

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ім. М.І. ПИРОГОВА  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ім. М.І. ПИРОГОВА**

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**ЛАСТОВЕЦЬКА ОКСАНА БОГДАНІВНА**

УДК 618.39: 615.036.8

**ДИСЕРТАЦІЯ  
ПРОФІЛАКТИКА ЕМБРІОНАЛЬНИХ ВТРАТ У ЖІНОК ПІЗЬНОГО  
РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ІЗ ПОРУШЕННЯМ МЕТАБОЛІЗМУ  
ФОЛАТІВ**

222 Медицина  
22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

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

  
\_\_\_\_\_ Ластовецька О.Б.

Науковий керівник - **Булавенко Ольга Василівна**, доктор медичних наук,  
професор

Вінниця – 2021

## АНОТАЦІЯ

*Ластовецька О.Б.* Профілактика ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – «Медицина». - Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021.

Дисертаційне дослідження присвячено вирішенню актуального завдання сучасного акушерства та гінекології – зниженню частоти ранніх втрат вагітності та перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів на основі удосконалення клініко-діагностичних підходів та оптимізації профілактичних заходів. Актуальність дослідження визначається зростанням частоти невиношування вагітності на ранніх термінах, несвоечасністю доклінічно значимої діагностики та способів ранньої адекватної профілактики розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку з урахуваннями генетично-детермінованих особливостей функціонування фолатного циклу.

Дослідження проведено із дотриманням основних біоетичних норм згідно положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації (1964 р.) та законодавства України.

Дослідження складалось з трьох етапів: на першому етапі було встановлено частоту розладів метаболізму фолатів за результатами оцінки носійства поліморфізмів *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR* та аналізу сироваткового рівня фолієвої кислоти (ФК); з'ясовано особливості соціального, соматичного, гінекологічного та акушерського анамнезів у жінок пізнього репродуктивного віку з порушенням метаболізму фолатів. Встановлено, що у жінок пізнього репродуктивного віку наявність генотипів *C/T* та *T/T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* асоціювалась зі збільшенням ризику виникнення ембріональних втрат

(ВШ 3,50, 95% ДІ, 1,63-7,51,  $p=0,001$ ). У вагітних жінок основної групи з мінорним генотипом  $T/T$  та генотипом  $C/T$  за поліморфізмом  $rs1801133$  ( $677 C>T$ ) гена  $MTHFR$  реєструвались статистично значуще зниження рівня ФК у сироватці крові – в 3,3 та 1,55 рази порівняно з групою контролю ( $p < 0,05$ ). Було встановлено, що носійство поліморфізму  $rs1801133$  ( $677 C>T$ ) гена  $MTHFR$  виявляє самостійний характер асоційованості зі статично значущим збільшенням анамнестичної дитячої захворюваності ( $p=0,0003$ ), захворювань серцево-судинної системи ( $p=0,002$ ), хронічних захворювань шлунково-кишкового тракту ( $p=0,01$ ), самовільного викидню ( $p=0,03$ ), викидня, що не відбувся ( $p < 0,0001$ ), загрозливого викидня ( $p=0,0012$ ), надмірної блювоти вагітних ( $p=0,002$ ) та дисфункції плаценти ( $p=0,04$ ).

Другий етап дослідження був присвячений встановленню предикторних діагностичних маркерів розвитку ембріональних втрат та перинатальної патології при подальшому розвитку вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку з порушеннями фолатного метаболізму. У жінок пізнього репродуктивного віку з генетично-детермінованими порушеннями обміну фолатів (носіїв генотипу  $T/T$  за поліморфізмом  $rs1801133$  ( $677 C>T$ ) гена  $MTHFR$ ) порівняно з групою контролю виявлено статистично значуще зниження сироваткових рівнів медіаторів ангиогенезу ендотеліального походження, а саме судинно-ендотеліальний фактор росту (СЕФР) становив  $23,49 \pm 2,88$  проти  $36,14 \pm 3,88$  пг/мл ( $p < 0,05$ ), плацентарний фактор росту (ПлФР) -  $11,85 \pm 2,85$  проти  $20,17 \pm 2,92$  пг/мл ( $p < 0,05$ ). Також у жінок пізнього репродуктивного віку – носіїв генотипів  $T/T$  та  $C/T$  за поліморфізмом  $rs1801133$  ( $677 C>T$ ) гена  $MTHFR$  були виявлені більш високі сироваткові рівні ендотеліотоксичного метаболіту гомоцистеїну, ніж в групі контролю (у 1,63 рази,  $p < 0,05$ ). У жінок з ембріональними втратами за носійства гетеро- та гомозиготних генотипів ( $C/T+T/T$ )  $rs1801133$  ( $677 C>T$ ) гена  $MTHFR$  поряд з виявленими лабораторними ознаками зниження атромбогенного потенціалу судинної стінки не було виявлено достовірних ознак гіперкоагуляції і

засвідчено відсутність потреби у додатковому призначенні антикоагулянтної терапії.

На третьому етапі дослідження проводилась оцінка клінічної ефективності превентивної терапії із включенням препаратів, що містили фолієву кислоту та 5-метилтетрагідрофолат за клінічними показниками, за результатами вагітності та лабораторно-інструментальними методами дослідження. Встановлено, що у пацієток пізнього репродуктивного віку з анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням метаболізму фолатів призначення профілактичної терапії 5-метилтетрагідрофолатом супроводжувалось статистично значущим зменшенням випадків ранніх втрат вагітності ( $p=0,03$ ), анемії вагітних у I триместрі ( $p=0,009$ ), прееклампсії ( $p=0,014$ ), анемії у II та III триместрах вагітності ( $p=0,001$ ), плацентарної дисфункції ( $p=0,0005$ ), патології розвитку та локалізації плаценти ( $p=0,0499$ ), синдром затримки розвитку плода ( $p=0,0499$ ), передчасного дозрівання плаценти ( $p=0,02$ ), пологопідсилення ( $p=0,015$ ), порушень ранньої неонатальної адаптації ( $p=0,03$ ), випадків неонатальної жовтяниці ( $p=0,018$ ), післяпологової анемії ( $p=0,015$ ).

При прийомі жінками з порушенням метаболізму фолатів та попередніми ембріональними втратами на догравідарному етапі та протягом I триместру препарату, що містив 5-метилтетрагідрофолат, спостерігалось достовірне зменшення випадків ізольованих змін рівнів естріолу ( $p=0,0011$ ) та  $\beta$ -ХГЛ ( $p=0,015$ ) (пренатальний скринінг II триместру), у порівнянні із вагітними пацієнтками пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів, які отримували фолієву кислоту.

При дослідженні ефективності профілактичної терапії за динамікою маркерів функціональності фолатного метаболізму у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами та порушенням метаболізму фолатів при використанні препарату, що містив фолієву кислоту та 5-метилтетрагідрофолат, наприкінці першого – початку

другого триместру, відзначалось достовірне зростання сироваткових рівнів бетаїну та метіоніну ( $p < 0,05$ ), тоді як у III триместрі було виявлено більш виразні зміни – поряд зі зростанням рівнів метіоніну, бетаїну спостерігалось зниження рівня гомоцистеїну у сироватці крові ( $p < 0,05$ ). При проведенні рекомендованого превентивного лікування не було відзначено жодного випадку побічної дії вказаних вище препаратів з боку інших органів та систем.

Наукова новизна проведеного дисертаційного дослідження полягає у розширенні наукових даних щодо особливостей клінічного перебігу вагітності та пологів у пацієнок пізнього репродуктивного віку з ранніми втратами вагітності в анамнезі з порушеннями метаболізму фолатного циклу. У пацієнок пізнього репродуктивного віку засвідчено асоціацію більш високого ризику виникнення ембріональних втрат з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* і не виявлено асоціації з поліморфізмом *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR*. Доповнено наукові дані про предиктори порушення плодово-плацентарного ангіогенезу та зменшення атромботичного потенціалу судинної стінки у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з анамнестичними ембріональними втратами, зокрема засвідчено зниження сироваткових рівнів судинно-ендотеліального та плацентарного факторів росту (СЕФР, ПлФР) поряд з підвищенням рівня гомоцистеїну у носіїв мінорної *T*-алелі за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

Науково обґрунтовано доцільність медикаментозної профілактики перинатальних ускладнень (із включенням комбінованих препаратів з 5-метилтетрагідрофолатом) у пацієнок пізнього репродуктивного віку з порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі. Застосування препаратів з 5-метилтетрагідрофолатом на догравідарному етапі та протягом I триместру у жінок із генетично-детермінованим порушенням метаболізму фолатів (носіїв мінорної *T*-алелі за поліморфізмом *rs1801133* гена *MTHFR*) забезпечує зростання рівнів бетаїну та метіоніну поряд зі зниженням рівня гомоцистеїну у сироватці крові, зменшує частоту випадків ізольованих змін рівнів естріолу та  $\beta$ -ХГЛ у II триместрі.

Практичне значення отриманих результатів полягає в обґрунтуванні доцільності ранньої предикторної діагностики невиношування вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку на основі генотипу за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, сироваткових рівнів фолатів у прегравідарному періоді. Розроблена та адаптована для практичного використання превентивна стратегія клінічного ведення жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів та ембріональними втратами в анамнезі з урахуванням профілю безпеки на основі впровадження профілактичної терапії із використанням біологічно активної форми фолатів у вигляді 5-метилтетрагідрофолату.

Ключові слова: ембріональні втрати, перинатальна патологія, порушення метаболізму фолатів, поліморфізм *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, 5-метилтетрагідрофолат, вагітність.

## ANNOTATION

Lastovetska O.B. Prevention of embryonic losses in late reproductive age women with impaired folate metabolism. - Qualified scientific work on manuscript rights.

The dissertation on obtaining a scientific degree of doctor of philosophy in specialty 222 "Medicine" (22 Public Health). - National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, of Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2021.

The dissertation research is devoted to solving the problem of reducing the incidence of early pregnancy loss and perinatal complications in late reproductive age female patients with impaired folate metabolism, by improving clinical diagnostic algorithm and optimization of prophylactic treatment. The relevance of the study has been substantiated by the increasing incidence of miscarriages in early pregnancy, ill-timed preclinically significant diagnosis and methods of early adequate prevention of perinatal pathology development in late reproductive age

women, taking into account genetically determined features of folate cycle functioning.

The study included 100 women of late reproductive age with a history of embryonic loss, with an average age of  $39,0 \pm 2,57$  years (main group) and 40 reproductively healthy pregnant women of late reproductive age with a physiological course of gestation (without previous early pregnancy losses) with an average age of  $37,7 \pm 2,66$  years (control group). The research was conducted in compliance with basic bioethical norms in accordance with the provisions of the Council of Europe Convention on Human Rights and Biomedicine, the Declaration of Helsinki (1964) and the legislation of Ukraine.

The dissertation research consisted of three stages: at the first stage, a study was carried out to determine the frequency of folate metabolism disorders by evaluating the carrying of polymorphisms rs1801133 (677 C> T) of MTHFR gene and rs1805087 (2756 A> G) of MTR gene and analysis of folic acid (FC) serum level; the characteristics of social, somatic, gynecological and obstetric anamnesis of late reproductive age women with impaired folate metabolism were clarified. It was found that in women of late reproductive age the presence of genotypes C / T and T / T by polymorphism rs1801133 (677 C> T) of MTHFR gene was associated with an increased risk of embryonic loss (OR 3,50, 95% CI, 1,63-7, 51,  $p = 0,001$ ). In pregnant women of the main group with T / T minor genotype and C / T genotype by polymorphism rs1801133 (677 C>T) of MTHFR gene, a statistically significant decrease of FC in serum was recorded – 3,3 and 1,55 times compared with the control group ( $p < 0,05$ ).

It was found that the carrying of polymorphism rs1801133 (677 C> T) of MTHFR gene shows an independent character of association with a statically significant increase of anamnestic childhood morbidity ( $p = 0,0003$ ), diseases of cardiovascular system ( $p = 0,002$ ), chronic gastrointestinal tract diseases ( $p = 0,01$ ), spontaneous abortion ( $p = 0,03$ ), imminent abortion ( $p < 0,0001$ ), threatened abortion ( $p = 0,0012$ ), excessive vomiting of pregnancy ( $p = 0,002$ ) and placental dysfunction ( $p = 0,04$ ).

The second stage of the research was devoted to the establishment of predictor diagnostic markers of embryonic loss and perinatal pathology in the further development of pregnancy in late reproductive age women with disorders of folate metabolism. Late reproductive age women with genetically determined disorders of folate metabolism (carriers of the T/T genotype by polymorphism rs1801133 (677 C>T) of MTHFR gene) compared with the control group showed a statistically significant decrease in serum levels of endothelial angiogenesis mediators, namely vasculo-endothelial growth factor (VEGF) was  $23,49 \pm 2,88$  vs.  $36,14 \pm 3,88$  pg/ml ( $p < 0,05$ ), placental growth factor (PlGF) was  $11,85 \pm 2,85$  vs.  $20,17 \pm 2,92$  pg/ml ( $p < 0,05$ ). Also, late reproductive age women - carriers of genotypes T/T and C/T by polymorphism rs1801133 (677 C>T) of MTHFR gene had higher serum levels of endotheliotoxic metabolite of homocysteine than those in the control group (1,63 times,  $p < 0,05$ ). Women with embryonic losses carrying hetero- and homozygous genotypes (C/T + T/T) rs1801133 (677 C> T) of MTHFR gene, along with the detected laboratory signs of vascular wall thrombogenic potential reduction, manifested no significant signs of hypercoagulation, and the additional purpose of anticoagulant therapy was absent.

At the third stage of the research, clinical effectiveness of preventive therapy was evaluated with the inclusion of drugs containing folic acid and 5-methyltetrahydrofolate according to clinical indicators, pregnancy results and laboratory-instrumental methods of research. It was found that in late reproductive age patients with anamnestic loss of pregnancy in the early period and impaired folate metabolism, administration of prophylactic therapy with 5-methyltetrahydrofolate was accompanied by statistically significant decrease in cases of early pregnancy loss ( $p = 0,03$ ), I trimester anemia of pregnancy ( $p = 0,009$ ), preeclampsia ( $p = 0,014$ ), II and III trimesters anemia of pregnancy ( $p = 0,001$ ), placental dysfunction ( $p = 0,0005$ ), pathologies of placenta development and localization ( $p = 0,0499$ ), fetal growth retardation ( $p = 0,0499$ ), premature placenta maturation ( $p = 0,02$ ), labor enhancement ( $p = 0,015$ ), disorders of early neonatal



adaptation ( $p = 0,03$ ), cases of neonatal jaundice ( $p = 0,018$ ), postpartum anemia = ( $0,015$ ).

When women with impaired folate metabolism and previous embryonic losses in pre-pregnancy phase and I trimester took the combined drug containing 5-methyltetrahydrofolate, there was a significant reduction in isolated changes in estriol levels ( $p = 0,0011$ ) and  $\beta$ -HCG ( $p=0,015$ ) (prenatal screening of II trimester), in comparison with pregnant patients of late reproductive age with anamnestic loss of pregnancy at an early stage and impaired folate metabolism who received folic acid.

When studying the effectiveness of prophylactic therapy by the dynamics of folate metabolism markers in late reproductive age pregnant women with anamnestic embryonic losses and impaired folate metabolism when administering a combination of drug containing folic acid and 5-methyltetrahydrocephalate during the end of I – beginning of II trimesters, the levels of betaine and methionine ( $p < 0,05$ ) showed reliable increase, while in III trimester there were more pronounced changes - along with increasing levels of methionine, betaine, there was a decrease of homocysteine level in the serum ( $p < 0,05$ ). During the recommended preventive treatment, no case of side effects of the abovementioned drugs from other organs and systems was noted.

The scientific novelty of the dissertation research is the expansion of scientific data on the features of clinical course of pregnancy and childbirth in of late reproductive patients with early pregnancy loss in the anamnesis with disorders of folate cycle metabolism. Late reproductive age patients have been associated with a higher risk of embryonic loss with rs1801133 (677 C>T) polymorphism of MTHFR gene and no association with rs1805087 (2756 A> G) polymorphism of MTR gene has been identified. Scientific data on predictors of fetal-placental angiogenesis and reduction of vascular wall thrombotic potential in late reproductive age pregnant women with anamnestic embryonic losses have been extended, in particular, decreased serum levels of vascular-endothelial and placental growth factors

(increase carriers of the minor T-allele by polymorphism rs1801133 (677 C> T) of MTHFR gene were shown.

The expediency of drug prophylaxis of perinatal complications (including combination of drugs with 5-methyltetrahydrofolate) in late reproductive age patients with impaired folate metabolism and early history of pregnancy loss has been scientifically substantiated. The administration of drugs with 5-methyltetrahydrofolate at the pre-pregnancy stage and during I trimester in women with genetically determined disorders of folate metabolism (carriers of the minor T-allele by polymorphism rs1801133 of MTHFR gene) increases the levels of betaine and blood methionine, along with decrease in serum homocysteine levels, decreases frequency of isolated changes in estriol and  $\beta$ -HCG levels in II trimester.

