

При исследовании сыворотки венозной крови матери в сроке гестации 20 недель получены следующие данные: концентрация PLGF– 407,2 пг/мл, NO<sub>3</sub> – 4,92 мкмоль/л, содержание эндоглина – 9,04 нг/мл. По формуле определили значение диагностического индекса:  $1,197 * 20 + 0,01 * 407,2 - 0,204 * 4,92 - 1,43 * 9,04 - 12,094 = 3,18$  (что больше 0) и свидетельствует об отсутствии лабораторных признаков риска гибели плода из двойни после фетоскопического вмешательства.

Пациентка родоразрешилась в 28-29 недель ввиду наличия тяжелой плацентарной недостаточности массой новорожденных 1300гр и 800 гр.

**Пример 2.** Пациентка Г(№1122), первобеременная 25 лет. Беременность наступила самостоятельно монохориальной диамниотической двойней. Течение данной беременности осложнилось формированием ФФТС 3 стадии в 21-22 недель гестации, в связи с чем была направлена на оперативную коррекцию синдрома трансфузии близнецов.

При исследовании сыворотки венозной крови пациентки в сроке гестации 18 недель получены следующие результаты: концентрация PLGF– 275 пг/мл,  $\text{NO}_3$  – 0,28 мкмоль/л, содержание эндоглина – 9,78 нг/мл. По формуле определили значение диагностического индекса:  $1,197 * 22 + 0,01 * 275 - 0,204 * 0,28 - 1,43 * 9,78 - 12,094 = 2,94$  (что больше 0) и свидетельствует о отсутствии лабораторных признаков гибели плода после фетоскопического вмешательства. Беременной в связи с ФФТС 3 стадии проведена операция фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов. В послеоперационном периоде отмечается купирование ФФТС, беременность пролонгируется двумя плодами, пациентка выписана в удовлетворительном состоянии под наблюдение акушер гинеколога по месту жительства.

Пациентка родоразрешена способом операции кесарева сечения в сроке гестации 33 недель, в связи преждевременным излитием околоплодных вод двумя живыми плодами массой 1850/1340 6/7 баллов по Апгар оба.

**Пример 3. Пациентка Б (№1550)** 32 повторнородящая пациентка. Беременность наступила самостоятельно, двойней монохориальной диамниотической. Течение данной беременности осложнилось формированием ФФТС 3 стадии с 17 недель гестации.

При исследовании сыворотки венозной крови пациентки в сроке гестации 18 недель получены следующие данные: концентрация PLGF– 100,5 пг/мл,  $\text{NO}_3$  – 11,43 мкмоль/л, содержание эндоглина – 8,52 нг/мл. По формуле определили значение диагностического индекса:  $1,197 * 18 + 0,01 * 100,5 -$

$0,204 \cdot 11,43 - 1,43 \cdot 8,52 - 12,094 = -1,408$  (что меньше 0) и свидетельствует о наличии лабораторных признаков гибели плода из двойни после фетоскопического вмешательства.

На 1 –ые сутки после фетоскопического вмешательства отмечен регресс 2 плода донора из двойни, а через 2 недели при УЗ скрининге в 20 недель отмечена гибель оставшегося плода, в связи с чем в сроке гестации 20 недель беременность завершена индукцией плодоизгнания.

Таким образом, заявляемый способ раннего прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов в сравнении с существующими имеет следующие преимущества:

1. Способ позволяет прогнозировать с высокой вероятностью гибель плода из двойни.
2. Предлагаемый способ позволяет повысить эффективность прогноза риска антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов до 80,2 %.

### **3.7. Результаты морфологического исследования плацент**

На основании проведенного обзорного макроскопического и гистологического исследования плацент выявлены следующие особенности:

-высокая частота патологического прикрепления пуповины в виде оболочечного и краевого во второй группе женщин. Данное состояние во второй группе наблюдалось достоверно чаще в 94 %(n=15) случаев против 46%(n=6) и 50%(n=8) в первой и третьей группе соответственно ( $P_{1-2}=0,005$ ,  $P_{2-3}=0,017$ ).

-гистологически нарушения кровообращения в виде инфарктов, ишемии, кровоизлияния в межворсинчатом пространстве (МВП), формирование афункциональных зон, дистрофические изменения наблюдались не более чем в 40% случаев во всех группах (таблица 30). **Тридцатая уже была!**

**Таблица 30** - Гистологические нарушения кровообращения

Показатель	1-я группа	2-я группа	3-я группа	Уровень значимости (P)
Инфаркты	38,4 % (n=5)	29,41 % (n=5)	18,7 % (n=3)	
Кровоизлияния в МВП	7,6 % (n=1)	17,64 (n=3)	6,25 % (n=1)	$P_{1-3}=0,05$
Афункциональные зоны в МВП	15,3 % (n=2)	29,4 (n=5)	18,7 (n=3)	
Дистрофические и некротические изменения	23 % (n=3)		6,25 % (n=1)	

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Расстройство материнско-плодового кровотока в группе с ФФТС сочетались с повышением в отличие от группы сравнения кровоизлияниями в МВП в базальной пластинке ( $P_{1-3}=0,05$ ).

Плаценты всех групп преимущественно соответствовали сроку гестации и демонстрировали сопоставимые признаки старения в виде отложения фибриноида в межворсинчатом пространстве, кальцинатов. С высокой долей наблюдалось снижение компенсаторных возможностей в исследуемых последах в 46,1%(n=6),41,17%(n=7),31,2%(n=5) соответственно по трем группам, без статически значимых различий( $p>0,05$ ).

Признаки инфекционного поражения в виде воспалительных изменений оболочек и базальной пластинки, хорионамнионита чаще регистрировалось у женщин с ФФТС, которым были применены внутриутробная хирургия в отличие от второй и третьей групп, но без достоверно значимых различий ( $p>0,05$ ). Однако процесс преимущественно был ограничен, несмотря на то что интервиллузит был отмечен в 7,6% последов первой группы,

статистически значимых различий при сравнении со второй и третьей группами найдено не было.

Для изучения плацентарной гипоксии было проведено морфометрическое исследование синцитио-капиллярных мембран (СКМ) в исследуемых группах. Поскольку СКМ терминальных ворсинок являются единственным местом обмена крови между матерью и плодом и основной функцией считается обеспечение необходимых условий для обмена в виде изменения площади поверхности и толщины самой мембраны. Толщина СКМ варьирует от 0,5 мкм до 2,0 мкм, а по некоторым данным составляет в среднем 3,7 мкм.

В результате морфологического исследования последов у монохориальных двоен было установлена связь с количеством и толщиной СКМ в исследуемых группах и развитием осложнений монохориального типа плацентации.

В группе женщин с ФФТС и СЗР статистически значимо было снижено количество СКМ в 1,8 и 1,6 раза и по сравнению с третьей группой ( $P_{1-3}=0,043, P_{2-3}=0,02$ ), (таблица 31).

**Таблица 31** - Характеристика синцитиокапиллярных мембран в исследуемых группах

Параметры	1-я группа (n=13)	2-я группа (n=10)	3-я группа (n=14)	Уровень значимости различий, p
Количество СКМ	2,36(1,15-3,5)	2,5(1,85-2,65)	3,69 (2,975- 5,575)	$P_{1-2}=0,425$ $P_{1-3}=0,043$ $P_{2-3}=0,02$
Толщина СКМ, мкм	10,4 (7,21- 12,21)	5,4(4,47-5,68)	5,73(5,79- 6,45).	$P_{1-2}=0,035$ $P_{1-3}=0,035$ $P_{2-3}=0,043$

--	--	--	--	--

Примечание:  $P_{1-2}$  – уровень значимости различий 1 и 2 группами,  $P_{1-3}$  - между 1 и группой сравнения,  $P_{2-3}$  - между 2 и группой сравнения.

Аналогично этому в группе женщин с осложнением как ФФТС наблюдается достоверное утолщение СКМ в 1,7 и 1,6 раза по сравнению со второй и третьей ( $P_{1-3}=0,043, P_{2-3}=0,02$ ). Беременность у женщин с ФФТС осложнялась формированием острой плацентарной недостаточности в 15,3% ( $n=2$ ) случаев в первой группе, в 29,41% ( $n=5$ ) во второй и с наименьшей частотой в группе сравнения в 6,25% ( $n=1$ ) и не соответствовали критериям достоверности ( $p>0,05$ ), (табл.30).

При анализе патоморфологических изменений и степени выраженности процессов адаптации и компенсаторных изменений в плацентах исследуемых групп субкомпенсированная плацентарная недостаточность наблюдалась в 69,2 % ( $n=9$ ) и 82,36 % ( $n=14$ ) случаев в первой и во второй группе, что в 1,2 и 1,4 раза превышало данный показатель в группе сравнения 56,3% ( $n=56,2$ ) случаев ( $p>0,05$ ). Признаки декомпенсированной плацентарной недостаточности наблюдались только в группе женщин с ФФТС и СЗР плода и регистрировались в первой группе в 23,07% ( $n=3$ ) случаев, во второй группе в 11,76% ( $n=2$ ) случаев. Аналогично острая плацентарная недостаточность наблюдалась с высокой частотой в группе женщин с осложненным течением беременности 15,3% ( $n=2$ ) и 29,41 % ( $n=5$ ) случаев против 6,25 % ( $n=1$ ) в группе сравнения ( $P>0,05$ ).