The practical significance of the obtained results is to substantiate the expediency of early predictor diagnosis of miscarriage in late reproductive age women based on genotype by polymorphism rs1801133 (677 C>T) of MTHFR gene, serum folate levels in the pre-pregnancy period. Preventive strategy of clinical management of late reproductive age women with impaired folate metabolism and history of embryonic loss was developed and adapted for practical use, taking into account the safety profile based on the introduction of prophylactic therapy using biologically active form of folate in the form of 5-methyltetrahydrofolate.

**Key words:** *embryonic losses, perinatal pathology, folate metabolism disorders, rs1801133 (677 C> T) polymorphism of MTHFR gene, 5-methyltetrahydrofolate, pregnancy.*

### Список публікацій здобувача за темою дисертації:

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Ластовецька О.Б., Булавенко О.В. Оцінка ефективності використання 5-метилтетрагідрофолата за показниками гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну у вагітних жінок із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко // *Вісник Вінницького Національного Медичного Університету*. - 2020. - №4(24). – С.631-636. DOI:[https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2020-24\(4\)-09](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2020-24(4)-09) (Дисертанткою проведено відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку, листування із редакцією).
2. Сучасні клінічні аспекти ефективної профілактики гестаційної та фетальної патології / Д. Г. Коньков, В. В. Кливак, О. А. Таран, О. Б. Ластовецька // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. – № 5(55). – С. 29–37. DOI:<https://doi.org/10.18370/2309-4117.2020.55.29-37> (Дисертанткою проведено аналіз літератури, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).
3. Ластовецкая О.Б. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов *MTHFR* и *MTR* у женщин с эмбриональными потерями. *Austria-science*. 2020; 37(1):3-7. (Дисертанткою проведено аналіз літератури, відбір та клінічне обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку, листування із редакцією).
4. Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2020.53.55-60>. (Дисертанткою проведено аналіз літератури, відбір та клінічне

*обстеження хворих, аналіз лабораторних показників, статистичний аналіз отриманих даних).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5. Булавенко О.В., Ластовецька О.Б. Сучасні аспекти перебігу вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку. *Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини: зб. тез доп. всеукраїнської міжнар. наук. -практ. конф. (м. Запоріжжя, 1 листопада 2017 р.).* Запоріжжя, 2017. С. 35-7. *(Дисертанткою проведено відбір та клінічне обстеження хворих, статистичний аналіз отриманих даних, підготовка тез до друку).*

6. Dmytro Konkov, Oksana Lastovetska. The features of fetoplacental angiogenesis in pregnant women with anamnestic embryonic losses. *The proceedings of the 19th World Congress of the Gynecological Endocrinology, (Florence 2-5 of December 2020). Florence (Italy). 2020: P.174.* *(Дисертанткою проведено аналіз літератури, відбір хворих, аналіз лабораторних показників, підготовка тез до друку).*

7. Piskun A., Konkov D., Lastovetska O. Patomorphological changes in placenta in women with early and late preeclampsia. *The proceedings of the 27th biannual European Congress of Obstetrics and Gynaecology EBCOG, (Bergen, 14-16 of May 2020). – Bergen (Norway). – 2020. - ID 26495.* *(Дисертанткою проведено статистичний аналіз отриманих даних).*

## ЗМІСТ

	Стор.
Перелік умовних позначень та скорочень.....	16
Вступ.....	18
Розділ 1 Сучасні аспекти патогенезу, діагностики та профілактики ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку.....	26
1.1 Ембріональні втрати. Структура, причини та діагностична верифікація.....	26
1.2 Роль метаболізму фолатів та поліморфізму генів фолатного циклу у патогенезі невиношування вагітності.....	40
Розділ 2 Матеріали та методи дослідження.....	50
2.1 Загальна структура дослідження.....	50
2.2 Лабораторні методи дослідження.....	55
2.2.1 Дослідження метаболізму фолатів.....	55
2.2.3 Пренатальний скринінг.....	58
2.2.4 Дослідження системи гемостазу.....	58
2.2.5 Дослідження судинно-ендотеліального фактора росту, плацентарного фактору росту у сироватці крові.....	59
2.2.6 Методика дослідження рівнів бетаїну та мелатоніну у сироватці крові.....	59
2.3 Інструментальні методи дослідження.....	60
2.4 Статистичний аналіз.....	63
Розділ 3 Показники обміну фолатів та клінічні особливості пацієнок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.....	66
3.1 Молекулярно-генетичне дослідження алелів та генотипів поліморфних варіантів <i>MTHFR</i> та <i>MTR</i> у пацієнок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами...	66

3.2 Оцінка рівня фолієвої кислоти у сироватці крові вагітних залежно від поліморфізму <i>rs1801133 (677 C&gt;T)</i> гена <i>MTHFR</i> .....	69
3.3 Клінічна характеристика вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми репродуктивними втратами та порушенням фолатного метаболізму.....	71
Розділ 4 Особливості стратифікації ризику ембріональних втрат у пацієнок залежно від стану фолатного метаболізму.....	89
4.1 Оцінка результатів біохімічного, імунологічного та гормонального скринінгів у пацієнок із порушенням фолатного обміну.....	89
4.2 Аналіз кровоплину у спіральних та маткових артеріях у вагітних пацієнок із попередніми ембріональними втратами та порушеннями фолатного обміну.....	97
Розділ 5 Оцінка ефективності профілактичної терапії у пацієнок із порушенням фолатного метаболізму.....	100
5.1 Результати пренатального скринінгу у I та II триместрі у пацієнок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів.....	101
5.2 Оцінка впливу профілактичної корекції гестаційної патології на сироваткові рівні гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну.....	103
5.3 Оцінка клінічної ефективності використання профілактичного лікування у вагітних із порушенням метаболізму фолатів які мали попередні репродуктивні втрати.....	108
Аналіз та узагальнення результатів дослідження.....	123
Висновки.....	148
Практичні рекомендації.....	150
Список використаних джерел.....	151
Додаток А.....	179

Додаток Б.....	197
Додаток В.....	199

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ**

АМК	аномальна маткова кровотеча
АП	плечова артерія
АПД	аномалія пологової діяльності
АТ-III	антитромбін III
АЧТЧ	активований частковий тромбопластиновий час
ВАК	вовчаковий антикоагулянт
ВВР	внутрішні вади розвитку
ВР	відносний ризик
ВУ	внутрішньоутробне інфікування
ВШ	відношення шансів
ВШК	внутрішньо-шлуночковий крововилив
ГГЦ	гіпергомоцистеїнемія
ДГК	докозагексаєнова кислота
ДНТ	дефект нервової трубки
ДРТ	допоміжні репродуктивні технології
ЕЗВД	ендотелійзалежна вазодилатація
ЕКЗ	екстракорпоральне запліднення
ІІ	інтерлейкін
ІІ	пульсаційний індекс
ІР	індекс резистентності
КТГ	кардіотокографія
ЛГ	лютеїнізуючий гормон
МА	маткова артерія
МоМ	кратне медіани
МТГФ	метилтетрагідрофолат
МФПК	матково-фето-плацентарний комплекс



НБВ	надмірна блювота вагітних
НЛФ	недостатність лютеїнової фази
ПВ	перинатальні втрати
ПД	плацентарна дисфункція
ПВНРП	передчасне відшарування нормально розташованої плаценти
ПЕ	пreeклампсія
ПІ	протромбіновий індекс
ПП	передчасні пологи
ПРНА	порушення ранньої неонатальної адаптації
ПРПО	передчасний розрив плідних оболонок
ПФМ	порушення фолатного метаболізму
СА	спіральні артерії
СДВ	систоло-діастолічне відношення
СЕФР	судинно-ендотеліальний фактор росту
СЗРП	синдром затримки розвитку плода
СП	стандартна похибка
ФК	фолієва кислота
ФСГ	фолікулостимулюючий гормон
ШКТ	шлунково-кишковий тракт
HLA	антигени комплексу гістосумісності
KIR	рецептори клітин кілерів
MTHFR	метилентетрагідрофолатредуктаза
MTR	метіонінсинтаза
MTRR	метіонін-синтаза-редуктаза
NK	натуральні кілери
PECAM	тромбоцитарна ендотеліальна молекула адгезії
SAM	S-аденозилметіонін
Th	T-хелпери
TLR	Toll-подібні рецептори

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Репродуктивні втрати у людини складають близько 60-65% по відношенню до загальної кількості концепцій. У світі численні дослідження підтверджують зростання показників і спонтанного, і звичного невиношування вагітності на 12-14% за останні 40 років. Прагнення клініцистів пролонгувати кожну бажану для пацієнтки вагітність стає важливою складовою у вирішенні проблеми [17, 49, 115, 192, 223]. Саме тому масштабна задача збереження репродуктивного здоров'я жінок та профілактики демографічного дефіциту, яка в цілому не вирішена, залишається актуальною медичною та соціальною проблемою на сьогодні.

У даний час різні види спонтанного переривання вагітності розглядають як наслідок мультифакторних розладів та захворювань [117, 191], розвиток яких може бути запущено комбінацією декількох факторів. Індивідуальний внесок кожного фактора може бути незначним, і тільки їх сума веде до розвитку захворювання. Причини ранніх ембріональних втрат численні та різноманітні.

Істотний внесок в патогенез ранніх ембріональних втрат вносять порушення епігенетичної складової програми розвитку, що можуть змінювати експресію генів, імунні й аутоімунні фактори [111, 193, 204]. До ендокринних причин невиношування вагітності відносять зміни рівня синтезу статевих гормонів (естроген, хоріонічний гонадотропин та прогестерон), порушення функціонування їх рецепторів [181, 205].

У сучасному клінічному акушерстві намітилася тенденція до використання універсальних підходів до профілактики невиношування вагітності у ранньому терміні із урахуванням рекомендацій, що відображені у базах доказової медицини [77, 80, 81, 118]. Клінічно обґрунтована превентивна терапія на прегравідарному етапі та у першому триместрі вагітності є однією із основних запорок успішності профілактики перинатальної патології

(завмерла вагітність, плацентарна дисфункція, прееклампсія та антенатальна загибель плода), що може призвести до значного зниження випадків втрат вагітності та підвищення якості перебігу гестаційного процесу [41, 67].

Проте при всій удаваній чіткості прописаних заходів превенції у клінічних протоколах надання профілактичних заходів явно запізнюються, оскільки застосування їх починається з другого триместру вагітності (полівітаміни, препарати, що містять омега-3 кислоти, препарати кальцію та ацетилсаліцилової кислоти, прекурсори оксиду азоту) [23, 38, 41, 101, 106, 154, 223].

Прийом фолієвої кислоти (ФК) слід розпочинати за 2-3 місяці до запланованої вагітності й продовжувати протягом вагітності [143]. Проте більшість жінок не планують вагітність та дізнаються про неї набагато пізніше. У цьому випадку прийом фолатів може виявитися неефективним, оскільки такі аномалії, як вади розвитку кардіоваскулярної системи, виникають в перші 3 тижні вагітності, а закриття нервової трубки відбувається на терміні близько 4 тижнів.

У процесі метаболізму фолатів важливу роль відіграє поліморфізм генів, оскільки в організмі кожної другої жінки через обмежену активність ферментів фолієва кислота не може повністю перетворитися на біологічно активну форму - 5-метилтетрагідрофолат. Частота зустрічаємості мутантної алелі 667T в популяціях неоднорідна. Так, в Європі вона варіює від 0,19 до Великобританії до 0,55 в Іспанії, а в азіатських популяціях - від 0,02 в Індонезії до 0,38 в Китаї. Гомозиготний генотип T/T має значно більш високе значення щодо шансів розвитку акушерської патології в порівнянні з гетерозиготним генотипом C/T. Наявність генетичних дефектів ферментів фолатного циклу метилтетрагідрофолатредуктази (MTHFR) та метіонінсинтази (MTR) не тільки пов'язано з можливим збільшенням рівня гомоцистеїну, а й з порушенням систем детоксикації організму [70, 79]. Біля 50% новонароджених дітей зі СЗРП несуть функціонально несприятливу алель T у гетерозиготному стані. Проте результати вивчення поліморфізму *rs1801133*

(677 C>T) гена *MTHFR* та *rs1805087* (2756 A>G) гена *MTR* у матерів й плодів в разі вагітності як фактор неспецифічних морфологічних змін хоріона та порушень мікроциркуляції в системі мати-плацента-плід достатньо протиречиві [70].

Дослідження ролі порушення метаболізму фолатів у розвитку ранніх втрат вагітності та методи оптимальної профілактики перинатальних ускладнень вельми нечисленні, вкрай суперечливі та містять різні погляди на вказану проблему, що й визначило предмет дисертаційного дослідження.

З огляду на зазначене вище, особливо доцільним видається пошук та розробка актуальних методів профілактики ембріональних втрат у жінок із порушенням метаболізму фолатів та анамнестичним невиношуванням вагітності. На наш погляд видається перспективним застосування медикаментозної профілактики з використанням біологічно активної форми фолатів у вигляді 5-метилтетрагідрофолата.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова та є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри акушерства та гінекології за темою акушерства і гінекології №2: «Встановлення факторів ризику, діагностичних критеріїв, особливостей клінічного перебігу, профілактики та прогнозування акушерсько-гінекологічної та онкогінекологічної патології у жінок різних вікових груп» (номер державної реєстрації 0115U005818). Дисертантка є співвиконавцем роботи. Тема дисертації затверджена Вченою радою Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (протокол №4 від 30 листопада 2017 року). Авторкою самостійно розроблено дизайн дослідження, виконано набір пацієнток, проведено клініко-інструментальне обстеження, запропоновано медикаментозну профілактику, проведено статистичну обробку даних, аналіз отриманих результатів, підготовлені до друку статті та тези в матеріалах

конференцій, а також забезпечене впровадження наукових розробок у практичну діяльність закладів охорони здоров'я.

**Мета дослідження** – знизити частоту ранніх втрат вагітності та перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів на основі удосконалення клініко-діагностичних підходів та оптимізації профілактичних заходів.

Для досягнення поставленої мети були визначені наступні **завдання дослідження**:

1. Дослідити фактори ризику ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку.

2. Визначити роль поліморфізму генів ензимів фолатного циклу у перебігу гестаційних процесів у жінок із анамнестичними втратами вагітності у ранньому терміні.

3. Дослідити маркери ангиогенезу, гестаційної ендотеліопатії та коагулопатії у пацієток із анамнестичними ембріональними втратами залежно від показників обміну фолатів.

4. Оцінити клінічну ефективність медикаментозної профілактики ранніх втрат вагітності та розвитку перинатальної патології у пацієток із анамнестичними ембріональними втратами із урахуванням ролі порушення фолатного метаболізму.

**Об'єкт дослідження** – перинатальна патологія у жінок пізнього репродуктивного віку з ранніми втратами вагітності в анамнезі.

**Предмет дослідження** – особливості перебігу вагітності у пацієток пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі, функціональний стан плацентарно-плодової гемодинаміки, показники проангіогенних факторів.

**Методи дослідження**: загально-клінічне та спеціальне акушерське обстеження (з'ясування скарг, збір анамнезу, соматичний огляд, акушерське обстеження), показники пренатального скринінгу, лабораторні біохімічні

дослідження (визначення маркерів ангіогенезу, плацентарного походження, гомоцистеїну, метіоніну, бетаїну, фолієвої кислоти, анти- та прокогулянтної систем), молекулярно-генетичні (поліморфізми генів ензимів фолатного циклу *rs1801133 MTHFR*, *rs1805087 MTR*), ультразвукові дослідження, доплерометричні дослідження, методи прикладної статистики.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Наукова новизна проведеного дисертаційного дослідження полягає у розширенні наукових даних щодо особливостей клінічного перебігу вагітності та пологів у пацієнток пізнього репродуктивного віку з ранніми втратами вагітності в анамнезі з порушеннями метаболізму фолатного циклу. У пацієнток пізнього репродуктивного віку засвідчено асоціацію більш високого ризику виникнення ембріональних втрат з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* і не виявлено асоціації з поліморфізмом *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR*. Доповнено наукові дані про предиктори порушення плодово-плацентарного ангіогенезу та зменшення атромботичного потенціалу судинної стінки у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з анамнестичними ембріональними втратами, зокрема засвідчено зниження сироваткових рівнів судинно-ендотеліального та плацентарного факторів росту (СЕФР, ПлФР) поряд з підвищенням рівня гомоцистеїну у носіїв мінорної *T*-алелі за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

Науково обґрунтовано доцільність медикаментозної профілактики перинатальних ускладнень (із включенням комбінованих препаратів з 5-метилтетрагідрофолатом) у пацієнток пізнього репродуктивного віку з порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі. Застосування препаратів з 5-метилтетрагідрофолатом на догравідарному етапі та протягом I триместру у жінок із генетично-детермінованим порушенням метаболізму фолатів (носіїв мінорної *T*-алелі за поліморфізмом *rs1801133* гена *MTHFR*) забезпечує зростання рівнів бетаїну та метіоніну поряд зі зниженням рівня гомоцистеїну у сироватці крові, зменшує частоту випадків ізольованих змін рівнів естріолу та  $\beta$ -ХГЛ у II триместрі.

**Практичне значення одержаних результатів.** Практичне значення отриманих результатів полягає у обґрунтуванні доцільності ранньої предикторної діагностики невиношування вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку на основі генотипу за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, сироваткових рівнів фолатів у прегравідарному періоді. Розроблена та адаптована для практичного використання превентивна стратегія клінічного ведення жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів та ембріональними втратами в анамнезі з урахуванням профілю безпеки на основі впровадження профілактичної терапії із використанням біологічно активної форми фолатів у вигляді 5-метилтетрагідрофолату.

Результати наукових досліджень, викладених у дисертації, впроваджені в медичну практику КНП Козятинської ЦРЛ, КНП «ВОКЛ ім. М.І. Пирогова ВОР», КНМ «Ямпільська територіальна лікарня», КНП «Калинівської ЦРЛ», ТОВ «Клініка професора С.Хміля у Тернополі». Теоретичні положення і практичні рекомендації дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес кафедр акушерства і гінекології №1 та №2 Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова та Української медичної стоматологічної академії, кафедри акушерства та гінекології Тернопільського національного медичного університету ім.І.Я.Горбачевського.

**Особистий внесок здобувача.** Проведене дисертаційне дослідження є самостійною науковою роботою здобувачки та представляє власне спостереження. Разом із науковим керівником д.мед.н., професором О.В.Булавенко була визначена тема та напрямок дисертаційного дослідження. Автор самостійно проаналізувала вітчизняну та зарубіжну літературу за темою дисертації, здійснила проблемно-орієнтований патентно-інформаційний пошук, розробила дизайн дослідження, чітко відокремила мету та сформулювала завдання. Дисертанотом створено електронний реєстр усіх пацієнток, які були задіяні у проспективному клінічному дослідженні, проведена статична обробка та аналіз результатів, підготовлені до друку

наукові праці, написані всі розділи дисертації, анотація, висновки та практичні рекомендації, забезпечено впровадження наукових розробок у практичну діяльність лікувальних закладів. Матеріали усіх розділів дисертації відображені в опублікованих працях. У друкованих працях, виконаних у співавторстві, дисертанту належали результати проведення клініко-лабораторного обстеження жінок пізнього репродуктивного віку, опрацювання та аналіз результатів, оформлення статей. Дисертантом не запозичено результати та ідеї співавторів публікацій. Усі результати, що наведені у дисертаційному дослідженні, були отримані самостійно.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертаційного дослідження доповідались на конгресах та конференціях: на Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини» (Запоріжжя, 2017), міжнародному медичному конгресі «Сучасні аспекти збереження та відновлення здоров'я жінки» (Вінниця, 2019), пленумі Асоціації акушерів-гінекологів України та науково-практичної конференції з міжнародною участю «Акушерство та гінекологія: актуальні та дискусійні питання» (Київ, 2019), XXVII Європейському конгресі акушерства та гінекології EBCOG (Берген, Норвегія, 2020), XIX міжнародному конгресі з гінекологічної ендокринології (Флоренція, Італія, 2020), засіданнях кафедри акушерства та гінекології №2 Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (2017-2021 рр.).

**Публікації результатів дослідження.** За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових праць (з них - 1 самостійна), у тому числі 3 статті опубліковано в рекомендованих ДАК України наукових фахових виданнях, що включені до міжнародних наукометричних баз (2 - індексуються у Scopus), 1 стаття – в іноземному фаховому виданні (Австрія), 3 тез в матеріалах конгресів та конференцій.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 199 сторінках комп'ютерного тексту (основний обсяг складають 154 сторінки). Складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження;



З розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаної літератури, який містить 217 джерел, із яких 80 кирилицею, 137 – латиницею. Текст дисертації ілюстровано 19 таблицями та 7 рисунками.

# РОЗДІЛ 1

## СУЧАСНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ, ДІАГНОСТИКИ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ВТРАТ У ЖІНОК ПІЗЬНОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

### 1.1 Ембріональні втрати. Структура, причини та діагностична верифікація

Збереження репродуктивного потенціалу, як значної складової репродуктивного здоров'я країни, є одним з пріоритетних напрямків розвитку цивілізованого суспільства й основних стратегій ВООЗ. Сучасний рівень охорони здоров'я багатьох країн дозволяє з успіхом виконувати заходи всіх стратегічних напрямків, однак перевага повинна бути віддана первинній профілактиці невіношування вагітності, яка повинна проводитися у рутинному порядку та контролюватися на популяційному рівні [142, 209]. Первинна профілактика передбачає забезпечення умов для сприятливого зачаття й фізіологічного внутрішньоутробного розвитку дитини. І, якщо такі заходи, як охорона навколишнього середовища та здоров'я громадян, контроль над шкідливими виробництвами, якістю ліків, продуктів харчування, побутових засобів, повинні здійснюватися державою, то заходи медичного порядку, спрямовані на охорону здоров'я матері, плода та новонародженого, є функціональним обов'язком служб практичної охорони здоров'я [68, 114, 132, 137, 189, 202].

Останнім часом клініцисти часто стали об'єднувати в єдиний нозологічний синдромокомплекс репродуктивні втрати, в синдром «втрати плода». Останній, як прийнято вважати на даний момент, включає в себе: один та більше мимовільних викиднів до 22 тижнів гестації, викидень, що не стався, та невдалі спроби ЕКЗ; мертвонародження; неонатальну смерть як ускладнення передчасних пологів, важкої прееклампсії та плацентарної

недостатності. Непліддя та звичне невиношування вагітності - мультифакторіальні захворювання, зумовлені схожими етіопатогенезом, в зв'язку з чим сучасні дослідники об'єднують їх під терміном «ранні репродуктивні або ембріональні втрати» [120]. Дослідження патогенезу ранніх репродуктивних втрат дозволило обґрунтувати доцільність використання терміна «ембріональна втрата», а не звичний викидень. За даними регіонарних відділень асоціації репродуктивної медицини, частота неплідних шлюбів в нашій країні досягає 28%, частота невиношування вагітності – 25-30%, в кожному четвертому випадку - звична втрата другої вагітності (5%) і в кожному десятому - третьої і наступної вагітностей (3%), практично кожна п'ята бажана вагітність переривається до терміну пологів, причому до 80% в перші 8-12 тижнів [53, 227]. Фактично, частота самовільних викиднів значно вища, велика кількість ембріональних втрат відбувається субклінічно. Це підтверджують дані багатьох дослідників – 50-60% жінок втрачають вагітність ще до того, як дізнаються про неї. Тільки 10% зачаття перериваються як клінічно розпізнані [53, 144, 150]

Переривання вагітності є підсумком синергічної дії несприятливих ендогенних та екзогенних факторів, що порушують адаптаційні механізми гестації в організмі жінки, в той час як відносний внесок окремих складових може варіювати в конкретній клінічній ситуації [56]. У свою чергу, кожен викидень залишає додатковий негативний відбиток на репродуктивне здоров'я жінки, погіршуючи прогноз результату наступної вагітності.

Велика частина ранніх втрат вагітності супроводжується анатомічним дефектом плацентації, який характеризується більш тонким і фрагментованим трофобластом, порушенням інвазії цитотрофобласта в оболонку матки і неповним закриттям спіральних артерій, що призводить до передчасного надлишкового кровонаповнення плаценти, яка розвивається. Надмірне наповнення кров'ю межворсінчатого простору викликає як прямий механічний вплив на ворсини хоріону, так і генералізоване кисень-залежне пошкодження трофобласту, яке супроводжується надмірною активацією апоптозу. Результат

один - дегенерація плаценти з повною втратою функцій синцитіотрофобласту та відшаруванням плаценти. Цей механізм універсальний для всіх викиднів, що відбуваються в першому триместрі [39, 40, 122.]

Досягнення молекулярної генетики останніх років дають змогу припустити, що невиношування вагітності є не лише поліетіологічною, але й мультифакторною патологією, розвиток якої визначається взаємодією певних спадкових чинників та факторів навколишнього середовища [53]. Найбільш вивчені генетичні, анатомічні, інфекційні, ендокринні та імунологічні причини. Найчастіше має місце поєднання кількох факторів [40]. Виявлення можливих причин важливо для запобігання повторних викиднів. Етіологічні причини ембріональних втрат залежать від чисельних факторів, однак актуальність вивчення проблеми обумовлена високою частотою нез'ясованих причин, більш ніж у 50% випадків причина ранньої втрати вагітності залишається невідомою, як і не завжди є ефективними лікувальні заходи, спрямовані на вже верифіковану причину ембріональних втрат [43, 53, 167].

Розвиток вагітності на ранніх термінах найбільше залежний від генетичних та імунологічних чинників. До 70% ембріональних втрат та третина переривань вагітності у II-му триместрі обумовлені хромосомними аномаліями плода з превалюванням кількісних змін (86-90%). На частку структурних змін хромосом доводиться 3-6%, а 8-13% випадків обумовлені мозаїцизмом та іншими аномаліями [87]. Кількісні зміни хромосом представлені моносомією, трисомією, триплоїдією та іншими випадками поліплоїдії. Найбільш поширені варіанти при ембріональних втратах - трисомії за 13, 16, 18, 21, 22 хромосомами [53]. Формування генетично неповноцінного плідного яйця може бути на фоні нормального каріотипу подружньої пари, при цьому хромосомна патологія з'являється *de novo* в результаті порушення мейозу в статевих клітинах батьків або дефективного запліднення та мітозу в клітинах зародку під впливом несприятливих чинників. Зі збільшенням віку партнерів у зв'язку із похибками мейозу підвищується ризик анеуплоїдії [153, 179, 199]. Оскільки більшість випадків

хромосомних аномалій з'являються *de novo*, ризик виникнення анеуплоїдії ембріонів при наступній вагітності є низьким: чим більша кількість викиднів, тим менша ймовірність того, що вони пов'язані з хромосомними аномаліями [93].

Частота ембріональної хромосомної патології нижча при звичній втраті вагітності в порівнянні із спорадичним викиднем. При звичному невиношуванні переважають хромосомні аномалії, які генетично детерміновані та успадковуються від батьків. Найчастіше причиною повторної ембріональної втрати є наявність хромосомних аберацій (транслокації, мозаїки, інверсії) у одного з батьків. У подружніх парах зі звичним невиношуванням вагітності частота хромосомних транслокацій становить 3-9%, в той час як в загальній популяції - 0,8% [53]. Найбільш поширені збалансовані транслокації, що включають реципрокні транслокації (обмін сегментами між негомологічними хромосомами), робертсонівські транслокації (злиття двох акроцентричних хромосом) та мозаїцизм [87]. Подібні хромосомні аберації не мають фенотипічних проявів, але сприяють формуванню незбалансованих перебудов хромосом в гаметах, що в більшості випадків призводить до нежиттєздатності ембріона / плода з подальшим викиднем [194]. Поширеність ембріональної втрати, що викликана аномальним ембріональним кариотипом, точно невідома в зв'язку з особливостями діагностики: не всі гестаційні втрати аналізуються цитогенетично. Н. Сarp [2019] вважає, що кариотипування абортусів у жінок зі звичним викиднем дозволяє грамотно оцінити прогноз виношування наступних вагітностей. При наявності попередніх ембріональних втрат із хромосомною аномалією шанс виношування наступної вагітності набагато кращий, ніж якщо у абортусів встановлений нормальний кариотип ( $VШ = 3,11$ ) [96]. Проте не всі дослідники дотримуються цієї точки зору. Ряд авторів вважають, що жінки з викиднями плодом з анеуплоїдией знаходяться в групі високого ризику для повторної анеуплоїдії при наступних вагітностях [105]. Роль генетичного фактора при ембріональній втраті можна оцінити при

комплексному обстеженні, яке включає цитогенетичне дослідження хоріона та ембріона із медико-генетичним консультуванням та каріотипуванням подружньої пари. Крім хромосомних аномалій проводиться пошук генетичних маркерів, що обумовлюють ембріональні втрати у жінок пізнього репродуктивного віку.

Якщо генетичні аномалії в каріотипі батьків або ембріонів виключені, на перше місце виходять імунологічні порушення [104, 111]. Незважаючи на велику зацікавленість дослідників до даної проблеми, роль імунологічних факторів в генезі ембріональних втрат залишається не до кінця зрозумілою. Серед імунологічних факторів, що підвищують ризик ембріональних втрат, описані: антифосфоліпідні антитіла, антитіла до аннексину V, протромбіну, антиспермальні, антитиреоїдні, антитіла до ХГЛ, збігу за HLA локусів II класу у подружжя, зміна секреції цитокінів та ін. [126, 176, 213].

Серед клінічно-значимих імунологічних факторів виділяють:

- аутоімунний фактор (утворення аутоантитіл до естрогенів, прогестерону, ХГ; аутоантитіла до власних фосфоліпідів: кардіоліпін,  $\beta$ 2-глікопротеїн-1, аннексин V, фосфатиділетаноламін, фосфатиділгліцеролу, фосфатиділінозитол, фосфатиділова кислота);

- ізоімунний фактор (антитіла до системи резус-фактора та групам крові системи АВ0);

- алоімунний фактор (сумісність антигенів HLA подружжя, лімфоцитарні антигени партнерів, блокуючий фактор, НК-клітини).

Дослідники відзначають, що серед випадків ембріональних втрат імунологічного генезу поєднання антифосфоліпідного синдрому та аутоантитілоутворення до хоріонічного гонадотропіну людини, спостерігається в 50% випадках спостереження вагітних [130, 208, 238].

Гомологічність подружжя за антигенами головного комплексу гістосумісності (HLA) призводить до порушення розпізнавання батьківських антигенів плода, відсутності адекватної активації імунокомпетентних клітин зі зниженням вироблення блокуючих антитіл і подальшим запуском імунної

відповіді по Th1 (цитотоксичному) типу, що призводить до переривання вагітності [207]. При сумісності подружжя по 2 локусам HLA I та II класів ризик невиношування вагітності досягає до 75%, по 3 й більше локусам - 100% [53]. Мета-аналіз 40 досліджень показав високий ризик звичного викидня при наявності у жінки алелей HLADRB1 \* 4, HLADRB1 \* 15, HLA-E \* 01: 01 та сумісності подружжя по локусам HLA-DR й HLA-B [178]. В якості етіологічного фактора ембріональних втрат обговорюється роль антигенів I-класу системи HLA (зокрема HLA-C, HLA-G, HLA-E), які представлені на трофобласті, при взаємодії з рецепторами кілерних клітин (KIR), сприяють блокуванню їх цитотоксичного ефекту та розвитку імунотолерантності до плоду. Мутації в генах HLA-G, HLA-C, генетичні варіації KIR, зниження експресії HLA-G призводять до порушення діалогу між імунною системою матері та плода, активації маткових натуральних кілерів (NK), які продукують цитокіни прозапального профілю (ІФН- $\gamma$  та ФНП- $\alpha$ ) з наступним абортивним результатом вагітності [99, 111].

До імунологічних факторів, що призводять до ембріональних втрат, також відносять неадекватну гестаційним потребам зміну співвідношення субпопуляцій Т-лімфоцитів із переважанням клітин з цитолітичним потенціалом: підвищення рівня субпопуляції Th 1 хелперних, Th 17 лімфоцитів, зниження регуляторних Т-лімфоцитів (Treg), Th 2-хелперних лімфоцитів в периферичній крові, децидуальної тканини, ендометрію [188]. На ранніх етапах гестації переважання локальної прозапальної спрямованості імунної відповіді (Th1 тип) є необхідною умовою інвазії трофобласта, ремоделювання спіральних артерій, успішної імплантації, проте при тривалому збереженні цитотоксичного впливу й відсутності зсуву в бік протизапального імунного регулювання (Th1 тип) гестаційний процес може порушуватися [2, 40,50].

При ембріональних втратах, за даними ряду авторів, визначається змінений профіль цитокінів в бік домінування прозапальних (ІФН- $\gamma$ , ФНП- $\alpha$ , ІЛ-2, ІЛ-17В, ІЛ-17F) та зниження рівня протизапальних (ІЛ-4, ІЛ-5, ІЛ-10, ІЛ-

13, TGF- $\beta$ ) в периферичній крові, ендометрії, децидуальній тканині [9, 186]. Вказані імунологічні зміни можуть бути як першопричиною, так і результатом переривання гестаційного процесу, тому триває діагностичний пошук причинно-наслідкових взаємозв'язків. Активація цитотоксичного потенціалу імунних клітин з секрецією прозапальних цитокінів може бути опосередковано також ендокринними та інфекційно-запальними станами [24, 64, 135].