Таким образом, основными патоморфологическими изменениями в плацентах женщин с ФФТС и СЗР плода является высокая частота патологического прикрепления пуповины во второй группе, воспалительными изменениями в группе с женщин с ФФТС. В группе женщин с осложненным течением беременности наблюдается снижение компенсаторных возможностей, что показано более высокой частотой суб- и декомпенсированной плацентарной недостаточности. В результате данного

исследования наблюдается снижение степени выраженности СКМ в терминальных ворсинах плаценты при осложнении монохориального типа плацентации, что характеризует аномальную плацентацию и обуславливает формирование патологического шунтирования, формирование задержки внутриутробного развития и перинатальной патологии.

### **Заключение**

Монохориальные двойни по сравнению с дихориальными лидируют по частоте акушерских и перинатальных осложнений. При монохориальном типе плацентации регистрируется повышение показателей смертности плодов в 2-4 раза, частоты ранних преждевременных родов (до 32 недель) – в 2 раза, интранатальной гибели – в 6 раз [46].

Несмотря на значительное количество проведенных исследований до сегодняшнего дня отсутствует общепринятая теория патогенеза данного осложнения беременности, в связи, с чем имеет место несвоевременная диагностика.

При анализе и оценке проведенных исследований в изучении проблемы монохориального типа плацентации, следует отметить, что:

- ФФТС и СЗР плода из двойни являются основными причинами раннего родоразрешения данного контингента больных,
- недостаточно изучены вопросы раннего прогнозирования осложнений монохориального типа плацентации,
- применяемая в настоящее время селективная фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов позволяет пролонгировать беременность до сроков жизнеспособного плода, однако ведение данного контингента больных представляется достаточно сложным и сопровождается высокой частотой гибели плодов чаще всего плода донора,



- нет унифицированной схемы ведения таких пациенток во время беременности.

Для выполнения задач, поставленных в работе, проведен анализ результатов клинико-лабораторного проспективного когортного исследования 122 пациенток с монохориальной многоплодной беременностью, подразделенных на три группы в зависимости от наличия (ФФТС и СЗР плода – первая и вторая группы) или отсутствия осложнений (группа сравнения – третья группа).

В данном исследовании продемонстрировано, что монохориальная многоплодная беременность в исследуемых группах в 57% случаев наступила у женщин в возрасте 30 и более лет. Согласно литературным данным предполагается, что с увеличением возраста матери увеличивается частота наступления многоплодной беременности [36].

Однако в отношении, данной теории существуют разногласия, по данным некоторых авторов частота наступления монохориальной многоплодной беременности возрастает у женщин старше 35 лет [25], а по данным других авторов влияния возрастного фактора на увеличение частоты наступления монохориальной многоплодной беременности не наблюдается [121].

Влияния сопутствующей соматической патологии женщины на осложнения беременности у женщин с монохориальной двойней в отличие от группы сравнения не выявлено.

Установлено, что женщины с ФФТС в большинстве случаев были первородящими (73,4%), а пациентки с селективной задержкой роста плода – повторнородящими (70,3%). Акушерский анамнез женщин с СЗР плода чаще был отягощен бесплодием, вследствие чего беременность, наступившая в результате ВРТ наблюдалась в этой группе в 5,8 и 2,6 раза чаще, относительно показателей группы женщин с ФФТС и группой сравнения. Анализ клинического течения беременности выявил высокую частоту анемии у женщин с многоплодной монохориальной беременностью до 60%, угрозы прерывания беременности с формированием ИЦН, что потребовало

коррекции. Особенно высокая частота ИЦН регистрировалась у женщин с ФФТС, что было связано с многоводием (42,2%).

При оценке результатов эффективности фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов в первой группе женщин, положительный исход отмечался в 75,5% случаев, что согласуется с данными зарубежных авторов [72].

Средний срок беременности, при котором выполнялась операция, в данном исследовании составил  $19,6 \pm 2,1$  недель, минимальный срок гестации составил 16 недель, максимальный срок гестации при котором выполнялось оперативное вмешательство – 24 недели. В 24,5% наблюдений регистрировался неблагоприятный исход беременности, ввиду осложнений раннего послеоперационного периода, таких как: преждевременный разрыв плодных оболочек, антенатальная гибель обоих плодов. В дальнейшем беременность была завершена медикаментозной индукцией плодоизгнания. При изучении исходов беременности наибольший удельный вес осложнений регистрировался при III стадии ФФТС, и наличии синдрома анемии и полицитемии у плодов. Проведение оперативной коррекции ФФТС в первой группе женщин, позволило пролонгировать беременность в среднем на 13 недель, и срок родоразрешения составил  $33(\pm)4$  недель.

Большинство пациенток исследуемых групп (77,3%) были родоразрешены способом операции кесарева сечения. В первой группе при наличии одноплодной беременности после антенатальной гибели одного из плодов в 28,9 % случаев наблюдались роды через естественные родовые пути. Также у данного контингента пациенток в 13,3 % случаев роды произошли в доношенном сроке.

При изучении перинатальных исходов выявлено, что в **большинстве** 93,7% случаев в исследуемых группах дети родились недоношенными. Средний гестационный возраст у новорожденных от женщин с осложненным течением беременности был достоверно ниже по сравнению с группой

сравнения,  $31,6 \pm 3,6$  и  $32,7 \pm 2,7$  недель против  $34 \pm 2,18$  недель в третьей группе.

Анализ состояния детей на момент рождения (оценка на 1 и 5 минуте) установил, что большинстве случаев дети рождались в состоянии тяжелой асфиксии в первой и во второй группе.

При детальной оценке состояния детей на 1 минуте после родов у женщин с осложненным течением беременности тяжелое состояние асфиксии наблюдалось чаще у новорожденных в первой и группе и новорожденных с СЗР.

Различия в длительности проведения неинвазивной респираторной поддержки методом СРАР (биназальный), регистрировалось практически с одинаковой частотой во всех группах без достоверных различий. Это обусловлено сроком гестации и первую очередь в связи с недоношенностью. Однако длительность в респираторной поддержки в первой и второй группе новорожденных была более длительной по сравнению с группой сравнения. В первой группе новорожденных длительность СРАР (биназальный) составило  $11 \pm 5$  суток, во второй группе до  $4 \pm 2$  суток, в группе сравнения до  $2 \pm 1$  суток.

Искусственная вентиляция легких обусловленная тяжелыми дыхательными нарушениями в 1,3 и 3,1 раза больше применялась детям от родильниц первой группы по сравнению со второй и третьей группой.

Длительность реабилитации детей на втором этапе выхаживания в первой и второй группе достоверно выше, поскольку эти дети родились в тяжелом состоянии и реализовали патологию перинатального периода.

Высокая частота постнатальной гибели новорожденных в группе женщин с ФФТС обусловлена высокой частотой преждевременного родоразрешения. У каждой третьей женщины с ФФТС имела место постнатальная потеря.

В группе новорожденных после оперативной коррекции ФФТС и СЗР, характеризовались высокой частотой осложнений перинатального периода.

На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что новорожденные из группы ФФТС и СЗР перенесшие неблагоприятные факторы внутриутробного развития чаще реализовали патологию перинатального периода после родов.

Многоплодную беременность можно считать естественной моделью плацентарной недостаточности, в патогенезе которой существенную роль играет эндотелиальная дисфункция, дисбаланс анти- и ангиогенных факторов, метаболические нарушения. В основе осложнений монохориальной многоплодной беременности, как ФФТС так и селективной задержки роста плода лежат сосудистые осложнения в единой плаценте. Плацентарные анастомозы присутствуют практически во всех монохориальных двойнях, однако осложнения данного типа двоек развиваются не во всех случаях. Известно, что нарушения ангиогенеза, дисбаланс сосудистых факторов и связанная с ним аномальная плацентация, являются одной из главных причин таких осложнений беременности, как преэклампсия и плацентарная недостаточность [71,142].

Исследования функционального состояния эндотелия во II триместре беременности выявило, дисбаланс вазоактивных веществ у женщин с осложненным течением монохориальной беременности, который проявлялся в снижении общего нитрита азота при отсутствии значимых различий в содержании эндотелина-1. Необходимо отметить, что у женщин с СЗР плода на фоне выявленных изменений регистрировалось уменьшение концентрации нитрата.

Дисфункция эндотелия может обуславливать неполноценность ангиогенеза. Сосудисто-ростовые факторы участвуют в процессах инвазии трофобласта, а затем и нормальном формировании и функционировании плацентарной ткани, что в дальнейшем обеспечивает физиологическое течение беременности. Выявленный в данном исследовании дисбаланс сосудистых факторов, выражающейся в снижении концентрации ангиогенных ростовых факторов (PLGF) на фоне увеличения содержания

антиангиогенных (s-End), свидетельствует о наличии нарушений процессов плацентации. Полученные нами результаты согласуются с данными зарубежных исследований, демонстрирующих взаимосвязь ангиогенного состояния с формированием ФФТС [42,55,148].