До 15% усіх ембріональних втрат обумовлені ендокринними порушеннями [85]. Найбільш вагомими щодо зриву гестації гормональні зміни представлені недостатністю лютеїнової фази, гіперандрогенією, дисфункцією щитовидної залози, некомпенсованим цукровим діабетом, гіперпролактинемією [90, 129, 231]. Недостатність лютеїнової фази (НЛФ) характеризується неповноцінною морфофункціональною трансформацією ендометрія в лютеїнову фазу, що викликана дефіцитом прогестерону або / та відсутністю його ефекту внаслідок порушення функціональності рецепторного апарату. НЛФ розглядається як фактор, що перешкоджає нормальній імплантації, плацентації; діагностується у кожній третій жінки з невиношуванням вагітності [97, 196]. Виділені основні етіопатогенетичні варіанти НЛФ: як наслідок екстрагенітальної патології (на тлі тиреоїдної дисфункції, гіперпролактинемії та інсулінрезистентності з гіперандрогенією); як прояв яєчникової дисфункції (нормогонадотропної та гіпергонадотропної). Аналіз показників гормонального гомеостазу дозволив Булавенко О.В. [2017] виявити, що пацієнткам з НЛФ притаманна вірогідна гіпогестагенія в лютеїнову фазу менструального циклу, при цьому у 35,38% відмічається збільшення вмісту пролактину, у 18,71% – гіперандрогенія, у 9,06% – гіпотиреоз, у 10,5% – гіперкортизолемія, та у 33,9% – зниження індексу фертильності (ФСГ/ЛГ>1,3) [14].

Незважаючи на притаманну даній патології полікомпонентність гормональних порушень, для кожного етіопатогенетичного варіанта характерна провідна ланка гормонального дисбалансу, адекватна корекція якої



відновлює гіпофізарно-яєчникову регуляцію та забезпечує адекватний лютеогенез. Оптимальне гормональне співвідношення також сприяє гармонійному функціонуванню імунної системи [171]. Безпосередньо або опосередковано через прогестерон індукований блокуючий фактор (PIBF) регулює активність натуральних кілерів; пригнічує імунну відповідь по Th 1-типу й стимулює Th 2-тип, впливає на профіль цитокінів, більш сприятливих до пролонгації вагітності.

Ефективність превентивної терапії препаратами прогестерону на етапі прегравідарної підготовки і в першому триместрі вагітності щодо зменшення ризику ембріональних та фетальних втрат у жінок зі звичним невиношуванням підтверджена численними дослідженнями [205, 235], однак є й протилежні результати, які вказують на неефективність використання прогестагенів з метою запобігання викидня у ранніх термінах вагітності [210]. Гіпотиреоз як неімунного, так і імунного генезу асоціюється з ранніми втратами вагітності [221]. Встановлено, що своєчасна терапія та профілактика ускладнень гіпотиреозу позитивно впливають на гестаційний результат [33, 204, 234]. При синдромі полікістозних яєчників ризик ембріональної втрати, обумовлений ожирінням, гіперінсулінемією, інсулінорезистентністю, гіперандрогенією, підвищеним рівнем лютеїнізуючого гормону, становить від 30 до 50% [214]. Ожиріння розглядається як самостійний фактор ризику невиношування вагітності в силу впливу метаболічних порушень на стероїдогенез і ендометрій [100, 239].

Обговорюється роль інсулінорезистентності як компонента в ланці метаболічних порушень в основі ембріональних втрат. Згідно публікації [53], у жінок зі звичним невиношуванням вагітності вища частота інсулінорезистентності та порушень вуглеводного обміну.

На сьогоднішній день у віковій структурі вагітних відбувся значний зсув у бік збільшення частки саме жінок старшого репродуктивного віку (понад 35 років) порівняно з юними вагітними на фоні зменшення загального числа пологів. Якщо останній факт можна розцінювати як беззаперечно позитивний,

то збільшення кількості вагітних старшого віку можна розглядати в декількох аспектах. З віком зменшується кількість та якість яйцеклітин. Позитивним аспектом можна вважати більшу психологічну налаштованість на материнство, свідомий підхід до планування та виношування вагітності, сприятливіший соціально-економічний статус жінки. Свідоме відкладання народження дитини є загальносвітовою тенденцією, що пояснюється більшою зайнятістю жінки в суспільному житті, її бажанням відбутися як особистість, стати фахівцем у своїй справі, прагненням створити певну матеріальну базу для подальшого добробуту родини тощо [26, 73].

Сьогодні тенденція до пізнішого народження дитини спостерігається все частіше в розвинених країнах. Природні процеси старіння ендокринної системи та органів, які беруть участь у заплідненні та виношуванні вагітності, мають першочергове значення. Водночас завдяки успіхам сучасних технологій у жінок старшого репродуктивного віку з'являється можливість втілити мрію щодо материнства за допомогою екстракорпорального запліднення. На заваді цьому може стати наявність соматичної і гінекологічної патології, яка на фоні вагітності, що настала шляхом застосування ДРТ, обумовлює ризик розвитку ускладнень її перебігу, а також пологів і післяпологового періоду. І, незважаючи на цілеспрямоване вивчення, проблема забезпечення неускладненого перебігу вагітності після 35 років є ще далекою від розуміння та розв'язання.

Анатомічний фактор невіношування вагітності представлений мальформаціями матки, генітальним інфантилізмом, внутрішньоматковими синехіями, лейоміомою, поліпом ендометрію, порушенням затульної функції шийки матки [134]. У жінок зі звичним невіношуванням вагітності частота поширеності аномалій розвитку матки становить від 10 до 19%. Близько 30% вагітностей при наявності мальформацій матки переривається у ранньому гестаційному терміні [220]. Ембріональні втрати при наведеній вище патології обумовлені анатомо-фізіологічною компрометацією матки, неповноцінною секреторною трансформацією ендометрію, недостатньою чутливістю

ендометрію у ділянці децидуального інтерфейсу до гормонального впливу, цервікальною неспроможністю [63]. При невиношуванні вагітності на ранніх термінах також діагностуються внутрішньоматкова перетинка, двоорога, сидлоподібна та однорога матки. Розсічення перетинки під контролем гістероскопії розглядається як метод отримання позитивного клінічного ефекту при вказаній патології. Проте, на сьогодні відсутній стандартизований підхід при веденні жінок з аномаліями матки, немає великих досліджень з оцінкою результатів та ефективності наявних методів корекції [220].

Внутрішньоматкові синехії зустрічаються у кожної 5-ої жінки після самовільного викидня, при цьому в половині випадків легкого ступеня вираженості [134]. Руйнування базального шару ендометрію при хірургічних втручаннях та перенесені внутрішньоматкові інфекції сприяють утворенню синехій різного ступеня вираженості. Після хірургічної абляції порожнини матки у зв'язку із неповним викиднем синехії утворюються в 4,7 рази частіше, ніж після штучного аборту [53]. Прогноз щодо спайкоутворення погіршується зі збільшенням кількості інструментальної ревізії матки. Ембріональні втрати при наявності синехій в порожнині матки обумовлені насамперед неповноцінною лютеїною трансформацією ендометрію. Ефективність лікувальних заходів (гістероскопічне хірургічне розсічення синехій, циклічна гормональна терапія) залежить від ступеня вираженості спайкового процесу [134].

Цервікальна недостатність обумовлює втрати вагітності переважно в другому триместрі, в залежності від механізму виникнення підрозділяється на органічну (посттравматичну) та функціональну. Методи корекції порушень затульної функції шийки матки включають хірургічний серкляж, використання розвантажувального або серкляжного пессарія [63, 163]. При функціональній цервікальній недостатності доцільно використовувати вагінальні прогестагени [110].

Міома матки в залежності від розмірів та локалізації вузлів через механічні або гормональні порушення також може бути фактором ризику

ембріональної втрати. Субмукозне розташування вузлів, особливо із деформацією порожнини матки, негативно впливає на перебіг гестаційного процесу. Хірургічне видалення субмукозних вузлів покращує гестаційні результати [227].

Роль інфекційного фактору, як причини ембріональних втрат, широко обговорюється. За результатами ряду досліджень, порушення мікробіоти піхви, *Chlamydia trachomatis*, *Toxoplasma gondii*, цитомегаловірусна, герпесвірусна інфекції частіше виявляються у жінок з невиношуванням вагітності [123, 157, 237]. Проте дотепер не встановлено конкретний мікроорганізм, що зумовлює викидень. Первинне інфікування актуально при спорадичному викидні, в разі звичного невиношування в основі інфекційних чинників слід розглядати аутоімунний ендометрит із персистенцією вірусно-бактеріальної флори. За результатами досліджень багатьох клініцистів, хронічний ендометрит широко поширений у жінок з рецидивуючим викиднем. Згідно із даними Т.В. Стрижової [2012], хронічний ендометрит діагностується у 70,2% жінок з повторними втратами вагітності [75]; за результатами дослідження І.М. Носковой [2015] - у 62% [58]. А.К. Аршакян [2017] повідомляє про асоційоване ураження ендометрію при хронічному ендометриті та звичне невиношування у 68% жінок, при цьому в 72% спостережень зареєстрована змішана вірусно-бактеріальна мікрофлора [6]. За результатами дослідження іноземних дослідників, хронічний ендометрит підтверджений імуногістохімічним методом, визначається у 10-25% жінок зі звичним невиношуванням вагітності [156].

Хронічний перебіг запального процесу в ендометрії підтримується, з одного боку, антигенами мікроорганізмів, з іншого боку - порушенням імунної реактивності організму. Передбачається, що тривала безсимптомна персистенція змішаної вірусно-бактеріальної інфекції в ендометрії призводить до локальної активації імунної системи неповноцінною секреторною трансформацією ендометрію в умовах запалення із подальшим порушенням механізмів гестаційної адаптації на ранніх термінах вагітності [167].

На теперішній час особлива увага приділяється системі TLR — рецепторів вродженого імунітету в генезі передчасного переривання вагітності. Висока експресія TLR під час вагітності спостерігається в цервікальному каналі, трофобласті, плаценті, навколоплодових оболонках, міометрії, де вони вважаються високоспеціалізованим бар'єром, який захищає плід, що розвивається, від інфекції. Кожний конкретний TLR відповідає за швидке розпізнання специфічних мікробних компонентів, включаючи бактерії, гриби, віруси, активацію каскаду прозапальних цитокінів, формування колонізаційної резистентності. Так, TLR2 ідентифікує пептидоглікан грамнегативних бактерій, ліпотьєхоеву кислоту грампозитивних бактерій, компоненти грибів, *Nisseria*. TLR4 визначає ліпополісахариди грамнегативних бактерій, білкову оболонку вірусів, ліпополісахариди *Chlamydia trachomatis*. TLR4 є важливим посередником прозапальних імунних реакцій у шийці матки в I триместрі вагітності, а також при бактеріальному вагінозі [28, 74].

У незалежності від безпосередніх причин та механізмів ембріональних втрат – станів, патогенез яких потребує подальшого вивчення та деталізації, суттєвим вкладом у перспективи майбутніх наукових досліджень з'явилась сучасна концепція про патогенетичну спільність генезу гестаційних ускладнень у межах розвитку системних судинних порушень у вигляді плацентарного оксидативного стресу та ендотеліальної дисфункції [13, 128, 166,]. На етапі формування хоріону/плаценти відбувається трансформація спіральних артерій матки у плацентарні судини. Фактори, що забезпечують інвазію трофобласта та нормальний розвиток плаценти на ранніх стадіях дуже різноманітні, цитокіни, інтегрини, молекули адгезії. Ця ділянка плодово-материнського кровоплину і є вразливим, але малодослідженим з точки зору ембріональних втрат. Гіпоперфузія тканин знижує імплантаційний потенціал ендометрію, унаслідок вазоконстрикції, гіповолемії, порушень реологічних властивостей крові та гіперкоагуляції, неминуче спричиняє патологічну плацентацію з порушенням інвазії трофобласту, розвиток ішемічно-

реперфузійних змін у плацентарно-плодовому кроволинні [3,40,89240, 160, 161]. У сучасній літературі висвітлюються різні клініко-морфологічні аспекти гестаційної перебудови спіральних артерій на ранніх термінах вагітності. Повідомляється, що розвиток спонтанних викиднів та завмерлої вагітності у першому триместрі пов'язаний з неадекватною трансформацією ендометріальних сегментів спіральних артерій, яка пов'язана зі зниженням цитотрофобластичної інвазії та відсутністю або неповному заміщенні на фібриноїд гладенько-м'язових волокон в їх стінці [39, 94, 161, 212].

У процесах адгезії ембріона та інвазії цитотрофобласта важливу роль відіграють активовані тромбоцити. Доведено, що підвищена експресія тромбоцитарних рецепторів GP IIb / IIIa, є рецепторами до фібриногену, а також рецептори GP Ib - завдяки яким відбувається процес пристінкової адгезії тромбоцитів до ендотелію, завдяки активації фактора Віллебранда, - веде до розвитку гіперагрегаційного синдрому. При дисфункції ендотелію у жінок із ембріональними втратами спостерігається потрапляння тромбопластичних субстанцій тканинного й клітинного походження у материнський кроволин, в результаті чого розвивається гіпертромбінемія та гіпофібриноліз [40, 164].

Спектр субстанцій, що секретується ендотелієм мікроциркуляторного русла та бере участь у забезпеченні гомеостазу та гемостазу, перш за все, можна розділити на дві групи - тромбогенні та атромбогенні [232]. До речовин, які ініціюють адгезію та агрегацію тромбоцитів, відносять фактор Віллебранда, фактор активації тромбоцитів, АДФ, тромбоксан А<sub>2</sub>. У фізіологічних умовах синтез атромбогенних субстанцій в ендотелії переважає над утворенням протромбогенних, що забезпечує збереження рідкого стану крові при пошкодженнях судинної стінки, в тому числі незначних, випадкових, які можуть мати місце в нормі. Саме продукція атромбогенних субстанцій визначає тромборезистентність кровоносних судин [211, 149,230]. Забезпечення переважання тромборезистентності мікроциркуляторного русла матково-плацентарного кроволинні забезпечується трохи інакше. На поверхні

ворсин хоріона присутня автономна тромболітична система, до якої входять мембрани глікокалікса та тромбомодулін. Окремі дослідники характеризують його як глікопротеїд, що виконує функцію рецептора тромбіну. Тромбомодулін визначає швидкість та напрямок процесу гемостазу [43]. Тромбін, приєднавшись до тромбомодуліну, набуває нових якостей: утворює разом з антизгортальними протеїнами С та S (кофактор протеїну С) антиагрегантний та антитромботичний комплекс, який перешкоджає згортанню та водночас знижує активність фібринолізу [122].

Важливу роль в експресії адгезивних молекул на ендотелії здійснює роллінг лейкоцитів. При цьому ендотелій посилено секретує vWF, в результаті чого до пошкодженої ділянки судинної стінки в ще більшій кількості залучаються тромбоцити. На останніх експресується GrIb, що призводить до роллінгу лейкоцитів по ураженню ендотелію та сприяє їх адгезії з подальшою реакцією вивільнення медіаторів запалення. Наочно демонструють, що зниження концентрації розчинних молекул PECAM-1 в групі пацієток з ембріональними втратами супроводжується розвитком каскаду внутрішньосудинних цитотрофобластолокальних дефектів ендотеліального покриву децидуальних артерій внаслідок дисрегуляції молекул ендотеліальної адгезії. Ендотеліальна молекула адгезії (PECAM), передуює появі та поширенню внутрішньосудинних цитотрофобластолокальних дефектів ендотеліального покриву децидуальних артерій внаслідок дисрегуляції молекул ендотеліальної адгезії. Можливо, що PECAM грає роль тригера для внутрішньосудинної цитотрофобластичної інвазії [164, 165]. Не виключено також, що sPECAM відіграє роль тригера для внутрішньосудинної цитотрофобластичної інвазії [162].

Компоненти системи гемостазу беруть участь не тільки в регуляції згортання крові, але й є медіаторами запалення. Таким чином, генетично обумовлені та набуті зміни гемостазу активують прозапальну відповідь, формують прокоагуляційний потенціал, який є етіопатогенетичним фактором, що обумовлює непліддя та невдалі спроби ЕКЗ, ранні ембріональні втрати та

призводить до пізніх акушерських ускладнень. До найпоширеніших тромбофілічних станів, які призводять до ембріональних втрат, належать: мутація V фактора *G1691A (FV Leiden)*, мутація гену протромбіну *G20210A* (II фактор) і метилентетрагідрофолатредуктази (*MTHFR C677T*) [60, 92, 147, 151].

Клінічні прояви мутації V фактора (Лейденська мутація) — непліддя, прееклампсія, невиношування вагітності, передчасне відшарування нормально розташованої плаценти, плацентарна недостатність (інфаркти плаценти, порушення матково-плацентарного кровообігу), і, як наслідок, — внутрішньоутробна загибель плода, СЗРП, HELLP синдром, тромбоемболії, ішемічні інсульти. Мутація *G20210A* є фактором ризику виникнення невиношування вагітності у ранньому гестаційному терміні, плацентарної дисфункції, внутрішньоутробної загибелі плода, СЗРП, передчасного відшарування плаценти [152]. Внаслідок мутації *MTHFR* спостерігається системна ендотеліальна дисфункція; оксидативний стрес; активація агрегації тромбоцитів; гіперкоагуляція.

Таким чином, дані літератури свідчать про різноманіття причин ембріональних втрат, встановлення яких у певних випадках не представляється можливим. Для більш успішного патогенетично обґрунтованої профілактики необхідно визначення можливого етіологічного фактора або їх поєднання. Клінічна картина та результати діагностичних тестів дуже схожі незалежно від причини невиношування. Однак, велика кількість методів діагностики з доведеною ефективністю в нашій країні не доступні, в зв'язку з чим їх мало використовують у прогнозуванні невиношування при субклінічних формах загрози переривання вагітності.

## **1.2 Роль метаболізму фолатів генів фолатного циклу у патогенезі невиношування вагітності**

Клінічно обґрунтована превентивна терапія на прегравідарному етапі та у першому триместрі вагітності є однією із основних заporук успішності



профілактики перинатальної патології (завмерла вагітність, плацентарна дисфункція, прееклампсія та антенатальна загибель плода), що може призвести до значного зниження випадків втрат вагітності та підвищення якості перебігу гестаційного процесу.

Наукова література останніх років накопичила досвід численних досліджень та результатів клінічних досліджень, що дозволяють виділити дефіцит фолієвої кислоти, підвищений рівень гомоцистеїну й поліморфізм алелей генів фолатного циклу, окремою групою причин, які потенціюють розвиток ембріональних втрат [68, 146, 241]. Саме тому залишаються цікавими наукові дослідження, присвячені виявленню носійства поліморфних варіантів генів, у жінок з несприятливим результатом вагітності. Одним з найбільш значущих досягнень світової генетики останніх десятиліть стало планування «безпечної» вагітності щодо попередження деяких поширених ВРП, що пов'язуються із дефіцитом фолатів у матері, за допомогою рутинного призначення жінкам репродуктивного віку фолієвої кислоти (ФК) в прекоцепційний період [15, 177, 187]. За наявними даними, у пацієнтів із вагітністю, що не розвивається, та спонтанному викидні, мутація при поліморфізмі *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* визначалася в 60% та 50% випадків відповідно. Розлад роботи геному ембріональних клітин під час їх ділення і диференціювання приводить до порушення ембріогенезу та формування вад розвитку у плода [65]. У 80-ті роки попереднього сторіччя в світовій медичній пресі з'явилися перші повідомлення про те, що дефіцит активного фолату у вагітної жінки сприяє накопиченню гомоцистеїну, який володіє токсичною дією на клітину, є фактором ризику виникнення найбільш важкої ВВР- дефекту нервової трубки (ДНТ) у плоду [108, 113, 172, 233].

Дане відкриття стало яскравою подією в тератології, медичній ембріології, репродуктології, акушерстві, педіатрії і в профілактичній медицині в цілому. Уже в 90-ті роки минулого століття цілий ряд дослідників представили міжнародній медичній спільноті докази щодо ролі прийому фолієвої кислоти жінками репродуктивного віку в період планування і перших

трьох місяців вагітності для зниження ризику розвитку інших видів ВВР, крім ДНТ: вад серцево-судинної системи, щелепно-лицьових аномалій, вад сечовидільної системи, редукційних вад кінцівок [136, 140].

Фолатний цикл - це складний каскадний процес, в якому задіяно безліч різних ферментів. Основні ферменти, що забезпечують перетворення фолієвої кислоти на різних етапах всього циклу - *MTHFR*, метіонінсинтази (*MTR*), літературні дані підкреслюють важливу роль цих ферментів в підтримці нормального рівня гомоцистеїну, а при зниженні їх активності відбувається накопичення та надлишок гомоцистеїну в організмі [27, 29, 98]. Фолати також беруть участь в реакціях метилювання білків, гормонів, ліпідів, нейромедіаторів і інших біологічних молекул [12, 68].

З фолатним циклом пов'язаний цикл синтезу метіоніну з гомоцистеїну, який відбувається за участю вітаміну В12 та двох ферментів: *MTR* та *MTRR*. Метильна група при відновленні 5-метилтетрагідрофолата до тетрагідрофолату переноситься на вітамін В12, який потім віддає її гомоцистеїну, утворюючи метіонін за допомогою ферменту метіонінсинтази. Однак в деяких випадках В12 може окислюватися, що призводить до пригнічення метіонінсинтази. Для підтримки активності ферменту необхідно відновне метилювання за допомогою ензиму *MTRR*. Метіонін в свою чергу надходить до циклу метилювання: під впливом метіонінаденозилтрансферази з нього утворюється S-аденозилметіонін (SAM), який використовується метилтрансферазами як універсальний донор метильних груп [66]. Порушення метаболізму фолатів впливають на стабільність ДНК двома основними шляхами. Перший належить до синтезу нуклеотидів *de novo*. Низький рівень 5,10-метилентetraгідрофолата призводить до пригнічення синтезу тимідилату, в результаті чого формується незбалансований нуклеотидний пул. Це порушує процеси репарації, призводячи до пошкодження ДНК. Другий спосіб належить до продукції SAM. Недостатній рівень SAM в клітині призводить до недостатнього метилювання ДНК, що викликає порушення регуляції генної експресії [216].

Підкреслюючи величезну роль й важливість фолієвої кислоти в

метаболізмі нуклеїнових кислот, у процесах проліферації та диференціації клітин ембріона, слід зазначити, що порушення в фолатному циклі вкрай небезпечні [174]. Крім негативного впливу на ембріогенез недостатнє споживання фолатів під час вагітності порушує проліферацію клітин хоріона і формування плаценти [139]. Надалі це призводить до ускладненого перебігу вагітності: підвищується ризик невиношування (викидень, передчасні пологи), плацентарної дисфункції та синдрому затримки розвитку плода, може збільшуватися кількість випадків прееклампсії [95].

Тому дослідження, присвячені ранній доклінічній діагностиці порушень гестації, дозволять розробити профілактично спрямовану терапію і не дати патології маніфестувати. Особливо це актуально для жінок пізнього репродуктивного віку із генетичною схильністю до втрати вагітності. До групи помірного ризику потрапляють жінки зі спадковими (несприятливі варіанти поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* зустрічаються у 40,5-56,9%) та набутими факторами (куріння, зловживання алкоголем, ліками, що відпускаються без рецепту), низький соціально-економічний статус, недостатнє харчування, ожиріння матері, цукровий діабет 1-го або 2-го типу, синдром полікістозних яєчників (СПКЯ), гіперандрогенемії, прийом протиепілептичних препаратів або засобів, що пригнічують фолати, хвороби шлунково-кишкового тракту [173, 206].

При порушенні метаболізму фолатів вважається, що саплементация фолієвої кислоти не є клінічно ефективним кроком превенції, оскільки ФК не може засвоїтися у гомозигот на 30%, у гетерозигот на 70% із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

Важлива роль в етіології і патогенезі прееклампсії також належить генам-кандидатам фолатного обміну [12]. Мутації в генах фолатного обміну, що зумовлюють зниження активності ферментів *MTHFR* та метіонінсинтази, призводять до надмірного накопичення гомоцистеїну в крові, як наслідок, порушення процесів метилювання в клітинах [4, 5]. Дефіцит фолієвої кислоти обумовлює формування артеріальної гіпертензії у вагітних, розвиток

тотальної ангіопатії, мікротромбозів, наростання інсулінорезистентності. Слід зазначити, що роль генів-кандидатів фолатного обміну у формуванні ПЕ активно вивчається, однак дані дослідження проводяться в основному іноземними вченими [175]. При цьому отримані результати про залучення генетичних поліморфізмів генів фолатного обміну в формування ПЕ в різних популяціях неоднозначні. Це визначає проведення додаткового проспективного дослідження.

У світовій практиці проведено безліч досліджень з пошуку асоціації з невиношуванням вагітності поліморфних варіантів генів фолатного циклу. Найбільш досліджений поліморфізм *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. В цілому, результати досліджень вельми неоднозначні. Деякі роботи виявили ризик звичного спонтанного абортів при наявності в генотипі жінок алелі *T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* [11, 169]. У роботах інших авторів таких асоціацій виявити не вдалося [52, 88]. Ймовірно, отримані відмінності можуть бути пояснені особливостями популяцій, дизайном робіт, розміром вибірок та ін.

Встановлено, що при гомозиготному варіанті поліморфізму гена *MTHFR C677T* кількість репродуктивних втрат в два рази більше в порівнянні з носіями гетерозиготного варіанту, причому у більшості жінок відзначаються втрати в I триместрі [218]. У пацієток з вагітністю, ускладненою плацентарної недостатністю, синдромом затримки розвитку плода (СЗРП), антенатальної загибеллю плода, гіпергомоцистеїнемія, асоційована з гомозиготним варіантом *677 T/T*, визначалася в 22% випадків. Крім того, при гомозиготній мутації гена *MTHFR C677T* майже в три рази частіше можна говорити про поєднання з АФС [7,12,218]. Результати популяційних досліджень показали, що поліморфізм *rs1801133* гена *MTHFR* асоційований зі збільшенням ризику формування дефекту нервової трубки у плода, розвитку серцево-судинних захворювань, цукрового діабету 2-го типу у подальшому. Частота виявлення алелі *T* в європейських популяціях становить 30-33%. [40, 41]. У ряді досліджень встановлено, що поліморфізм *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* був асоційований із розвитком ПЕ. Примітно, що другий варіант

поліморфізму гена *MTHFR* - *A1298C* показав асоціацію з розвитком важкої та помірної ПЕ (для генотипу *CC*  $OR = 2,92$ ) [6, 66].

За результатами клінічного дослідження Пустотиною О.А. та Ахмедовою А.Є (2017) була підтверджена роль дефіциту фолатів в розвитку акушерських ускладнень: безплідді, невиношуванні вагітності, прееклампсії, вад розвитку у плода (дефект міжшлуночкової перетинки, аненцефалія і множинні вади розвитку). Було встановлено зв'язок порушень в метаболізмі фолатного циклу з високою частотою аномальних гінекологічних та акушерських кровотеч: у кожній другій жінки з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* були рясні та/або тривалі менструації, у кожній п'ятій - кровотеча в пологах або після абортів та у 86% - кровотеча під час цієї вагітності. При цьому у більшості обстежених жінок були змінені гематологічні показники у вигляді тромбоцитопенії, анемії та/або гіпергомоцистеїнемії. Найбільш характерними, що зустрічаються у більш, ніж половини (54%) жінок з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та у 86,4% вагітних із подібним поліморфізмом, були ушкодження тромбоцитарного ланки гемопоезу - тромбоцитопатія, яка виявлялася зниженням кількості та збільшенням об'єму тромбоцитів, а також ознаками їх функціональної недостатності. У кожній третій (37%) жінки з поліморфізмом генів ферментів фолатного циклу та у 73,7% вагітних з порушенням метаболізму фолієвої кислоти виявлялася анемія [66].

У світовій практиці також проведено ряд досліджень пошуку асоціації мутацій генів фолатного циклу з невиношуванням вагітності. В цілому результати досліджень досить суперечливі. Частина робіт виявили ризик звичного спонтанного абортів при наявності у жінок зі звичним викиднем мінусної алелі *T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. У роботах інших авторів таких асоціацій виявити не вдалося [22]. Ймовірно, отримані відмінності можуть бути пояснені особливостями популяцій, дизайном робіт, розміром вибірок та ін. Робіт на абортному матеріалі було виконано на порядок менше, але отримані результати більш однозначні - у всіх дослідженнях виявлено

позитивні асоціації між алелями *MTHFR 1298C* та *677T* і спонтанним викиднем [88]. Можна припустити, що для невиношування вагітності більше значення має генотип плода, а не матері. І селективному відбору піддаються саме ембріони з несприятливими генотипами по гена фолатного циклу [22].

Мутації ж в генах ферментів фолатного циклу, особливо *MTHFR 677CT*, справляють істотний вплив на інтенсивність фолатного метаболізму, що може призводити до низки метаболічних порушень, і зокрема підвищення рівня гомоцистеїну у крові та тканинах. Це доведено результатами досліджень [201,182]. При цьому ембріон часто піддається несумісним з життям аномалій розвитку і в рамках природного відбору гине, що найчастіше відбувається в першому триместрі вагітності. Доведено, що вживання фолієвої кислоти перешкоджає анеуплоїдії, яка є причиною безпліддя, викиднів і народження дітей з синдромом Дауна, Шерешевського - Тернера. Ризик передчасного відшарування плаценти при гіпергомоцистеїнемії зростає в два - п'ять разів, а при дефіциті фолатів - в 2,9 рази [182]. Відомо, що передчасні пологи є одним з найбільш серйозних факторів ризику загибелі дитини в перший рік життя. Зниження ризику передчасних пологів прямо пропорційно тривалості прекоцепційного прийому фолатів [79].

У разі зниженої активності *MTHFR* під час вагітності посилюється вплив тератогених та мутагенних чинників зовнішнього середовища, що може призводити до дефектів розвитку плода, в т.ч. незарощення нервової трубки. Такий несприятливий вплив носійства мінорної алелі *T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* може виявлятися за дії зовнішніх чинників (дефіциту фолатів в їжі, куріння, вживання алкоголю), що коригується прийомом фолієвої кислоти [12].

Рекомендації ВООЗ (2017) наполягають на щоденному обов'язковому прийомі вагітними препаратів заліза в дозі 30–60 мг та 400 мкг ФК, що дозволяє знизити частоту післяпологового сепсису, передчасних пологів та народження дітей з малою масою тіла. За неможливості щоденного прийому препаратів заліза через побічні ефекти та через розповсюдженість анемії серед

вагітних задля покращення материнських та перинатальних результатів рекомендується приймати препарати заліза 120 мг 1 раз на тиждень та ФК 2800 мкг 1 раз на тиждень [69].

Аналогічні рекомендації існують в Росії, Білорусі: призначення фолатів є обов'язковим упродовж 3 міс. прекоцепційного періоду та I триместру вагітності; оптимальним є призначення фолатів у складі фолатовмісних комплексів у дозі 400–800 мкг/доба. Зазначено також користь від призначення ФК статевому партнеру: кожні 100 мкг ФК щоденно знижують частку аномальних сперматозоїдів на 3,6% [184, 203].

Синтетична фолієва кислота біологічно неактивна й тільки за допомогою ферменту *MTHFR* перетворюється на активний моноглутамат 5-*МТГФ* [27, 29]. На відміну від харчових фолатів синтетична фолієва кислота навіть в неметаболізованому вигляді може надходити до системного кровотоку. Поява неметаболізованої форми в крові відбувається при добовому споживанні фолієвої кислоти більше 200 мкг, що обумовлено обмеженими можливостями ферментативної системи слизової оболонки кишечника. При надходженні в клітини екзогенна фолієва кислота блокує рецептори та ферменти, з якими взаємодіють ендогенні активні фолати, й, незважаючи на достатній і навіть надлишковий прийом препаратів фолієвої кислоти, виникає або ще більше посилюється функціональний дефіцит фолатів [42, 185]. Надлишок синтетичних фолатів при вагітності також асоційований з несприятливими наслідками для плода. З ним пов'язують порушення когнітивних здібностей і зору у новонародженого, ожиріння в старшому віці [82]. Надлишок вітамінів групи В, до яких належить фолієва кислота, може викликати важкі алергічні реакції в організмі вагітної аж до генералізованої токсикодермії [91, 217]. Таким чином, для організму небезпечний не тільки недолік фолатів, але і надлишок синтетичної фолієвої кислоти. Епідеміологічні та клінічні дослідження дозволили встановити двобічний зв'язок між прийомом фолієвої кислоти, рівнем фолатів в крові та

онкологічними захворюваннями. Онкологічний ризик підвищується як при дефіциті фолатів, так й при передозуванні синтетичної фолієвої кислоти [168]

Тривалий час вчені намагались створити штучну молекулу з активним метаболітом ФК, але зусилля були марними через нестабільність з'єднання. Лише компанії Merck (Німеччина) вдалось створити стабільну молекулу синтетичної біологічно активної форми фолату на основі метаболіту ФК – L-5-МТГФ, яка вирізняється наявністю іону кальцію. Речовина отримала назву «метафолін». Ця стабільна кальцієва сіль швидко розпадається в організмі на іони кальцію та власне L-5-МТГФ, що надалі виконує всі важливі функції фолатів [29, 62]. У клінічних дослідженнях було доведено, що незалежно від генотипу та активності ферменту *MTHFR* в жінок L-5-МТГФ має більшу біодоступність та ефективніше сприяє підвищенню рівня фолатів у плазмі крові, ніж така ж доза ФК [6].

У світі вже існує позитивний досвід щодо використання метафоліну. Так, було проведено ретроспективний аналіз 114 пацієток із поліморфізмом генів фолатного циклу та невиношуванням в анамнезі. У I групі 54 жінкам на етапі від прекоцепції до 28-го тижня вагітності призначали ФК у вигляді комбінації монопрепарату або комплексу вітамінів групи В та інших вітамінно-мінеральних комплексів. У II-й групі 60 пацієток до зачаття й протягом всієї вагітності отримували вітамінно-мінеральний комплекс, що містить 208 мкг метафоліну і 200 мкг ФК, а також інші вітаміни групи В. У пацієток II групи в порівнянні з I були статистично значуще нижчими рівні гомоцистеїну, фібриногену, маркерів тромбінемії, а також частота низки акушерських і перинатальних ускладнень (в 1,5–3,9 разів,  $p < 0,05$ ) [10].