Предполагается, что этиология ФФТС не может быть взаимосвязана с наличием только плацентарных анастомозов, так как сосудистые анастомозы обнаруживаются практически во всех монохориальных плацентах, а ФФТС встречается только в 10-15 % случаев, что, подтверждает гипотезу участия гуморальных факторов в патогенезе ФФТС.

Снижение концентрации ангиогенных ростовых факторов на фоне гипоксии или воздействия другого повреждающего агента, также может приводить к формированию СЗР одного плода из двойни. Считается, что основной причиной формирования задержки роста плода между близнецами является неравномерное распределение плацентарной ткани. Неправильное развитие плацентарной ткани на фоне снижения концентрации сосудисторостовых факторов при беременности, способствует неравномерному распределению плацентарной площадки у плодов, что возможно, является одним из механизмов формирования СЗР плода из двойни. Кроме того, снижение уровня ангиогенных факторов роста в сочетании с антиангиогенным состоянием, препятствует во втором триместре беременности нормальному развитию плацентарной ткани, и дальнейшей трансформации спиральных артерий в маточно-плацентарные сосуды.

В данном исследовании также показано, что ФФТС и СЗР определяются, как две различные патологии при монохориальной беременности, однако схожее антиангиогенное состояние (повышение концентрации в крови уровня эндоглина) в этих случаях может представлять взаимосвязь этих осложнений.

Определяющим фактором для начала каскада тканевой и органной регенерации является васкулогенез эндотелиальными прогениторными клетками. Согласно данным литературы процессы восстановления эндотелия

сосудов и ишемизированных тканей связаны с механизмом активации, пролиферации и миграции эндотелиальных прогениторных клеток.

В настоящем исследовании продемонстрировано, что у женщин с осложненным течением монохориальной беременности (ФФТС и СЗР плода) наблюдалось статистически значимое снижение относительного числа ЭПК: CD133+CD14+ и CD309+CD34+ - в обеих основных группах, CD133+CD34+, следствием чего является нарушение стабилизации и целостности эндотелия сосудов.

После оперативного лечения с использованием фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов у женщин с ФФТС наблюдалось повышение концентрации общего нитрата и нитрита, содержания PLGF; уровень эндоглина статистически значимо снижался, увеличивалось количество эндотелиальных прогениторных клеток, что свидетельствовало о восстановлении функциональной активности эндотелия к моменту родоразрешения.

Таким образом, нарушение продукции анги- и антиангиогенных факторов, эндотелиальных прогениторных клеток, дисбаланс вазоконстрикторов и вазодилататоров способствует реализации патологических состояний (фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка развития) при монохориальной беременности.

В рамках настоящего исследования впервые установлена ассоциация полиморфизма C936T гена VEGF-A с риском формирования ФФТС, что позволяет рассматривать полиморфный аллель VEGF-A: 936T, как возможный генетический маркер фето-фетального трансфузионного синдрома.

В результате морфологического исследования последов у монохориальных двоен было установлено связь с количеством и толщиной синцитио-капиллярных мембран в исследуемых группах и развитием осложнений монохориального типа плацентации.

Таким образом, проведенное комплексное исследование генетических маркеров нарушения процессов ангиогенеза, про- и антиангиогенных факторов роста, вазоактивных веществ, ЭПК, позволило определить звенья патогенеза осложнений монохориальных диамниотических двоен.

Показано, что совокупность нарушений выработки вазоактивных веществ (NO3), ангио- и антиангиогенных факторов (PLGF и s-End) может иметь высокую предикторную значимость для прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.

На основании полученных результатов предложен алгоритм обследования женщин с осложненной монохориальной беременностью для коррекции выявленных патологических состояний ведения беременности у пациенток с монохориальной двойней.

Таким образом, согласно обзору литературы ФФТС и СЗР плода являются наиболее значимыми осложнениями у монохориальных двоен. Вместе с тем характеризуются высокой перинатальной заболеваемостью и смертностью. Это обуславливает необходимость своевременной диагностики осложнений. Однако существующие на сегодня данные свидетельствуют о многофакторности заболеваний и недостаточной изученности вопроса осложнений монохориальной беременности.

Предложенные классификации ФФТС, СЗР носят описательный характер, и не дают четкой информации о прогнозе и исходе для плодов.

Определение сложности имеет ведение беременности осложненной СЗР с патологическими кровотоками, ввиду непредсказуемости критического ухудшения состояния плодов. На сегодняшний день также отсутствует общепринятая тактика ведения беременности с данным осложнением.

Механизмы формирования осложнений остаются непонятными. Роль ангиогенных, регуляция их на генетическом уровне, вазоактивных веществ и описанных в литературе, до конца не ясна, что определяет актуальность проведения исследований в этой области акушерства.

Снижение плацентарного кровотока вследствие хронической плацентарной недостаточности, наблюдаемое у беременных с осложненным течением монохориальной беременности, приводит к включению компенсаторных механизмов, направленных на восстановление перфузии плаценты. Плацента начинает вырабатывать вазоактивные и прокоагулянтные гормоны, происходит нарушение баланса между вазодилататорами (оксид азота, простациклин) и вазоконстрикторами (эндотелин, тромбоксан, фибронектин), в результате чего развиваются дизрегуляция тонуса сосудов, и усугубление плацентарной недостаточности.



Предполагается, что этиология ФФТС не может быть взаимосвязана с наличием только плацентарных анастомозов, так как сосудистые анастомозы обнаруживаются практически во всех монохориальных плацентах, а ФФТС встречается только в 10-15 % случаев, что, подтверждает гипотезу участия гуморальных факторов в патогенезе ФФТС.

Снижение концентрации ангиогенных ростовых факторов на фоне гипоксии или воздействия другого повреждающего агента, также может

приводить к формированию СЗР одного плода из двойни. Считается, что основной причиной формирования задержки роста плода между близнецами является неравномерное распределение плацентарной ткани. Неправильное развитие плацентарной ткани на фоне снижения концентрации сосудисторостовых факторов при беременности, способствует неравномерному распределению плацентарной площадки у плодов, что возможно, является одним из механизмов формирования СЗР плода из двойни. Кроме того, снижение уровня ангиогенных факторов роста в сочетании с антиангиогенным состоянием, препятствует во втором триместре беременности нормальному развитию плацентарной ткани, и дальнейшей трансформации спиральных артерий в маточно-плацентарные сосуды.

В данном исследовании также показано, что ФФТС и СЗР определяются, как две различные патологии при монохориальной беременности, однако схожее антиангиогенное состояние (повышение концентрации в крови уровня эндоглина) в этих случаях может представлять взаимосвязь этих осложнений.

Определяющим фактором для начала каскада тканевой и органной регенерации является васкулогенез эндотелиальными прогениторными клетками. Согласно данным литературы процессы восстановления эндотелия сосудов и ишемизированных тканей связаны с механизмом активации, пролиферации и миграции эндотелиальных прогениторных клеток.

В настоящем исследовании продемонстрировано, что у женщин с осложненным течением монохориальной беременности (ФФТС и СЗР плода) наблюдалось статистически значимое снижение относительного числа ЭПК: CD133+CD14+ и CD309+CD34+ - в обеих основных группах, CD133+CD34+, следствием чего является нарушению стабилизации и целостности эндотелия сосудов.

После оперативного лечения с использованием фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов у женщин с ФФТС наблюдалось повышение концентрации общего нитрата и нитрита,

содержания PLGF; уровень эндоглина статистически значимо снижался, увеличивалось количество эндотелиальных прогениторных клеток, что свидетельствовало о восстановлении функциональной активности эндотелия к моменту родоразрешения.

Таким образом, нарушение продукции анги- и антиангиогенных факторов, эндотелиальных прогениторных клеток, дисбаланс вазоонстрикторов и вазодилататоров способствует реализации патологических состояний (фето-фетальный трансфузионный синдром, селективная задержка развития) при монохориальной беременности.

В рамках настоящего исследования впервые установлена ассоциация полиморфизма C936T гена VEGF-A с риском формирования ФФТС, что позволяет рассматривать полиморфный аллель VEGF-A: 936T, как возможный генетический маркер фето-фетального трансфузионного синдрома.

В результате морфологического исследования последов у монохориальных двоен было установлена связь с количеством и толщиной СКМ в исследуемых группах и развитием осложнений монохориального типа плацентации.

Таким образом, проведенное комплексное исследование генетических маркеров нарушения процессов ангиогенеза, про- и антиангиогенных факторов роста, вазоактивных веществ, ЭПК, позволило определить звенья патогенеза осложнений монохориальных диамниотических двоен.

Показано, что совокупность нарушений выработки вазоактивных веществ (NO3), ангио- и антиангиогенных факторов (PLGF и s-End) может иметь высокую предикторную значимость для прогнозирования антенатальной гибели плода у монохориальных двоен после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.