При дослідженні рівня фолатів в еритроцитах крові у жінок з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* Prinz-LangenohlR і співавт. [2009] показали, що метафолін більшою мірою підвищує їх вміст, ніж фолієва кислота. Також метафолін значніше знижує сироватковий рівень гомоцистеїну в порівнянні з прийомом фолієвої кислоти [200]. Прийом метафоліну і вітаміну В12 разом із фолієвою кислотою у вагітних з анемією більш значимо



підвищував рівень гемоглобіну в порівнянні зі звичайною фолієвою кислотою [6]. Крім того, одночасне застосування фолатів з вітамінами В6 та В12 більш ефективно корегувало процес метилювання і синтез ДНК, супроводжувалося не лише відновленням гематологічних показників, але й поліпшенням неврологічного статусу [65].

Інше проспективне дослідження включало 80 випадків вагітності та пологів у жінок, які мали в анамнезі факт народження дитини або переривання вагітності плодом із ВРП або хромосомною аномалією. До першої групи увійшли 40 жінок, яким на прегравідарному етапі призначалися фолати у вигляді 200 мкг ФК і 200 мкг метафоліну. Другу групу склали 40 жінок, що приймали в прегравідарний період і протягом даної вагітності фолати у вигляді 400 мкг ФК. У першій групі загроза переривання вагітності траплялась у 4 рази рідше порівняно з другою групою (5% проти 22,5% відповідно,  $p < 0,05$ ) [20,45].

### **Резюме**

Таким чином, поліморфізм генів, відповідальних за обмін фолієвої кислоти, може негативно впливати на проліферацію та поділ клітин плода й плаценти. При поєднанні із порушенням синтезу ферментів фолатного циклу на тлі дії несприятливих чинників (вік жінки, обтяжений репродуктивний анамнез) такі поліморфізми можуть відігравати важливу роль у розвитку патології вагітності та порушення ембріонального розвитку. Незважаючи на це, багато патогенетичних аспектів асоціації порушень фолатного обміну та ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку вивчені недостатньо. Така ситуація зумовлює необхідність пошуку нових ефективних методик щодо попередження переривання вагітності у ранньому гестаційному віці. Одним із важливих шляхів є застосування активної форми фолату на основі метаболіту ФК. Однак це питання потребує більш детального вивчення і тому подальші дослідження в цій області стають особливо актуальні.

Результати даного розділу опубліковані [37,48,197]. *(Дисертанткою проведено статистичний аналіз отриманих даних).*

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Загальна структура дослідження

Робота виконувалась на кафедрі акушерства та гінекології №2 Національного медичного університету імені М.І. Пирогова МОЗ України під керівництвом д.мед.н., проф. Булавенко О.В., клінічна база – обласна клінічна лікарня імені М.І. Пирогова та центр планування сім'ї (ОКЛ та ЦПС, відповідно).

Обстеження та проведення превентивної терапії у жінок проводилось з добровільної інформованої згоди відповідно до міжнародних етичних вимог ВООЗ (правила GCP - Good Clinical Practice), що висуваються до медичних досліджень за участю людини. План дослідження відповідає законодавству України, міжнародним етичним нормам і нормативним документам дослідних організацій (Женева, 1993).

Дослідження виконали із дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінкської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964, з подальшими доповненнями, Сеул, 2008) та відповідних наказів МОЗ України (№ 281 від 01.11.2000 № 355 від 25.09.2002 № 356 від 22.05.2009 р. в редакції наказу МОЗ України № 574 від 05.08.2009 р. № 1118 від 21.12.2012 р.).

Всі дослідження проведені з дотриманням основних біоетичних норм та вимог Гельсінкської декларації, та засвідчено протоколами з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 9 від 02.11.2017 та протокол № 1 від 26.01.2021).

Для вирішення поставлених задач нами розроблена програма (дизайн) досліджень (рис. 2.1). Згідно програми дослідження проводили у три етапи.



Рис. 2.1 - Дизайн проспективного дослідження.

На першому етапі було проведено проспективний аналіз соціального, соматичного, гінекологічного та акушерського анамнезів жінок пізнього репродуктивного віку з порушенням фолатного метаболізму. Обстежені пацієнтки були розподілені на основну групу (порушення фолатного метаболізму та анамнестичні ембріональні втрати) ( $n= 100$ ) та групи контролю (практично здорові жінки) ( $n= 40$ ). Формування груп спостереження здійснювалося методами суцільного та вибіркового аналізу. Вік пацієнток у середньому складав,  $39,0 \pm 2,57$  років у жінок основної клінічної групи та  $37,75 \pm 2,66$  років у вагітних жінок із контрольної групи, відповідно. Другий етап дослідження включав аналіз лабораторно-інструментальних критеріїв для визначення предикторів розвитку ембріональних втрат та перинатальної патології при подальшому розвитку вагітності у пацієнток пізнього репродуктивного віку з порушенням фолатного метаболізму.

Досліджували показники ендотелій-залежної вазодилатації (ЕЗВД), сироваткових концентрацій фолієвої кислоти, гомоцистеїну, аналіз системи гемостазіологічних показників (тромбоцити, агрегація тромбоцитів АДФ, фібриноген, АЧТЧ та антитромбін III), та спостереження за станом плода з використанням ультразвукового сканування, доплерометричного дослідження матково-плацентарно-плодового-кровообігу.

На третьому етапі дослідження проводилось дослідження клінічної ефективності профілактичної терапії із залученням препаратів, що містили фолієву кислоту та 5-метилтетрагідрофолат за клінічними показниками, результатами вагітності та лабораторно-інструментальними методами дослідження. Досліджували:

- особливості клінічного стану,
- УЗД плоду;
- пренатальний скринінг;
- стан судинної регуляції (ендотелій-залежна вазодилатації, показники судинно-ендотеліального та плацентарного фактору росту);
- результат вагітності;

- побічну дію запропонованої терапії.

Для розв'язання поставлених задач основна група була розділена на 2 підгрупи: I підгрупа включала 45 жінок, які отримували препарати фолієвої кислоти (400 мкг на добу), II підгрупа - 55 пацієток які отримували комплексний препарат, що містив фолієву кислоту, метафолін, вітаміни B1, B2, B6, B12, C, E, біотин, пантотенову кислоту, нікотинамід, йод (1 таблетка на добу). Призначення препаратів починалось на догравідарному етапі за 8-10 тижнів до планування вагітності, закінчувався прийом - до 26 тижня вагітності.

На кожен вагітну шляхом індивідуального опитування заповнювалася спеціально розроблена анкета, до якої вносилися результати досліджень з індивідуальної карти вагітної, історії пологів, історії розвитку новонародженого. В анкеті також враховувалися наявність факторів перинатального ризику, клініко-анамнестичні дані, результати власних досліджень, особливості клінічного перебігу вагітності, терміни та методи розродження, внутрішньоутробного стану плода, патоморфологія плаценти та клінічна характеристика новонароджених. Проводили оцінку ролі досліджених чинників у виникненні акушерських та перинатальних ускладнень.

Особливої уваги заслуговував не тільки особистий анамнез, але й сімейний анамнез, а саме наявність у близьких родичів, обтяжливого соматичного, гінекологічного та акушерського анамнезів.

Перевірка критеріїв включення, невключення та відрахування з дослідження, а також підписання інформованої згоди на участь у дослідженні здійснювалися при першому відвідуванні пацієнтки.

***Критерії включення пацієток у проспективне дослідження:***

- Жінки із попередньою ембріональною втратою
- Наявність порушення обміну фолатів.
- Вік від 35 до 42 років.
- Одноплодова вагітність.

- Відсутність маніфестованої соматичної патології.
- Бажання та можливість брати участь у дослідженні.
- Етнічна однорідність.

***Критерії невключення пацієнток у проспективне дослідження:***

- Будь-які клінічно значущі стани, які, на думку дослідника, могли вплинути на безпеку пацієнта, результати оцінок, проведених в рамках дослідження, або порушити процес проведення дослідження.

- Наявні в даний час захворювання або стани, які могли вплинути на інтерпретацію даних з безпеки та ефективності досліджуваної терапії або які є протипоказаннями до неї:

ознаки кровотечі або підвищений ризик кровотечі, пов'язаний з порушенням гемостазу;

органічні ураження зі схильністю до кровоточивості (наприклад, гостра виразка шлунка або дванадцятипалої кишки).

- Гострі інфекційні захворювання бактеріальної етіології.
- Гострі запальні захворювання під час вагітності.
- Алергічні реакції на фолієву кислоту та інші компоненти превентивної терапії.

Відрахування пацієнток із дослідження здійснювалося при порушенні правил використання препаратів та у зв'язку із неможливістю здійснювати необхідні обстеження відповідно із завданням нашого проспективного дослідження.

Використані для обстеження жінок та новонароджених методи є безпечними, достатньо інформативними для об'єктивної оцінки функціонального стану різних органів і систем. Обстеження всіх пацієнтів проведено за однаковими методами та з використанням одних і тих же апаратів, що виключає вплив можливої помилки, характерної для будь-якого неінвазивного методу дослідження, на достовірність результатів обстеження.

Клінічну оцінку стану здоров'я обстежених жінок проводили за допомогою розробленої нами анкети. Досліджувані параметри відображали

відомості про фізикальне обстеження жінок з групи проспективного клінічного дослідження, наявність соціальних проблем, професійної шкідливості, соматичні захворювання. При зборі анамнезу звертали увагу на:

- менархе, менструальну функцію, регулярність оваріо-менструального циклу;
- анамнез найближчих родичок обстежених;
- анамнестичну гінекологічну патологію;
- репродуктивну функцію: паритет, свідчення про кожну із попередніх вагітностей - перебіг вагітності й пологів, післяпологового періоду, оперативні втручання тощо;
- особливості перебігу вагітності: наявність блювоти вагітних, кров'яних виділень у першому триместрі вагітності.

Після отримання необхідних анамнестичних даних приступали до зовнішнього огляду, при якому звертали увагу на статуру, проводили антропометричні обстеження, вимірювання артеріального тиску, обстеження органів кровообігу, дихання. Екстрагенітальні захворювання виявляли у результаті комплексу клінічних, лабораторних та функціональних досліджень.

У пологах звертали увагу на їх динаміку, тривалість, час відходження навколоплідних вод та їх характер, визначали крововтрату в пологах.

Стан новонародженого при народженні оцінювали за шкалою APGAR, вимірювали масу, довжину тіла. Стан новонародженого в ранньому неонатальному періоді оцінювали спільно з неонатологом.

## **2.2 Лабораторні методи дослідження**

### *2.2.1 Дослідження метаболізму фолатів*

**Молекулярно-генетичне дослідження** було виконано у генетичній лабораторії центру планування сім'ї КНП «ВОКЛ імені М.І. Пирогова ВОР» (свідоцтво про атестацію МОЗ України №003884 від 26 грудня 2014 р.) при допомозі лікаря-лаборанта Лук'янчикової Л.П. Авторка висловлює глибоку

вдячність за допомогу у виконанні дослідження.

Генотипування *rs1801133* (677 C>T) та *rs1805087* (2756 A>G) було проведено у 100 пацієток клінічної та у 40 з контрольної груп проспективного дослідження.

Геномна ДНК екстрагувалась із букального епітелію із використанням набору «Комплект реагентів для експрес-выделения ДНК из букального соскоба (кат. №0204) НЛФ «Литех», Росія, відповідно до інструкції виробника. Забір здійснювали в стандартних умовах із внутрішньої стінки щоки за допомогою одноразового урогенітального зонду.

Генотипування поліморфних ДНК-локусів здійснювали методом алель-специфічної полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) в «режимі реального часу» на ампліфікаторі IQ5 BioRad, США, з використанням стандартного набору «SNP-експрес-РВ», виробництва НЛФ «Литех», Росія, відповідно до інструкції виробника. Аналіз базувався на одночасному проведенні двох реакцій ампліфікації з двома парами алель-специфічних праймерів із використанням інтеркалюючого барвника SYBR Green. Робоча суміш для ПЛР складалась з 17,5 мкл розчинника, 2,5 мкл розчинної суміші (алель 1 чи алель 2 відповідно), 0,2 мкл барвника SYBRGreen та 0,2 мкл –полімерази із розрахунку на 1 пробу. Для ампліфікації специфічних фрагментів *rs1801133* (677 C>T) та *rs1805087* (2756 A>G) до 20 мкл робочої суміші додавали по 5 мкл зразка ДНК та використовували відповідний режим ампліфікації.

Отримані результати значень порогів циклів ампліфікації обробляються автоматично.

Поліморфізм *rs1801133* гена *MTHFR* локалізується на 1 хромосомі: chr1:11796321 (GRCh38.p12). Цей однонуклеотидний поліморфізм представляє собою просту нуклеотидну заміну C на T. Алель T є мінорною, загальна частота якої складає  $f=0,290$  (36382/125568, TOPMED) за даними MAFSource: 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1801133>).

Поліморфізм *rs1805087* гена *MTR* локалізується також на 1 хромосомі: chr1:236885200 (GRCh38.p12) Цей однонуклеотидний поліморфізм



представляє собою просту нуклеотидну заміну *A* на *G*. Алель *G* є мінорною, загальна частота якої складає  $f=0,206$  (25813/125568, TOPMED) за даними MAFSource: 1000 Genomes (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1805087>).

**Рівень фолієвої кислоти** оцінювали за її концентрацією в сироватці крові, яку визначали імуноферментним методом. Нами був використаний набір «Folic Acid ELISA Kit» виробництва *BioVision*, США. Дослідження виконувалося на стриповому імуноферментному аналізаторі «Humareader single» (Німеччина) при довжині хвилі 450 нм та диференційним фільтром 630 нм. Розрахунки проводились на основі даних отриманих вимірюванням калібрувальних розчинів, відповідно до побудованої калібрувальної кривої. На основі побудованої кривої було обраховано значення отриманих результатів.

**Рівень гомоцистеїну у сироватці крові** проводили імуноферментним аналізом за допомогою Axis® HomocysteineEIA (Axis-ShieldDiagnosticsLtd., Великобританія). Принцип методу заснований на відновленні гомоцистеїну, пов'язаного з білками, у вільний гомоцистеїн, який ензиматично перетворюється в S-аденозил-L-гомоцистеїн. Подальший імуноферментний аналіз заснований на конкуренції між S-аденозил-L-гомоцистеїну зразка і цим же з'єднанням, іммобілізованим на стінках мікропланшетів, зв'язуванням з моноклональними антитілами до S-аденозил-L-гомоцистеїну. Після видалення не пов'язаних антитіл до S-аденозил-L-гомоцистеїну додаються вторинні кролячі антимишачі антитіла, що були помічені пероксидазою хрому. Активність пероксидази вимірюється спектрофотометром після додавання субстрату. Абсорбція знаходиться в зворотній залежності від концентрації гомоцистеїну [195]. Розрахунок концентрації гомоцистеїну проводили за калібрувальним графіком, використовуючи калібрувальні розчини, що входили до складу набору. Вимірювання проводили на стриповому імуноферментному аналізаторі «Humareader single» (Німеччина).

### 2.2.3 Пренатальний скринінг

У якості прогностичних тестів на розвиток перинатальної патології (плацентарна дисфункція, преєклампсія, синдром затримки розвитку плода) ми використовували комбінований пренатальний скринінг. Проводили біохімічний скринінг першого триместру вагітності (10 – 13 тижнів+ 6 днів): визначення асоційованого з вагітністю протеїну А у плазмі (ПАПП-А) у комплексі з бета-субодиницею хоріонічного гонадотропіну людини ( $\beta$ -ХГЛ) та біохімічний скринінг другого триместру: визначення рівнів  $\beta$ -ХГЛ,  $\alpha$ -фетопропротеїну (АФП) та некон'югованого (вільного) естріолу у сироватці крові. На додаток до біохімічного скринінгу ми проводили доплерометричне дослідження у спіральних та маткових артеріях наприкінці першого та початку другого триместрів вагітності (методика проведення дослідження буде описана нижче).

#### *2.2.4 Дослідження системи гемостазу*

У обстежених жінок проводився підрахунок кількості тромбоцитів у капілярній крові у камері Горяєва із застосуванням фазово-контрастного мікроскопа для кращого контрастування тромбоцитів. В якості гемолізуючої рідини використовували 1,0% розчин оксалату амонію. Агрегація тромбоцитів досліджувалася візуальним мікрометодом за Шитиковою А.С. (1999) з використанням індуктора АДФ ( $0,5 \cdot 10^{-4}$  М).

Визначення показників коагуляційної (фібриногену, активованого часткового тромбoplastинового часу) та антикоагуляційної (антитромбін III) ланок гемостазу проводилося з використанням апаратного методу, при допомозі чотирьохканального коагулометру TS 4000, НТІ, (США). Метод визначення протромбінового індексу являє собою модифікацію визначення часу рекальцифікації плазми при додаванні в неї тканинного тромбoplastину, що призводив до «запуску» згортання за зовнішнім механізмом. Дослідження було виконано у клініко-діагностичному лабораторному Центрі Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М.І. Пирогова.