На основании полученных результатов предложен алгоритм обследования женщин с осложненной монохориальной беременностью для коррекции выявленных патологических состояний.

## Алгоритм ведения пациенток с монохориальной диамниотической двойней

Определение типа плацентации у двоен, затем с 16 недель УЗИ каждые 2 недели

При выявлении ФФТС и СЗР, госпитализация в стационар III уровня, в центр фетальной хирургии

Решение вопроса о необходимости методов фетальной хирургии и объема оперативного вмешательства

ФФТС II-IV стадия - проведение фетоскопии и лазерной коагуляции плацентарных анастомозов

Определение концентрации плацентарного фактора роста (PLGF), нитрата азота (NO<sub>3</sub>) и уровня эндоглина-1 (s-End) в периферической крови беременных во втором триместре

При  $D < 0$ , решить вопрос о возможности применения лазерной коагуляции сосудов пуповины при наличии сопутствующих состояний, как тяжелая диссоциация в массе

СЗР плода

При наличии тяжелой СЗР плода из двойни (диссоциация более 50%)

Динамическое наблюдение за состоянием плодов по УЗИ

Коагуляция сосудов пуповины

## ВЫВОДЫ

1. Проведенный клинико-статистический анализ анамнестических данных, течения беременности, родов пациенток показал, что бесплодие в анамнезе у женщин с СЗР наблюдается 3,7 и 2,8 раза чаще по сравнению с женщинами с ФФТС и группы сравнения. Наиболее часто ФФТС формируется у повторнородящих женщин (в 73,4 % случаев), СЗРП – у первородящих женщин (в 70,3% случаев). Течение беременности у женщин с СЗРП осложняется субкомпенсированной плацентарной недостаточностью с нарушением маточно-плацентарного кровообращения (НМПК) 1Б степени в 37% случаев (6,6 и 2%). В группе женщин с ФФТС – преобладают экстренное кесарево сечение – 33,8%, в группе женщин с СЗР – плановое – 85,2%.
2. Новорожденные от женщин с ФФТС и СЗР плода имеют меньший гестационный возраст, массу тела и антропометрические показатели, в 2 раза чаще рождаются в состоянии асфиксии умеренной степени тяжести. Дети от женщин с ФФТС характеризуются высокой частотой осложнений перинатального периода и постнатальными потерями, необходимостью респираторной поддержки и более длительным пребыванием в отделениях реабилитации.

3. Проведение фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов в сроке гестации  $19,6 \pm 2,1$  недель, позволяет пролонгировать беременность в среднем на 13 недель. Эффективность фетальной хирургии (положительный исход беременности) составляет в 75,5 %. В 24,5 % случаев у пациенток регистрируется неблагоприятный исход беременности, проявляющийся осложнениями раннего послеоперационного периода (преждевременный разрыв плодных оболочек, антенатальная гибель обоих плодов). Установлено, что количество осложнений зависит от типа и стадии ФФТС. При III стадии ФФТС (TOPS) неблагоприятный исход беременности регистрируется в 15,5 % против 2,2 % при II и IV стадиях.
4. Нарушение компенсаторно-приспособительных функций плаценты при осложненной монохориальной беременности, обусловлено дисбалансом продукции основных регуляторов ангиогенеза (повышением содержания s-End при снижении концентрации PLGF), связанной с дисфункцией эндотелия (снижение общего нитрита) и уменьшением относительного количества эндотелиальных прогениторных клеток, что приводит к нарушению стабилизации и целостности эндотелия сосудов.
5. Носительство в генотипе женщины аллеля -936T гена VEGF в гомо - и/или гетерозиготном состоянии является фактором, повышающим риск формирования ФФТС при беременности с монохориальным типом плацентации.
6. Оценка содержания плацентарного фактора роста (PLGF), нитрата азота (NO<sub>3</sub>) и уровня эндоглина-1 (s-End) в периферической крови беременных во втором триместре периода гестации позволяет с эффективностью до 80% прогнозировать антенатальную гибель плода у монохориальных двойн после применения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. После определения типа плацентации, с 16 недель следует проводить УЗИ каждые 2 недели при выявлении осложнений монохориального типа плацентации (СЗР, ФФТС), пациенток следует направить в специализированные центры, где возможно применение методов фетальной хирургии.
2. Беременным при наличии показаний к оперативной коррекции ФФТС, необходимо дополнительное обследование на содержания плацентарного фактора роста (PLGF), нитрата азота (NO<sub>3</sub>) и уровня эндоглина-1 (s-End) в периферической крови беременных во втором триместре периода гестации, с целью определения риска антенатальной гибели плода после фетальной хирургии.
3. Для решения вопроса о возможности применения лазерной коагуляции сосудов пуповины при наличии сопутствующих состояний, как тяжелая диссоциация в массе плодов. Всех женщин с ФФТС, выделенных в группу высокого риска антенатальной гибели плода подлежащих оперативному лечению с применением фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов, на дооперационном этапе необходимо информировать о возможной гибели одного плода из двойни.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВРТ	вспомогательные репродуктивные технологии
УЗИ	ультразвуковое исследование
ФФТС	фето-фетальный трансфузионный синдром
СЗР	селективная задержка роста плода
СМА	средне-мозговая артерия
ВИР	время изоволемиического расслабления
АД	артериальное давление
eNOS	эндотелиальная NO-синтаза
NO	оксид азота
ФЛКП	фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов.
МВП	Межворсинчатое пространство
СКМ	Синцитио-капиллярные мембраны
ЭПК	Эндотелиальные прогениторные клетки

## Список литературы

1.	Башмакова Н. В. Ультразвуковая диагностика синдрома фето-фетальной трансфузии /Н.В.Башмакова, П.Б.Цывьян, Т.В. Маркова // Пренатальная диагностика. - 2006. – № 1.– С. 61–62.
----	---



2.	Башмакова Н. В. Фетальная хирургия: достижения и проблемы/ Н.В.Башмакова, Н В.Косовцова// Доктор.Ру.- 2017.- № 8.- С.17-22.
3.	Башмакова Н.В. Ангиогенные ростовые факторы и патогенез преэклампсии / Н.В.Башмакова, П.Б.Цывьян, Г.Н.Чистякова // Российский вестник акушера-гинеколога.- 2017.- № 5. – С.7-12.
4.	Башмакова Н.В. Монохориальная беременность. Преодоление проблем диагностики и лечения : монография / Н.В.Башмакова, Н.В.Косовцова, Т.В.Маркова.- Москва : Седьмой Легион, 2014.- С. 48-51.
5.	Белоцерковцева Л.Д. Актуальные проблемы самостоятельной и индуцированной многоплодной беременности / Л.Д.Белоцерковцева, Л.В.Коваленко, И.И.Мордовина // Север России: стратегии и перспективы развития: мат. III Всерос. науч.-практич. конф. - Сургут, 2017.- С. 21-26.
6.	Бондарь Т.П. Генетические факторы развития тромбофилии у беременных / Т.П. Бондарь, А.Ю. Муратова // Вестник РУДН. Серия. Медицина. – 2012. – № 1. – С. 119-120.
7.	Косовцова Н.В. Опыт инвазивной коррекции фето-фетального трансфузионного синдрома / Н.В. Косовцова, Н.В. Башмакова, В.В. Ковалев // Акушерство и гинекология. – 2013. - № 8. – С. 87-91.
8.	Косовцова Н.В. Селективный фетоцид при осложненном течении беременности монохориальной двойней или дихориальной тройней с использованием лазерной коагуляции сосудов пуповины / Н.В.Косовцова, Н.В.Башмакова, Т.В.Маркова // Российский

	вестник акушера-гинеколога. – 2016. –№1. - С.45-50.
9.	Костюков К.В. Диагностика синдрома селективной задержки роста плода, синдрома обратной артериальной перфузии при монохориальной многоплодной беременности / К.В.Костюков, К.А.Гладкова // Акушерство и гинекология. -2016.- №2.- С.14-18.
10.	Маркова Т.В. Селективная задержка роста одного плода из монохориальной двойни: современные методы ведения / Т.В.Маркова, Н.В.Косовцова, А.Н.Чуканова // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2016. –№3. - С.42-47.
11.	Медяникова И.В. Распространенность генетических полиморфизмов, ассоциируемых с тромбгеморрагическими и сосудистыми осложнениями гестационного периода, в когорте беременных женщин российской популяции / И.В.Медяникова, Ж.В.Гудинов // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 4/1. – С. 10-15.
12.	Николенко Л.А. Особенности показателей периферической крови и иммунного статуса у женщин во время беременности / Л.А. Николенко, Е.С.Головнева, Д.И.Алехина // Проблемы репродукции. – 2011. – № 1. – С. 106-109.
13.	Рапильбекова Г.К. Генетический полиморфизм метилентетрагидрофолатредуктазы, гипергомоцистеинемия и дефицит фолата как факторы риска развития синдрома потери плода / Г.К. Рапильбекова // Журнал акушерства и женских болезней. – 2007. – № 3. – С. 75-78.

14.	Ремизова И.И. Оценка роли нарушений гормональной и сосудистой регуляции при репродуктивных потерях / И.И.Ремизова, Г.Н.Чистякова, Л.С.Устьянцева //Актуальные проблемы современной науки: сб.тезисов научных работ VII межд. науч.-практич. конф. – Т.1.- С-Петербург, 2016. – С. 31-32.
15.	Савельева Г.М. Акушерство : национальное руководство / Г.М.Савельева, Г.Т.Сухих, В.Н.Серов.-2-е изд., перераб. и доп. - Москва. : ГЭОТАР-Медиа, 2015.- 1008с.
16.	Третьякова Т.Б. Роль полиморфных вариантов гена сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF- А в формировании неразвивающейся беременности / Т.Б.Третьякова, Н.В.Башмакова, Н.С.Демченко // Проблемы репродукции.- 2016.- № 6.- С. 33-37.
17.	Харкевич В.Л. Обоснование критериев и тактики ранней пренатальной диагностики фето-фетального трансфузионного синдрома при многоплодной беременности / О.Н.Харкевич, В.Л.Семенчук //Таврический медико-биологический вестник.- 2013.- №2, Ч.2.- С.128-132.
18.	Чистякова Г.Н. Функциональное состояние эндотелия и регуляция ангиогенеза в условиях формирования плацентарной недостаточности при беременности, индуцированной вспомогательными репродуктивными технологиями / Г.Н.Чистякова, И.А. Газиева, И.И.Ремизова // Клиническая лабораторная диагностика - 2016.– № 9. - С.610.

19.	Чулков В.С. Взаимосвязь гипергомоцистеинемии и генетического полиморфизма C-677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы с осложнениями беременности при хронической артериальной гипертензии / В.С.Чулков, Н.К.Вереина, С.П.Синицын // Акушерство и гинекология. – 2012. – Спецвыпуск. – С. 32-35.
20.	Шнейдерман Т.Х. Способ герметизации ятрогенных повреждений плодных оболочек при проведении фетальных хирургических вмешательств / Т.Х.Шнейдерман, Н.К.Фатхудинов, Н.К.Тетрашвили // Гинекология. -2018.- №1.- С. 84-87.
21.	Aksam S. First trimester ultrasonographic parameters in prediction of the course and outcome of monochorionic twin pregnancies / S.Aksam, S.Plesinac, J.Dotlic // Turkish Journal of Medical Sciences.-2017.- Vol.47.- P.934-941.
22.	Alahakoon T. Reduced angiogenic factor expression in intrauterine fetal growth restriction using semiquantitative immunohistochemistry and digital image analysis / T.Alahakoon, W.Zhang, S.Arbuckle // Journal of Obstetrics and Gynaecology Research,- 2018.- Vol.44, № 5.- P.861-872.
23.	Almeida W. Selective intrauterine growth restriction monochorionic diamniotic twin pregnancies: outcomes from a tertiary centre in Western Australia / W.Almeida, J.Hollingworth, J.Dickinson // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2017.- Vol.50.- P.130-136.
24.	Anami A. Outcome of monochorionic twin pregnancies with moderate amniotic fluid discordance without Twin-twin transfusion syndrome / A.Anami, K.Ishii, Y.Takahashi // Ultrasound in Obstetrics &

	Gynecology.- 2015.- Vol.46.- P.64-68.
25.	Andersen A.N. Assisted reproductive technology in Europe.Results generated from European registers by ESHRE/ A.N.Andersen, V.Goossens, L.Gianaroli // Human Reproduction.-2007.- Vol.22.- P.1513–1525,
26.	Armson B.A. Determinants of perinatal mortality and serious neonatal morbidity in the second twin / B.A.Armson //Obstetric Anesthesia Digest.0 2007.- Vol. 27, №1.- P.13.
27.	Asahara T. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis / T.Asahara //Science.-1997.- Vol.275.- P.964–966.
28.	Attar A. Endothelial progenitor cell subsets and preeclampsia: findings and controversies / A.Attar, A.Monabati, M.Parsanezhad // Journal of the Chinese Medical Association.- 2017.- Vol.80, № 10.- P.615-622.
29.	Bahtiyar M. In utero partial exchange transfusion combined with in utero blood transfusion for prenatal management of twin anemia-polycythemia sequence / M.Bahtiyar, E.Ekmekci, E.Demirel //Fetal. Diagnosis and Therapy, - 2018.- Vol.45, № 1.- P. 28-35.
30.	Bajoria R. Endothelin concentrations in monochorionic twins with severe twin-twin transfusion syndrome /R.Bajoria, M.Sullivan, N.M.Fisk //Hum. Reprod.- 1999. -Vol.14. – P.1614–1618.

31.	Bajoria R. Brain natriuretic peptide and endothelin-1 in the pathogenesis of polyhydramnios-oligohydramnios in monochorionic twins / R.Bajoria, S.Ward, R.Chatterjee // Am. J. Obstet. Gynecol. -2003. -Vol. 189.-P.189–194.
32.	Bamberg, C. Quantified discordant placental echogenicity in twin anemia-polycythemia sequence (TAPS) and middle cerebral artery peak systolic velocity / C.Bamberg, A.Diemert, P.Glosemeyer // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2018.- Vol.52, №3.- P.373-377.
33.	Barbosa, M. Fetoscopic laser photocoagulation for twin-to-twin transfusion syndrome treatment: initial experience in tertiary reference center in Brazil / M.Barbosa, S.Martins, E.Milani // Obstetrics & Gynecology Science.- 2018.- Vol.61, № 4.- P.461.
34.	Barrea C. Prenatal cardio-vascular manifestations in the twin-to-twin transfusion syndrome recipients and the impact of therapeutic amnioreduction / C.Barrea, F.Alkazaleh, H.Ryan // Am. J. Obstet. Gynecol.- 2005. -Vol.192.- P. 892–902.
35.	Beng B. Effect of twin pregnancy chorionic properties on maternal and fetal outcomes / B.Beng, J.Zhai, Y.Cai //Taiwan J. Obstet, Gynecol.- 2018. -Vol.57, № 3. -P.351-354.
36.	Bos-Mikich A. Monozygotic twinning in the IVF era: is it time to change existing concepts?/A.Bos-Mikich //J.Assist. Reprod. Genet.- 2018.- Vol.35, № 12.- P.2119-2120.

37.	Breatnach C. Postnatal myocardial function in monochorionic diamniotic twins with twin-to-twin transfusion syndrome following selective laser photocoagulation of the communicating placental vessels / C.Breatnach, N.Bussmann, P.Levy //Journal of the American Society of Echocardiography.- 2019.- Vol.32, № 6.- P.774-784.
38.	Buca D. Outcome of monochorionic twin pregnancy with selective intrauterine growth restriction according to umbilical artery doppler flow pattern of smaller twin: systematic review and meta-analysis / D.Buca, G.Pagani, G.Rizzo // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2017.- Vol.50, № 5.- P.559-568.
39.	Calcaterra F. Reduction of maternal circulating endothelial progenitor cells in human pregnancies with intrauterine growth restriction / F.Calcaterra, A.Taddeo, E.Colombo // Placenta.-2014.- Vol.35, № 7.- P.431-436.
40.	Carreras E. Arabin cervical pessary to prevent preterm birth in severe twin-to-twin transfusion syndrome treated by laser surgery / E.Carreras, S.Arévalo, J.Bello-Muñoz // Prenat. Diagn. -2012.-Vol.32,№12.- P.1181-1185.
41.	Chang Y. Fetoscopic laser coagulation of intertwin anastomoses reduces discordant placental autophagic activities in discordant twin growth / Y. Chang, T.Wang, S.Chang //Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology.- 2015.- Vol.54, №5.- P.580-582.
42.	Chon A. The impact of laser surgery on angiogenic and anti-angiogenic factors in twin–twin transfusion syndrome: a prospective study / A.Chon, E.Chavira, M.Wilson // The Journal of Maternal-Fetal &

	Neonatal Medicine.- 2017.- Vol.4.- P.1-7.
43.	Cincotta R. Future directions in the management of twin-to-twin transfusion syndrome / R.Cincotta, S.Kumar // Twin Research and Human Genetics. -2016.- Vol.19, №3.- P.285-291.
44.	Colmant C. Natural history of early selective intrauterine growth restriction in monochorionic diamniotic pregnancies / C.Colmant, J.Stirnemann, I.Mediouni // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. - 2017.- Vol.50.- P.128-131.
45.	Cooper S. Iatrogenic myometrial defect following fetoscopic laser therapy for twin-twin transfusion syndrome (TTTS) / S.Cooper // Obstetrics and Gynaecology Cases Reviews. – 2016.- Vol.3, №1.- P.2377-2393.
46.	Coutinho Nunes F. Monochorionic versus dichorionic twins: Are obstetric outcomes always different? / F.Coutinho Nunes, A.Domingues, M.Vide Tavares //J.Obstet. Gynaecol. – 2016.- Vol.36, №5.- P.598-601.
47.	Dekoninck P. Gestational age-specific reference ranges for amniotic fluid assessment in monochorionic diamniotic twin pregnancies / P. Dekoninck, J.Deprest, P.Lewi // Ultrasound. Obstet. Gynecol.- 2015.- Vol. 41.- P.649-452.
48.	Denbow M. Placental angioarchitecture in monochorionic twin pregnancies: Relationship to fetal growth, fetofetal transfusion syndrome, and pregnancy outcome / M.Denbow, P.Cox, M.Taylor //