### 2.2.5 Дослідження рівня судинно-ендотеліального фактора росту у сироватці крові

У наборі «Human VEGF ELISA kit» виробництва *BioSource*, США був використаний «сендвич»-варіант щільнофазного імуноферментного аналізу. Для реалізації цього варіанту використані два моноклональні антитіла з різною епитопною специфічністю до СЕФР. Одне з них іммобілізовано на твердій фазі (внутрішня поверхня лунок), друге кон'юговане з біотином. Протягом першої інкубації, антиген СЕФР зв'язувався з антитілами, іммобілізованими на внутрішній поверхні лунок. Після відмиття, додавалися моноклональні специфічні антитіла мічені біотином для СЕФР. Протягом другої інкубації, антитіла зв'язувалися з СЕФР. Додавався фермент стрептавідін-пероксидаза, який зв'язувався з антитілами мічені біотином. Після третьої інкубації проводили забарвлення. Інтенсивність кольорового забарвлення пропорційно відповідало концентрації наявності СЕФР в оригінальному зразку. Після вимірювання оптичної щільності розчину в лунках на підставі калібрувальної кривої розраховували концентрацію СЕФР.

### 2.2.6 Методика дослідження рівнів бетаїну та метіоніну у сироватці крові

Для дослідження рівнів бетаїну та метіоніну у сироватці крові ми використовували набори «Betaine assay kit» виробництва *EMELCABioscience*, Нідерланди та «Methionine Assay Kit» виробництва *Merck KGaA*, Німеччина, відповідно. Був використаний варіант імуноферментного аналізу. Бетаїн вступає у реакцію з сіллю Ренея, утворюючи осад. Осад розчиняли в ацетоні з утворенням розчину з характерним піком поглинання при 525 нм. Поглинання при 525 нм вимірювали для розрахунку вмісту бетаїну у зразку сироватки крові обстежених жінок. Набір для аналізу метіоніну також використовував ферментативний механізм, за допомогою якого метаболізм метіоніну поєднувався зі стехіометричним утворенням пероксиду водню. Зонд генерував флуориметричний сигнал, у діапазоні 535-587 нм.

### 2.3 Інструментальні методи дослідження

Дослідження ендотелій-залежної вазодилатації судин виконані допомогою ультразвукового апарату фірми ToshibaXarioXG та лінійного датчику 12 МГц визначали у продольному зрізі плечову артерію на рівні нижньої третини плеча на 3 см проксимально медіального надмищелку, у вертикальному та горизонтальному положеннях. Оцінювали якість візуалізації, діаметр вимірювали від передньої до задньої лінії, що розділяла м'язову та адвентиціальну оболонки, на фіксованій відстані від анатомічних маркерів. Визначали вихідний діаметр артерій у мм в діастолу. Потім проводили пробу з реактивною гіперемією, артерії перетискалися манжеткою манометру для виміру артеріального тиску, збільшуючи тиск на 50мм.рт.ст. від вихідного систолічного тиску. Тривалість оклюзії становила 5 хвилин. Після чого у фазі реактивної гіперемії (протягом 15 с. після декомпресії) реєстрували швидкість кровоплину на 60 с після декомпресії (фаза максимальної вазодилатації). Ендотелій-залежна дилатація артерій викликала реактивною гіперемією у відповідь на припинення кровоплину манжеткою, що накладалася проксимальніше місця вимірювання. Діаметр та швидкість кровоплину оцінювали до та після компресії артерій. Фізіологічною реакцією артерій на реактивну гіперемію вважається їх дилатація більше за 15%. Менша ступінь вазодилатації та парадоксальна вазоконстрикція вважається патологічною реакцією та свідчила за дисфункцію ендотелію. Вагітна знаходиться у горизонтальному положенні не менше 10хв., при цьому проводили вимірювання вихідного артеріального тиску. Вимірювання проводили за аналогічною схемою (у вертикальному положенні). За 48 годин до проведення дослідження пацієнтці відміняли лікарські препарати, які були спроможні впливати на тонус судин (спазмолітики, прогестерон та магnezія).

За допомогою ультразвукової доплерографії проводять наступні вимірювання в артеріях:

1. діаметр плечової артерії у стані спокою, мм (ДП1);

2. діаметр плечової артерії через 60с після декомпресії, мм (ДП2);
3. швидкість кровотоку у стані спокою,  $V_{ps}$ , см/сек;
4. пульсаційний індекс, PI;
5. індекс резистивності (периферійний опір), RI.

Розрахунок формул:

$$EZВДп = \frac{ДП2 - ДП1}{ДП2} \times 100\%,$$

де, EZВДп – ендотелій залежна вазодилатації плечової артерії [22].

**Ультразвукові та доплерометричні дослідження** фетоплацентарного комплексу проводили за допомогою сканерів, що працювали у реальному масштабі часу за принципом сірої шкали. УЗД виконували за допомогою ультразвукової системи HDI 4000 (№4703-0037-01 Rev C 2002 (Philips Ultrasound P.O. Box 3003 Bothell WA98041 - 3003 USA)) з використанням конвексного трансдюсеру з частотою 5 МГц.

Доплерометричні дослідження матково-плацентарного та плодово-плацентарного кровоплину проводили у режимі, який дозволяв здійснювати кольорове доплерівське картування кровоплину та одночасну реєстрацію доплерограм. З метою усунення низькочастотних сигналів, що виникали внаслідок рухів стінок судин, застосовували фільтр 50-100 Гц. Дослідження кровоплину у судинах плодів проводилося тільки у період їх рухового спокою та «апное». При оцінці швидкостей кровотоку використовували відносні показники, розрахунок яких не залежав від величини кута інсонації ультразвукового променя до досліджуваної судини та помилок у визначенні діаметра досліджуваної судини. Дослідження швидкостей кровоплину проводилися в артерії пуповини, середній мозковій артерії та аорті плода, спіральних та маткових артеріях (комбінований показник по правій та лівій) [145].

Маткові артерії визначали в сагітальному перетині на рівні внутрішнього вічка, датчик встановлювали поперечно до бічної стінки матки.

Далі при використанні кольорового доплерівського картування, в ділянці перешийка матки, за межами стінки матки візуалізували основний судинний пучок, вище якого в товщі міометрію визначали маткову артерію з типовим для неї спектром кровотоку. Вимірювання характеристик спіральних артерій проводили в товщі ендометрію [121].

Оцінку кровоплину в артеріях проводили за допомогою наступних відносних кут-незалежних коефіцієнтів: пульсового та індексу опору.

Індекс опору (ІО) визначався, як частка від ділення різниці величин максимальної систолічної та мінімальної діастолічної швидкості на величину максимальної систолічної швидкості кровотоку:

$$IO = \frac{(A - B)}{A},$$

де, ІО – індекс опору, А – максимальна систолічна швидкість кровотоку, В – мінімальна діастолічна швидкість кровотоку.

Пульсовий індекс (ІП) розраховували як відношення різниці між максимальною систолічною та мінімальною діастолічною швидкості до середньої швидкості кровоплину:

$$IP = \frac{(A - B)}{C},$$

де, ІП – індекс пульсації, А – максимальна систолічна швидкість кровотоку, В – мінімальна діастолічна швидкість кровотоку, С – середня швидкість кровоплину. Для СА, лівої та правої МА, результати були у вигляді комбінованих [40].

**Кардіотокографії та визначення біофізичного профілю плода** для оцінки його стану виконані методом записування кардіотокограми з використанням кардіомонітору фірми "Biomedica" (Італія). Обчислювали такі показники: базальну частоту серцевих скорочень (БЧСС), амплітуду миттєвих осциляцій (АМО), кількість, амплітуду й тривалість акцелерацій, частоту й тривалість децелерацій. Обстеження хворих за допомогою кардіотокографа проводили протягом 30 хвилин через день, а за необхідності щоденно,

починаючи з 32 тижнів вагітності. З метою інтерпретації кардіотокограм використовувалась бальна система оцінки Fisher W.M.

З метою характеристики стану плода встановлювали його біофізичний профіль (БПП) за A.M.Vintzileos і співавт. (1983), який є сумою балів п'яти параметрів життєдіяльності плода: нестресовий тест (НСТ), дихальних рухів плода, рухів тіла та кінцівок плода, тонуусу плода й об'єму амніотичної рідини. Кожний компонент оцінюється від 0 до 2 балів. Загальна оцінка 7-10 балів свідчила про задовільний стан плода, 5-6 балів — сумнівний тест, що вимагав повторення, < 4 балів – патологічна оцінка БПП, необхідність повторення тесту або розродження.

## 2.4 Статистичний аналіз

Варіаційно-статистична обробка результатів дослідження була виконана за допомогою програми «STATISTICA 10» EnterprisePortable [2011, ENG] з визначенням середньоквадратичного відхилення ( $\sigma$ ). Статистична обробка кількісних даних включала розрахунок середнього значення та стандартної похибки середнього ( $\pm m$ ). Для якісних ознак розраховувався показник частоти виникнення, який виражався в абсолютному значенні та у % та стандартна похибка частоти ( $\pm m\%$ ). При порівнянні кількісних ознак у двох групах використовували параметричні критерії (в разі нормального закону розподілу) або непараметричний критерій Манна-Уїтні (у разі відмінності закону розподілу від нормального). При порівнянні частоти для якісних ознак у двох групах використовувався точний критерій Фішера.

Відносний ризик (ВР), його стандартна похибка та довірчий інтервал 95% розраховувалися за нижче наведеними формулами:

$$ВР = \frac{a/(a + b)}{c/(c + d)}$$

де, ВР – відносний ризик, а – кількість вагітних позитивним результатом, b - кількість вагітних з негативним результатом досліджуваній групі, c -

кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі,  $d$  - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

Стандартна похибка щодо ризику визначалася, як:

$$\text{СП}\{\ln(\text{BP})\} = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{c} - \frac{1}{a+b} - \frac{1}{c+d}}$$

де, СП – стандартна похибка, BP – відносний ризик,  $a$  – кількість вагітних з позитивним результатом,  $b$  - кількість вагітних з негативним результатом досліджуваній групі,  $c$  - кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі,  $d$  - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

та 95% довірчий інтервал:

$$\begin{aligned} 95\% \text{ ДІ} &= \text{від } \exp(\ln(\text{BP}) - 1,96 \times \text{СП}\{\ln(\text{BP})\}) \\ &\text{до } \exp(\ln(\text{BP}) + 1,96 \times \text{СП}\{\ln(\text{BP})\}) \end{aligned}$$

де, ДІ – довірчий інтервал, BP – відносний ризик, СП – стандартна похибка,  $a$  – кількість вагітних позитивним результатом у досліджуваній групі,  $b$  - кількість вагітних з негативним результатом досліджуваній групі,  $c$  - кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі,  $d$  - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

Відношення шансів (ВШ), стандартна похибка та довірчий інтервал 95% розраховувалися за нижче наведеними формулами:

$$\text{ВШ} = \frac{a \times d}{b \times c}$$

де, ВШ – відношення шансів,  $a$  – кількість вагітних позитивним результатом у досліджуваній групі,  $b$  - кількість вагітних з негативним результатом у досліджуваній групі,  $c$  - кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі,  $d$  - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

Стандартна похибка відношення шансів визначалася, як:



$$\text{СП}\{\ln(\text{ВШ})\} = \sqrt{\frac{1}{a} + \frac{1}{b} + \frac{1}{c} + \frac{1}{d}}$$

де, СП – стандартна похибка, ВШ – відношення шансів, а – кількість вагітних з позитивним результатом, b - кількість вагітних з негативним результатом досліджуваній групі, c - кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі, d - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

та 95% довірчий інтервал:

$$\begin{aligned} 95\% \text{ ДІ} &= \text{від } \exp(\ln(\text{ВШ}) - 1,96 \times \text{СП}\{\ln(\text{ВШ})\}) \\ &\text{до } \exp(\ln(\text{ВШ}) + 1,96 \times \text{СП}\{\ln(\text{ВШ})\}) \end{aligned}$$

де, ДІ – довірчий інтервал, ВШ – відношення шансів, СП – стандартна похибка, а – кількість вагітних позитивним результатом у досліджуваній групі, b - кількість вагітних з негативним результатом досліджуваній групі, c - кількість вагітних позитивним результатом у контрольній групі, d - кількість вагітних з негативним результатом у контрольній групі.

У всіх випадках проведення аналізу критичний рівень значущості був прийнятий рівним 0,05.

### РОЗДІЛ 3

## ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ФОЛАТІВ ТА КЛІНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПАЦІЄНТОК ПІЗЬНОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ ІЗ ПОПЕРЕДНІМИ ЕМБРІОНАЛЬНИМИ ВТРАТАМИ

### 3.1 Молекулярно-генетичні дослідження алелів та генотипів поліморфних варіантів *MTHFR* та *MTR* у пацієнток пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами

З огляду на те, що більшість маніфестованих патологій, асоційованих із вагітністю, є результатом поєднання ефекту несприятливих зовнішніх чинників та індивідуальних особливостей геному, а пошук асоціацій алелів та генотипів із захворюваннями - один із шляхів предикції невиношування вагітності, з метою виявлення генетичних маркерів, можливо, причетних до розвитку ембріональних втрат, проведено генотипування двох поліморфізмів генів фолатного циклу. Для оцінки ролі генетичного поліморфізму ензимів фолатного циклу при ембріональних втратах нами були проведені молекулярно-генетичні дослідження в двох групах: основній та контрольній. Основну групу склали 100 жінок пізнього репродуктивного віку із ембріональними втратами в анамнезі. Контрольна група була представлена 40 жінками з фізіологічним перебігом вагітності, які добровільно прийняли рішення про участь у клінічному проспективному дослідженні.

Виходячи з географічної локації пацієнток нашого дослідження, хотілося б наголосити, що всі жінки, які були задіяні, мали громадянство України та мешкали у межах м. Вінниці та Вінницької області.

Досліджувалися одонуклеотидні заміни в ключових генах, що кодують синтез ферментів обміну фолієвої кислоти: *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та метіонінсинтази *MTR 2756 A> G*.

Розподіл генотипів відповідав очікуваним при рівновазі Харді - Вайнберга у основній клінічній групі у жінок із ембріональними втратами та пацієток-волонтерів із контрольної групи для поліморфних локусів генів *MTHFR 677C>T*, *MTR 2756A>G*.

Виходячи із результатів проведеного дослідження розподіл частот алелей, генотипів та їх асоціацій із анамнестичними репродуктивними втратами представлено у таблиці 3.1.

Нами було виявлено, що носійство мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* достовірно частіше (ВШ 3,50, 95% ДІ, 1,14-10,74,  $p=0,03$ ) зустрічалось у жінок, які мали анамнестичні репродуктивні втрати у порівнянні із аналогічними показниками жінок з контрольної групи дослідження. Тоді, як носійство мажорного генотипу (*C/C*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* найчастіше визначалося у пацієток із фізіологічним перебігом попередніх вагітностей (ВШ 0,29, 95% ДІ, 0,13-0,61,  $p=0,001$ ). Частота мажорного алельного варіанту (*C*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* була достовірно більшою ( $p=0,01$ ) у жінок із контрольної групи дослідження. У жінок із анамнестичними ранніми втратами вагітності переважав мінорний варіант алелі (*T*) у *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* (ВШ 2,88, 95% ДІ, 1,27-6,52,  $p=0,01$ ). Також хотілося б зазначити, що загальна частота носійства гетеро- та гомозиготного генотипів (*C/T+T/T*) за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, виявилась статистично значуще вищою у жінок пізнього репродуктивного віку, які мали попередні ембріональні втрати (ВШ 3,50, 95% ДІ, 1,63-7,51,  $p=0,001$ ).

При подальшому аналізі частот алелій та генотипів (*A, G, A/A, A/G* та *G/G*) *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR* з урахуванням різних моделей успадкування (мультиплікативної, домінантної й рецесивної) не було виявлено статистично значущих відмінностей щодо жінок основної та контрольної груп.