	American Journal Of Obstetrics and Gynecology.- 2001.- Vol. 182, №2.- P.417-426.
49.	Diehl W. Fetoscopic laser coagulation in 1020 pregnancies with twin-twin transfusion syndrome demonstrates improvement in double-twin survival rate / W.Diehl, A.Diemert, D.Grasso // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. -2017.- Vol.50, № 6.- P.728-735.
50.	Djaafri F. Twin–twin transfusion syndrome – What we have learned from clinical trials / F.Djaafri, J.Stirnemann, I.Mediouni // Fetal. and Neonatal. Medicine.- 2017.- Vol.22, № 6.- P.367-375.
51.	Duryea E. A natural history of twin-twin transfusion syndrome by quintero stage / E.Duryea, S.Happe, D.McIntire // Ultrasound. Med. Biol.- 2015.- Vol.41, № 4.- P.24.
52.	Dziadosz M. Re-thinking elective single embryo transfer: increased risk of monozygotic twinning - a systematic review / M.Dziadosz // Fetal Diagnosis and Therapy, - 2018.- Vol.42, № 2.- P.81-91.
53.	Fichera A. Outcome of monozygotic diamniotic twin pregnancies followed at a single center / A.Fichera, F.Prefumo, V.Stagnati //Prenat. Diagn.- 2015.- Vol.35, №11.- P.1057-1064.
54.	Fischbein R. Twin-twin transfusion syndrome screening and diagnosis in the United States: A triangulation design of patient experiences / R.Fischbein, L.Nicholas, J.Aultman // Plos One.- 2018.- Vol.13, №7.- P.200-287.

55.	Fox C. Maternal plasma and amniotic fluid angiogenic factors and their receptors in monochorionic twin pregnancies complicated by twin-to-twin transfusion syndrome /C.Fox, G.Lash, S.Pretlove // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.- 2009.- Vol.102.- P.15-75.
56.	Genova L. Management of twin anemia-polycythemia sequence using intrauterine blood transfusion for the donor and partial exchange transfusion for the recipient / L.Genova, F.Slaghekke, F.Klumper // Fetal. Diagn. Ther.- 2013.- Vol 34.- P 121–126.
57.	Gil Guevara E. Doppler assessment of patients with twin-to-twin transfusion syndrome and survival following fetoscopic laser surgery / E.Gil Guevara, A.Pazos, O.Gonzalez // International Journal Of Gynecology & Obstetrics, - 2017.- Vol.137, №3.- P.241-245.
58.	Gils C. Thrombophilia prevalence among women with placenta-mediated pregnancy complications / C.Gils, M.Nybo // International Journal of Gynecology & Obstetrics.- 2016.- Vol.134, №2.- P.156-159.
59.	Gnanendran L. Neurodevelopmental outcomes of preterm singletons, twins and higherorder gestations: a population-based cohort study / L. Gnanendran, B.Bajuk, J.Oei //Arch. Dis. Child. Fetal. Neonatal.- 2015.- Vol.100, №2.- P.106–114.
60.	Gordon B. Incidental septostomy after laser surgery for twin-twin transfusion syndrome: perinatal outcomes and antenatal management / B.Gordon, A.Chon, L.Korst //American Journal Of Obstetrics and Gynecology.- 2017.- Vol.216, №1.- P.170- 184.

61.	Goya M. Practice guidelines: role of ultrasound in twin pregnancy / M.Goya, E.Carreras, L.Cabero // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. -2016.- Vol.48, № 5.- P.669-670.
62.	Gratacós E. Incidence and characteristics of umbilical artery intermittent absent and/or reversed end-diastolic flow in complicated and uncomplicated monochorionic twin pregnancies / E.Gratacós, L.Lewi, E.Carreras // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.- 2004.- Vol.23, № 5.- P.456-460.
63.	Gratacós E. A classification system for selective intrauterine growth restriction in monochorionic pregnancies according to umbilical artery doppler flow in the smaller twin / E.Gratacós, L.Lewi, B.Muñoz // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.- 2007.- Vol.30, №1.- P.28-34.
64.	Gratacós E. A systematic approach to the differential diagnosis and management of the complications of monochorionic twin pregnancies / E.Gratacós, J.Ortiz, J.Martinez //Fetal. Diagnosis and Therapy.- 2012.- Vol.32, №3.- P.145-155.
65.	Groene S. Placental characteristics in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction in relation to the umbilical artery Doppler classification / S.Groene, L.Tollenaar, F.Slaghekke // Placenta.- 2018.- Vol.71.- P.1-5.
66.	Gumina D. Umbilical cord blood circulating progenitor cells and endothelial colony-forming cells are decreased in preeclampsia /D.Gumina, C.Black, V.Balasubramaniam // Reproductive Sciences.- 2016.- Vol.24, №7.- P. 1088-1096.

67.	Gupta S. Adverse pregnancy outcomes in twin pregnancies Reduced to singleton pregnancies and ongoing twin pregnancies / S.Gupta, N.Fox, J.Feinberg // <i>Ultrasound. Med. Biol.</i> - 2015.- Vol.41, №4.- P.39.
68.	Hack K. Perinatal outcome of monochorionic and dichorionic twins after spontaneous and assisted conception: a retrospective cohort study / K.Hack, M.Vereycken, H.Torrance // <i>Acta Obstet Gynecol Scand.</i> - 2018.- Vol.97, №6.- P>717-726.
69.	Has R. Stage-related outcome after fetoscopic laser ablation in twin-to-twin transfusion syndrome / R.Has, L.Kalelioglu, E.Corbacioglu // <i>Fetal. Diagnosis and Therapy.</i> - 2017.- Vol. 36, №4.- P.287-292.
70.	Hecher K. Long-term outcomes for monochorionic twins after laser therapy in twin-to-twin transfusion syndrome / K.Hecher, H.Gardiner, A.Diemert // <i>Lancet Child Adolesc Health.</i> -2018.- Vol.2, №7.- P.525-535.
71.	Herraiz I. Update on the diagnosis and prognosis of preeclampsia with the aid of the sFlt-1/ PIGF ratio in singleton pregnancies / I.Herraiz, E.Lurba, S.Verlohren // <i>Fetal. Diagn. Ther.</i> - 2017.- Vol.43, №2.-P.81-89.
72.	Hoffman M. Perinatal outcomes of single fetal survivor after fetal intervention for complicated monochorionic twins. / M.Hoffman, M.Habli, R.Donepudi // <i>Prenat. Diagn.</i> - 2018.- Vol.38, №7.- P.511-516.

73.	Huber A. How can we diagnose and manage twin-twin transfusion syndrome? / A.Huber, K.Hecher // Best. Pract.Res.Clin.Obstet.Gynaecol.- 2004.- Vol.18, №4.- P.543-556.
74.	Hussey T. MCDA twin pregnancy: is it TTTS or TAPS / T.Hussey, N.Shah, A.Govind //J. Obstet. Gynaecol.- 2017.- Vol.37, №8.- P.1091-1092.
75.	Ichinomiya K. Comparison of neurodevelopmental outcomes between monochorionic and dichorionic twins with birth weight $\leq 1500$ g in Japan: a register-based cohort study / K.Ichinomiya, K.Maruyama, K.Koizumi // Journal of Perinatology.- 2018.- Vol.10.- P.160-190.
76.	Ishii K. Perinatal outcome of monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction and different types of umbilical artery doppler under expectant management / K.Ishii, T.Murakoshi, Y.Takahashi // Fetal. Diagnosis and Therapy.- 2009.- Vol.26, №3.- P>157-161.
77.	Johnson A. Diagnosis and management of twin-twin transfusion syndrome / A.Johnson // Clin. Obstet. Gynecol. -2015.- Vol.58, №3.- P.611-631.
78.	Kawamura H. The significance of chorionicity on long-term outcome of low birthweight infants of less than 1,500 grams in twin pregnancies / H.Kawamura, K.Ishii, N.Yonetani // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2015.- Vol.46.- P.16-17.

79.	Khalil A. ISUOG practice guidelines: role of ultrasound in twin pregnancy/ A.Khalil, M.Rodgers, A.Baschat // Ultrasound Obstet. Gynecol.- 2016.- Vol.47, №2.- P. 247-263.
80.	Khalil A. Modified diagnostic criteria for twin-twin transfusion syndrome prior 18 weeks gestation: Time to change? / A.Khalil // Ultrasound. Obstet. Gynecol.- 2017.- Vol.25.- P.34-39.
81.	Khalil E. Thilagana than Evolution of stage 1 twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS): systematic review and meta-analysis / E.Khalil, R.Cooper, S.Townsend // Twin. Res. Hum. Genet.- 2016.- Vol.19.- P. 207-216.
82.	Khan S.S. Detection of circulating endothelial cells and endothelial progenitor cells by flow cytometry / S.S.Khan, M.A.Solomon, Y.T.McCoy //Clinical. Cytometry. -2005.- Vol.64, №1. -P .1–8.
83.	Konno H. The roles of superficial anastomoses in twin-twin transfusion syndrome / H.Konno, T.Murakoshi, M.Matsushita // Placenta.- 2019.- Vol.82.- P.5-9.
84.	Konno H. Roles of venovenous anastomosis and umbilical cord insertion abnormalities in birthweight discordance in monochorionic-diamniotic twin pregnancies without twin-twin transfusion syndrome / H.Konno, T.Murakoshi, A.Yamashita // Journal of Obstetrics and Gynaecology Research. -2018.- Vol.44, №4.- P.623-629.
85.	Kontopoulos E. Twin-to-twin transfusion syndrome: definition, staging, and ultrasound assessment / E.Kontopoulos, R.Chmait, R.Quintero // Twin Research and Human Genetics.- 2016.- Vol. 19, №3.- P. 175-183.

86.	Kosińska-Kaczyńska K. Perinatal outcome according to chorionicity in twins — a Polish multicenter study / K.Kosińska-Kaczyńska, I.Szymusik, D.Bomba-Opoń //Ginekol. Pol.- 2016.- Vol.87, №5.- P>384-389.
87.	Kusanovic J.P. Diagnosis and management of twin-twin transfusion syndrome / J.P.Kusanovic, R.Romeo, J.Espinoza //Am. J. Obstet. Gynecol.- 2008.- Vol.198.- P.1-198.
88.	Lanna M. Color-dye injection of monochorionic placentas and correlation with pregnancy complications / M.Lanna, D.Consonni, S.Faiola // Placenta. 2015.- Vol.36, №10.- P.1095-1099.
89.	Lanna M. Colour dye injection of placental vascular anastomoses in monochorionic twin pregnancy / M.Lanna, S.Faiola, V.Schena // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2014.- Vol.44.- P.298-299.
90.	Lecointre L. Fetoscopic laser coagulation for twin-twin transfusion syndrome before 17 weeks' gestation: laser data, complications and neonatal outcome / L.Lecointre, N.Sananes, A.Weingertner // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2014.- Vol.44, №3.- P.299-303.
91.	Lewi L.E. Pregnancy and infant outcome of 80 consecutive cord coagulations in complicated monochorionic multiple pregnancies / L.E.Lewi. E.Gratacós, D.Ortibus //Am. J. Obstet. Gynecol.- 2006.- Vol. 194.- P.782-798.

92.	Lewi L. Intertwin anastomoses in monochorionic placentas after fetoscopic laser coagulation for twin-to-twin transfusion syndrome: is there more than meets the eye? / L.Lewi, J. Jani, M.Cannie // Am. J. Obstet. Gynecol.- 2006.- Vol.194.- P.790-795.
93.	Lisanne S. Twin anemia polycythemia sequence: current views on pathogenesis, diagnostic criteria, perinatal management, and outcome / S.Lisanne, J.Tollenaar, F.Slaghekke // Twin. Res. Hum. Genet.- 2016.- Vol.19, №3.- P.222-233.
94.	Liu H. Elevated incidence of monozygotic twinning is associated with extended embryo culture, but not with zona manipulation or freeze-thaw procedure / H.Liu, J.Liu, S.Chen // Fertility and Sterility.- 2018.- Vol.109, №6.- P.1044-1050.
95.	Lopriore E. Outcome of monochorionic twin pregnancy with selective intrauterine growth restriction according to umbilical artery doppler flow pattern of smaller twin: systematic review and meta-analysis / E.Lopriore, D.Buca, G.Pagani // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2018.- Vol.50, №5.- P.557-557.
96.	Mackie F. The prediction, diagnosis and management of complications in monochorionic twin pregnancies: the OMMIT (Optimal Management of Monochorionic Twins) study / F.Mackie, R.Morris, M.Kilby// BMC Pregnancy Childbirth.- 2017.- Vol.17, №1.- P.1184-1186.
97.	Mackie F. Prognosis of the co-twin following spontaneous single intrauterine fetal death in twin pregnancies: a systematic review and meta-analysis / F.Mackie, A.Rigby, R.Morris // BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. -2018.- Vol.3.- P.89-97.



98.	Magann E. The ultrasound estimation of amniotic fluid volume in diamniotic twin pregnancies and prediction of peripartum outcomes / E.Magann, D.Doherty, C.Ennen // American Journal of Obstetrics and Gynecology. -2007.- Vol.196, №6.- P.570-578.
99.	Mahieu-Caputo D.Twin-to-twin transfusion syndrome: role of the fetal renin-an-giotensin system / D.Mahieu-Caputo, M.Dommergues, A.L.Delezoide // Am. J. Pathol. - 2000. –Vol.156.- P.629–636.
100.	Marsit C.J. Developmental genes targeted for epigenetic variation between twin-twin transfusion syndrome children / C.J.Marsit, D.C.Koestler, D.Watson-Smith // Clin.Epigenet.-2013.- Vol.5.- P.18.
101.	McWhirter A. Fetoscopic laser coagulation vs. expectant management for stage i twin-twin transfusion syndrome / A.McWhirter, R.Speranza, J.Thompson // Obstetrics & Gynecology. -2019.- Vol.133.- P.1-3.
102.	Morris R. Fetoscopic laser coagulation for severe twin-to-twin transfusion syndrome: factors influencing perinatal outcome, learning curve of the procedure and lessons for new centres / R.Morris, T.Selman, A.Harbidge // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2018.- Vol.56.- P.123-143.
103.	Murata S. Perinatal outcomes following preferential modified sequential selective laser photocoagulation surgery for twin-twin transfusion syndrome / S.Murata, M.Nakata // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology. – 2015.- Vol.46.- P.92-96.
104.	Oliveira V. Intrauterine growth restriction-induced deleterious adaptations in endothelial progenitor cells: possible mechanism to impair endothelial function / V.Oliveira, L.de Souza, T.Fernandes // J.

	Dev. Orig. Health. Dis. -2017.- Vol.8, № 6.- P.665-674.
105.	Ota S. Transient amniotic fluid leakage after fetoscopic laser photocoagulation for twin-twin transfusion syndrome / S.Ota, K.Ishii, H.Kawamura // Journal of Obstetrics and Gynaecology Research.- 2017.- Vol.44, №2.- P.223-227.
106.	Papanna R. Cervical length in prediction of preterm birth after laser surgery for twin-twin transfusion syndrome / R.Papanna, L.Mann, A.Baschat // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2015.- Vol.45, №2.- P.175-182.
107.	Parra Cordero M. Cord occlusion in monochorionic twins with early selective intrauterine growth restriction and abnormal umbilical artery doppler: a consecutive series of 90 cases / M.Parra Cordero, M. Bennasar, J.M.Martínez // Fetal. Diagn. Ther.- 2016.- Vol.39.- P.186-191.
108.	Peeva G. Endoscopic placental laser coagulation in monochorionic diamniotic twins with type II selective fetal growth restriction / G.Peeva, S.Bower, L.Orosz // Fetal. Diagn. Ther.- 2015.- Vol.38.- P. 86-93.
109.	Priyani A. Placental pathology in birth weight discordant monochorionic and dichorionic twins / A.Priyani, N.Gamage, T.Dias // Journal of Diagnostic Pathology.- Vol.11, №1.- P.12.
110.	Quintero R. Staging of twin-twin transfusion syndrome / R.Quintero, W.Morales, M.J.Allen // Perinatol.- 1999.- Vol.19, № 1.- P.550-555.

111.	Rana S. Angiogenic biomarkers in triage and risk for preeclampsia with severe features / S.Rana, S.Salahuddin, A.Mueller // Pregnancy Hypertension.- 2018.- Vol.13.- P.100-106.
112.	Rode L. Prevention of preterm delivery in twin pregnancy / L.Rode, A.Tabor // Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.- 2014.- Vol.28, №2.- P.273–283.
113.	Ruoti Cosp M. Selective intrauterine growth restriction in monochorionic-diamniotic twins: diagnosis and management / M.Ruoti Cosp // Del. Nacional. – 2016.- Vol.8, №1.- P.43-61.
114.	Rustico M. Selective intrauterine growth restriction in monochorionic twins: changing patterns in umbilical artery doppler flow and outcomes / M.Rustico, D.Consonni, M.Lanna // Ultrasound in Obstetrics & Gynecology.- 2017.- Vol.49, №3.- P.387-393.
115.	Schachter-Safrai N. Risk factors for cesarean delivery and adverse neonatal outcome in twin pregnancies attempting vaginal delivery / N.Schachter-Safrai, G.Karavani, R.Haj-Yahya // Obstetric Anesthesia Digest. – 2019.- Vol.39, № 2.- P.99.
116.	Schrey-Petersen S. Anti-angiogenesis and Preeclampsia in 2016 / S.Schrey-Petersen, H.Stepan // Hypertens Rep.- 2017.- Vol.19, № 1.- P.45-49.
117.	Science L. Countries with most twins identified / L.Science // Published.- 2019.- Vol.14.- P.34-68.
118.	Seo K. Twin-reversed arterial perfusion sequence using high-intensity focused ultrasound therapy / K.Seo, K.Ichizuka, T.Okai // Ultrasound

	Obstet. Gynecol.- 2018.- Vol.10.- P.100-220.
119.	Shamshirsaz A. Comparison between laparoscopically assisted and standard fetoscopic laser ablation in patients with anterior and posterior placentation in twin-twin transfusion syndrome: a single center study/ A.Shamshirsaz, P.Javadian, R.Ruano // Prenat. Diagn.- 2015.- Vol.35, № 4.- P.376-381.
120.	Shulman L. A prospective, randomized, multicenter trial of amnioreduction vs selective fetoscopic laser photocoagulation for the treatment of severe twin-twin transfusion syndrome / L.Shulman // Yearbook of Obstetrics Gynecology and Women's Health.- 2008.- Vol.4.- P.57-58.
121.	Skiadas C. Risk factors associated with pregnancies containing a monochorionic pair following assisted reproductive technologies / C. Skiadas, S.Missmer, C.Benson // Human Reproduction.- 2016.- Vol.23, № 6.- P.1366-1371.
122.	Slaghekke F. Twin anemia-polycythemia sequence: diagnostic criteria, classification, perinatal management and outcome / F.Slaghekke, W.J. Kist, D.Oepkes // Fetal.Diagn Ther.- 2010.- Vol.27, № 4.- P.181-190.
123.	Slaghekke F. Fetoscopic laser coagulation of the vascular equator versus selective coagulation for twin-to-twin transfusion syndrome: an open-label randomised controlled trial / F.Slaghekke, E.Lopriore, L.Lewi // The Lancet.- 2014.- Vol.383.- P.2144-2151.

124.	Slaghekke F. Antenatal management of twin-twin transfusion syndrome and twin anemia-polycythemia sequence / F.Slaghekke, D.Zhao, J.Middeldorp // <i>Expert. Rev. Hematol.</i> - 2016.- Vol.9, №8.- P.815-820.
125.	Smits J. Twinning across the developing world / J.Smits, C.Monden // <i>Plos One.</i> - 2011.- Vol.6, №9.- P.25-39.
126.	Sobek A. High incidence of monozygotic twinning in infertility treatment / A.Sobek, M.Prochazka, E.Klaskova // <i>Biomedical Papers.</i> - 2016.- Vol.34.- P.78-80.
127.	Song B. Prevalence and risk factors of monochorionic diamniotic twinning after assisted reproduction: A six-year experience base on a large cohort of pregnancies / B.Song, Z.Wei, X.Xu // <i>Plos One.</i> - Vol.12, №11.- P.234-248.
128.	Soriano-Ramos M. Congenital laser-induced burns: a potential complication after laser photocoagulation in monochorionic twin pregnancy / M.Soriano-Ramos, E.Bergón-Sendín, M.Moral-Pumarega // <i>Fetal. And Pediatric Pathology.</i> - 2019.- Vol.10.- P.1-5.
129.	Stagnati V. Early prediction of twin-to-twin transfusion syndrome: systematic review and meta-analysis / V.Stagnati, C.Zanardini, A.Fichera // <i>Ultrasound in Obstetrics &amp; Gynecology.</i> - 2017.- Vol.49, №5.- P.573-582.
130.	Stirnemann J. Evaluation of the CHOP cardiovascular score as a prognostic predictor of outcome in twin– twin transfusion syndrome after laser coagulation of placental vessels in a prospective cohort / J.Stirnemann, B.Nasr, F.Proulx // <i>Ultrasound Obstet. Gynecol.</i> - 2010.-

	Vol.36.- P. 52–57.
131.	Stirnemann J. Preterm premature rupture of membranes is a collateral effect of improvement in perinatal outcomes following fetoscopic coagulation of chorionic vessels for twin-twin transfusion syndrome: a retrospective observational study of 1092 cases / J.Stirnemann, F.Djaafri, A.Kim // International Journal of Obstetrics & Gynaecology.- 2017.- Vol.125, №9.- P.1154-1162.
132.	Stockman J. Endoscopic laser surgery versus serial amnioreduction for severe twin-to-twin transfusion syndrome / J.Stockman // Pediatrics. - 2006.- Vol.5.- P.393-394.
133.	Szpera-Goździewicz A. Circulating endothelial cells, circulating endothelial progenitor cells, and von Willebrand factor in pregnancies complicated by hypertensive disorders / A.Szpera-Goździewicz, M.Majcherek, M.Boruckowski // American Journal of Reproductive Immunology.- 2017.- Vol.77, №3.- P.12-62.
134.	Tauzin M. Le monde des jumeaux : aspects épidémiologiques et génétiques, enjeux obstétricaux, risques spécifiques et devenir / M.Tauzin,A. Felix, C.Michot //Archives de Pédiatrie.- 2017.- Vol.24, №12.- P.1299-1311.
135.	Tchirikov M. Monochorionic twin pregnancy: screening, pathogenesis of complications and management in the era of microinvasive fetal surgery / M.Tchirikov // J. Perinat. Med.- 2010.- Vol.38.- P. 451–459.

136.	Tollenaar L. Twin anemia polycythemia sequence: current views on pathogenesis, diagnostic criteria, perinatal management, and outcome / L.Tollenaar, F.Slaghekke, J.Middeldorp // Twin. Res. Hum. Genet.- 2016.- Vol.19, №3.- P.222-233.
137.	Townsend R. Twin pregnancy complicated by selective growth restriction / R.Townsend, A.Khalil // Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. -2016.- Vol.28, №6.- P.485-491.
138.	Townsend R. Ultrasound surveillance in twin pregnancy: An update for practitioners / R.Townsend, A.Khalil // Ultrasound.- 2018.- Vol.26, №4.-P.193-205.
139.	Trojner Bregar A. Outcome of monochorionic-biamniotic twins conceived by assisted reproduction: a population-based study / A.Trojner Bregar, I.Blickstein, I.Verdenik //J. Perinat. Med. -2016.- Vol.44 №8.- P.10-55.
140.	Van Winden K. Decreased total placental mass found in twin-twin transfusion syndrome gestations with selective growth restriction / K.Van Winden, R.Quintero, E.Kontopoulos // Fetal, Diagn, Ther. - 2016.- Vol.40, №2.- P.116-122.
141.	Vanderheyden T. Increased latency of absent end-diastolic flow in the umbilical artery of monochorionic twin fetuses / T.Vanderheyden, A.Fichera, L.Pasquini // Ultrasound in Obstetrics and Gynecology. - 2005.- Vol.26, № 1.- P.44-49.

142.	Watanabe K. Placental oxidative stress, angiogenic factor and maternal endothelial function in pregnant women with normotensive fetal growth restriction /K.Watanabe, A.Yoshida, A.Wakatsuki // Pregnancy Hypertens.- 2018.- Vol.13.- P.72-73.
143.	Weiner E. Placental histopathology differences and neonatal outcome in dichorionic–diamniotic as compared to monochorionic–diamniotic Twin pregnancies / E.Weiner, E.Barber, O.Feldstein // Reproductive Sciences.- 2017.- Vol.25, №7.- P.1067-1072.
144.	Wohlmuth C. Placental anastomoses in a spontaneous monochorionic-triamniotic triplet pregnancy / C.Wohlmuth // Am. J. Obstet. Gynecol. - 2019.- Vol.10.- P.89-95.
145.	Wohlmuth C. Changes in ductus venosus flow profile in twin-twin transfusion syndrome: role in risk stratification / C.Wohlmuth, F.Osei, K.Moise //Ultrasound In Obstetrics & Gynecology.- 2016.-Vol.48, №6.- P.744-751.
146.	Wood A. Intrahepatic cholestasis of pregnancy / A.Wood, E.Livingston, B.Hughes // Obstet. Gynecol. Surv.- 2018.- Vol.73, №2.- P.103-109.
147.	Yamamoto M. Three-dimensional sonographic assessment of fetal urine production before and after laser surgery in twin-to-twin transfusion syndrome / M.Yamamoto. B.Essaoui, N.Nasr // Ultrasound. Obstet. Gynecol.- 2007.- Vol.30.- P. 972-976.
148.	Yinon Y. Circulating angiogenic factors in monochorionic twin pregnancies complicated by twin-to-twin transfusion syndrome and selective intrauterine growth restriction / Y.Yinon, E.Ben Meir,



	A.Berezowsky //American. Journal of Obstetrics and Gynecology.- 2014.- Vol.210, №2.- P.1411-1417.
149.	Yucel A. Fetoscopic laser coagulation in twin-twin transfusion syndrome: case series / A.Yucel, D.Uygur // Gynecology Obstetrics & Reproductive Medicine.- 2018.- Vol.24, №1.- P.52.
150.	Zhao D. Comparison between monochorionic and dichorionic placentas with special attention to vascular anastomoses and placental share / D.Zhao, M.Lipa, M.Wielgos // Twin Research And Human Genetics.- 2016.- Vol. 19, №3.- P.191-196.