Таблиця 3.1 - Частота алелей та генотипів поліморфізмів генів *MTHFR677 C>T* та *MTR2756A>G* у жінок із ембріональними втратами в анамнезі, n= 140, M±σ

Поліморфізм	Генотип або алель	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	ВШ (95% ДІ)	P
<i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i>	<i>C/C</i>	30 (30,0)	24 (60,0)	0,29 (0,13-0,61)	0,001
	<i>C/T</i>	42 (42,0)	12 (30,0)	1,91 (0,86-4,25)	0,11
	<i>T/T</i>	28 (28,0)	4 (10,0)	3,50 (1,14-10,74)	0,03
	<i>C</i>	51 (51,0)	30 (75,0)	0,35 (0,15-0,79)	0,01
	<i>T</i>	49 (49,0)	10 (25,0)	2,88 (1,27-6,52)	0,01
	<i>C/T+T/T</i>	70 (70,0)	16 (40,0)	3,50 (1,63-7,51)	0,001
<i>rs1805087</i> (2756 A>G) гена <i>MTR</i>	<i>A/A</i>	44 (44,0)	18 (45,0)	0,96 (0,46-2,01)	0,91
	<i>A/G</i>	44 (44,0)	20 (50,0)	0,79 (0,38-1,64)	0,52
	<i>G/G</i>	12 (12,0)	2 (5,0)	1,24 (0,25-5,96)	0,80
	<i>A</i>	66 (66,0)	28 (70,0)	0,84 (0,38-1,84)	0,65
	<i>G</i>	34 (34,0)	12 (30,0)	1,20 (0,54-2,66)	0,65
	<i>A/G+G/G</i>	58 (58,0)	22 (55,0)	1,13 (0,54-2,36)	0,75

У результаті проведеного дослідження нами було виявлено, що носійство мінорного генотипу (*T/T*) за поліморфізмом *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR*, найбільш сильно асоціювалось зі збільшенням ризику ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку. Слід зазначити, що в цілому носійство мінорної алелі *T* (генотипи *C/T* та *T/T*) може розглядатися як цілком ймовірний фактор ризику ембріональних втрат. У той же час, гомозиготне носійство мажорної алелі (генотип *C/C*) за поліморфізмом *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR* потенційно має протективний вплив відносно виникнення ранніх репродуктивних втрат вагітності.

Аналіз результатів молекулярно-генетичного дослідження поліморфізму *rs1805087* (2756 A>G) гена *MTR* не виявив статистично значущих відмінностей в частоті алелей та генотипів (A, G, A/A, A/G та G/G) між жінками пізнього репродуктивного віку із ранніми втратами вагітності в анамнезі та практично здоровими жінками, у яких попередні вагітності пройшли без розвитку будь-якої гестаційної патології ( $p>0,05$ ).

### 3.2 Оцінка рівня фолієвої кислоти у сироватці крові вагітних залежно від поліморфізму *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR*

Наступним етапом нашого дослідження стало визначення рівня фолієвої кислоти (ФК) у сироватці крові у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку, із анамнестичними ембріональними втратами, з урахуванням гомозиготного та гетерозиготного носійства мінорної алелі T (генотипи T/T та C/T) у порівнянні з гомозиготним носійством мажорної алелі C (генотип C/C) за поліморфізмом *rs1801133* гена *MTHFR* (табл. 3.2).

Таблиця 3.2 - Рівень фолієвої кислоти у сироватці крові жінок із ембріональними втратами в анамнезі залежно від носійства варіантного генотипу за поліморфізмом *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR* ( $M \pm \sigma$ )

Показник	Жінки з ембріональними втратами в анамнезі			Контрольна група (n=21)
	Генотип C/C <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n=18)	Генотип C/T <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n=24)	Генотип T/T <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n=22)	
Фолієва кислота, мкг/л	14,13 ± 1,73	11,06 ± 1,50*	5,22 ± 1,23**/**	17,1 ± 1,85

Примітка 1. \* - відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) щодо контрольної групи.

Примітка 2. \*\* - відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) щодо пацієток із гомозиготним генотипом (C/C) *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR*.

Аналіз результатів обстеження 64 вагітних жінок із анамнестичними ембріональними втратами, що стали на облік в жіночій консультації в ранні терміни гестації, показав середній рівень фолієвої кислоти в сироватці крові  $12,63 \pm 2,64$  мкг/л. У 21 вагітної жінки контрольної групи рівень фолієвої кислоти у сироватці крові у ранньому терміні вагітності виявився вищим (в 1,36 рази,  $p < 0,05$ ), ніж у жінок основної групи, і за середніми величинами становив  $17,1 \pm 1,85$  мкг/л

За результатами генотипування за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* вагітні пацієнтки з ембріональними втратами в анамнезі були розділені на 3 групи: 1-а група ( $n = 18$ ) – пацієнтки з носійством мажорного генотипу *C/C*; 2-а група ( $n = 24$ ) - пацієнтки з гетерозиготним носійством варіантних алелей (генотип *C/T*); 3-я група ( $n = 22$ ) - пацієнтки з носійством мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

Хотілося б зазначити, що у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами, які мали носійство гомозиготного генотипу *C/C rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, сироватковий рівень ФК в середньому становив  $14,13 \pm 1,73$  мкг/л та не мав статистично значущої відмінності із аналогічним показником у жінок із контрольної групи ( $p > 0,05$ ). У той же час, у вагітних жінок із мінорним генотипом (*T/T*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* був виявлений статистично значущий дефіцит фолієвої кислоти – даний показник становив  $5,22 \pm 1,23$  мкг/л і був нижчим в 3,3 рази ( $p < 0,05$ ), ніж в контрольній групі, а також нижчим в 2,7 рази ( $p < 0,05$ ), ніж в 1-й групі жінок з мажорним генотипом *C/C*.

У 24 жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами – носіїв генотипу *C/T rs1801133 (677 C>T)* сироваткові рівні фолієвої кислоти за середніми величинами були статистично значуще нижчими в 1,55 рази ( $p < 0,05$ ), ніж у жінок контрольної групи. Слід зауважити, що відмінність середніх рівнів фолієвої кислоти в сироватці крові між носіями генотипів *C/C* та *C/T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* не була статистично значущою ( $p > 0,05$ ). При цьому рівень фолієвої

кислоти в сироватці крові у гетерозигот *C/T* виявився статистично значуще вищим в 2,12 рази ( $p < 0,05$ ), ніж у мінорних гомозигот *T/T*.

Таким чином, у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку, із анамнестичними ембріональними втратами, частіше виявляються генетично-детерміновані порушення обміну фолатів, асоційовані з носійством мінорної алелі *T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. Найбільш виразний дефіцит фолієвої кислоти формується у вагітних жінок - гомозиготних носіїв генотипу *T/T*. Однак, слід брати до уваги, що й носійство генотипу *C/T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* також асоціюється зі значимим зниженням рівня фолієвої кислоти в сироватці крові у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з попередніми ембріональними втратами. Носійство генотипу *C/C* не асоціювалось з статистично вірогідними дефіцитом фолієвої кислоти в сироватці крові у ранньому терміні вагітності, що однак не виключає можливості порушення фолатного обміну у подальших термінах вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку.

### **3.3 Клінічна характеристика вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми репродуктивними втратами та порушенням фолатного метаболізму**

Відповідно до завдань нашого клінічного дослідження, на першому етапі ми проаналізували соціальний, соматичний, гінекологічний та акушерський анамнези вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з порушенням фолатного метаболізму (ПФМ). Основну групу складала 100 пацієнток пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів. До другої групи (контрольної) були зараховані 40 практично здорових вагітних пізнього репродуктивного віку із фізіологічним перебігом гестації без попередніх репродуктивних втрат, клініко-лабораторні показники яких слугували контролем для порівняння даних обстеження вагітних із ПФМ основної групи.

У всіх клінічних групах проспективного дослідження вік пацієнок коливався від 35 до 42 років, в середньому склавши, відповідно 39,0 років у жінок основної клінічної групи та 37,75 років у вагітних жінок із контрольної групи нашого проспективного дослідження. При тому, що у віковому аспекті 35-38 років знаходились 34 вагітні жінки із порушенням фолатного метаболізму (34,0%) та 23 (57,5%) практично здорових пацієнок, ВШ 0,38, 95% ДІ [0,18 – 0,81],  $p=0,01$  (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Клініко-демографічна характеристика пацієнок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму та ембріональними втратами в анамнезі, (n=140),  $M\pm\sigma$

Показники	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	P
Вік, років	39,0 ± 2,57	37,75 ± 2,66	>0,05
Зріст, см	164,72±5,46	165,2±4,69	>0,05
Вага, кг	70,16±5,25	63,85±4,51	>0,05
ІМТ, кг/м <sup>2</sup>	26,17±1,29	23,39±1,24	>0,05
Сімейний аналіз			
- одружені	57 (57,0)	32 (80,0)	0,013
- цивільний шлюб	43 (43,0)	8 (20,0)	0,013

Згідно отриманих нами соматометричних показників, ріст пацієнок із носійством гомо- та гетерозиготного генотипів *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* становив 164,72 см, у середньому, тоді, як ріст жінок із контрольної групи, на момент зарахування до дослідження сягав 165,2 см ( $p>0,05$ ). Вага пацієнок з клінічної групи дослідження була у межах 70,16 кг, проти 63,85 кг у практичноздорових вагітних жінок.

Індекс маси тіла (ІМТ) жінок, які були задіяні нами у проспективному клінічному дослідженні, становив, у середньому, 26,17 кг/м<sup>2</sup>, у вагітних жінок



із порушенням метаболізму фолатів, більше за 25 кг/м<sup>2</sup> мав місце у 82 (82,0%) пацієнток, при тому, що ІМТ більше 25 кг/м<sup>2</sup> був встановлений нами у 5 практично-здорових вагітних жінок (12,5%), ВШ 31,89, 95% ДІ [10,97 – 92,68],  $p < 0,0001$ . До речі, у середньому, ІМТ у респонденток з контрольної групи становив 23,39 кг/м<sup>2</sup>.

Відомо, що сімейний стан є одним з важливих чинників успішного планування вагітності та репродуктивної функції. У клінічній групі дослідження – 57,0% жінок були одружені, тоді, як 43,0% жінок перебували в цивільному шлюбі, при цьому у 32,0% пацієнток був повторний шлюб, а 37,0% були розлучені та мали позашлюбний зв'язок. Зареєстрований шлюб мали 32 (80,0%) вагітних пацієнток з контрольної групи, ВШ 0,33, 95% ДІ [0,14 – 0,79],  $p = 0,013$ . 20,0% пацієнток без порушення ПФМ мали цивільний шлюб, ВШ 3,02, 95% ДІ [1,26 – 7,20],  $p = 0,013$ . Повторний шлюб мали 6 (15,0%) практично здорових жінок, ВШ 2,67, 95% ДІ [1,02 – 6,99],  $p = 0,046$ .

Аналіз менструальної функції пацієнток основної клінічної групи показав, що вік менархе, тривалість менструального циклу та його тривалість відповідали нормативним показникам початку й становлення статевого розвитку.

Середній вік початку становлення менструації у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму становив  $14,38 \pm 1,48$  років (табл. 3.4).

У контрольній групі (практично здорові вагітні жінки) вказані вище показники становили  $13,35 \pm 1,27$  роки, відповідно ( $p > 0,05$ ). Час становлення регулярного оваріо-менструального циклу, в основній групі нашого проспективного дослідження, становив в середньому 1,85 роки, тоді як у контрольній групі аналогічний показник що нами аналізувався був 1,80 років, відповідно ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 3.4 - Аналіз менструальної функції у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму та ембріональними втратами в анамнезі, (n=140), M±σ

Характеристика менструального циклу	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	P
Вік менархе (років)	14,38 ± 1,48	13,35 ± 1,27	>0,05
Час становлення регулярного менструального циклу (років)	1,85 ± 0,84	1,80 ± 0,88	>0,05
Тривалість менструального циклу (діб)	24,98 ± 2,26	27,70 ± 2,33	>0,05
Тривалість місячних (діб)	5,49 ± 0,81	3,67 ± 0,76	>0,05
Кількість менструальної крововтрати (мл)	92,1 ± 14,37	84,5 ± 9,59	>0,05

Тривалість оваріо-менструального циклу у пацієнток пізнього репродуктивного віку із ПФМ та анмнестичними ембріональними втратами, у середньому, становила 24,98 доби, що майже не відрізнялось від аналогічного показника у респонденток з контрольної групи нашого проспективного клінічного дослідження – 27,70 доби. Тривалість місячних становила 5,49 діб у жінок із ПФМ та 3,67 діб у практично здорових вагітних без порушення метаболізму фолатів, відповідно. Статистичної вірогідності за показником, що був проаналізований нами, не визначалась ( $p > 0,05$ ).

Кількість менструальної крововтрати оцінювали гіпотетично, на основі свідчень жінок, щодо кількості використаних тампонів або прокладок під час менструацій. У пацієнток пізнього репродуктивного віку, які мали порушення фолатного метаболізму, загальна крововтрата під час місячних сягала 92,1 мл. У контрольній групі вищевказаний показник був, у середньому 84,5 мл ( $p > 0,05$ ).

При проведенні аналізу соціального статусу вагітних жінок, нами було встановлено, що серед пацієток пізнього репродуктивного віку з порушенням фолатного метаболізму нашого проспективного дослідження, переважали жінки, які були домогосподарками 58 (58,0%), працювали, за трудовою угодою – 38 (38,0%) жінок із ПФМ, 4 (4,0%) стояли на обліку уна біржі зайнятості. У контрольній групі 18 вагітних жінок (45,0%) були домогосподарками, 14 (35,0%) - працювали за трудовою угодою та 8 пацієток працювали на виробництві (20,0%).

При проведенні аналізу умов праці та професійної шкідливості вагітних жінок із анамнестичними ранніми втратами вагітності та порушенням обміну фолатів нами було встановлено, що 54 (54,0%) пацієток відзначали час проведення за комп'ютером більше 6 годин на добу, у той час як у контрольній групі на аналогічні умови праці/відпочинку вказували 8 жінок (20,0%), ВШ 4,70, 95% ДІ [1,97 – 11,19],  $p=0,0005$ . У той час, як 12 (12,0%) респонденток з основної клінічної групи нашого проспективного дослідження вказували на контакт під час роботи із хімічними сполуками, тоді, як у практично-здорових на аналогічні умови праці вказували 3 жінки (7,5%), ВШ 1,68, 95% ДІ [0,45 – 6,31],  $p=0,44$ .

76 вагітних пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму мали задовільну матеріальну забезпеченість, 4-х разове харчування та власне житло (76,0%). 35 практично-здорових жінок з контрольної групи (87,5%) також були задоволені своїм матеріальним положенням, ВШ 0,45, 95% ДІ [0,16 – 1,28],  $p=0,14$ . Відповідно до вищенаведеного, 24,0% пацієток з основної групи та 12,5% - з групи контролю скаржились на брак коштів, орендоване житло та проблеми із раціональним харчуванням, ВШ 2,21, 95% ДІ [0,78 – 6,27],  $p=0,14$ .

Було встановлено, що серед жінок основної групи із порушенням обміну фолатів палили сигарети 34 обстежені (34,0 %), тоді, як у представниць контрольної групи на тютюнопаління вказували 7 пацієток (17,5 %), ВШ 2,43, 95% ДІ [0,97 – 6,07],  $p=0,06$  (табл. 3.5). Стаж паління тривав між 8 та 17 роками.

При тому, що під час вагітності 20 жінок пізнього репродуктивного віку із ембріональними втратами в анамнезі продовжували палити (20,0 %). На вживання більше 3 філіжанок кави на добу вказували 15 (15,0%) жінок із ПФМ, в практично-здорових жінок з контрольної групи на зловживання кавою наголошували 4 жінки (10,0%), відповідно, ВШ 1,59, 95% ДІ [0,49 – 5,12],  $p=0,44$ .

На прийом слабоалкогольних напоїв (0,5-1,0 л. на тиждень) до вагітності вказували 30 жінок (30,0 %), на аналогічні зловживання вказували й 6 жінок з контрольної групи (15,0%), ВШ 2,43, 95% ДІ [0,92 – 6,39],  $p=0,07$ . Під час вагітності ніхто з вагітних з груп нашого проспективного дослідження не вживав слабоалкогольні напої.

Таблиця 3.5 - Аналіз шкідливих звичок у вагітних жінок із ембріональними втратами в анамнезі та порушенням фолатного метаболізму, (n=140)

Шкідливі звички	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	Відношення шансів (ВШ) (вагітні із ПФМ/контрольна група)
Тютюнопаління	34 (34,0)	7 (17,5)	2,43, 95% ДІ [0,97 – 6,07], $p=0,06$
Вживання слабоалкогольних напоїв	30 (30,0)	6 (15,0)	2,43, 95% ДІ [0,92 – 6,39], $p=0,07$
Зловживання кавою	15 (15,0)	4 (10,0)	1,59, 95% ДІ [0,49 – 5,12], $p=0,44$
Прийом наркотичних та психотропних препаратів	5 (5,0)	0	
Гіподинамія	48 (48,0)	9 (22,5)	3,18, 95% ДІ [1,37 – 7,36], $p=0,007$

На прийом наркотичних препаратів (канабіс), до вагітності, вказували 5 жінок із попередніми ранніми втратами вагітності із порушенням фолатного обміну (5,0 %). Вагітні із фізіологічним перебігом гестації заперечували використання наркотичних або психотропних препаратів.

На малорухливий спосіб життя вказували 48 вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з основної групи дослідження (48,8 %), у контрольній групі, про гіподинамію зазначали 9 жінок (22,5%), ВШ 3,18, 95% ДІ [1,37 – 7,36],  $p=0,007$ . На відвідування фітнес-центрів, секцій по заняттях йогою та басейнів вказували 26 пацієток (26,0 %) із попередніми ембріональними втратами та 11 обстежених практично-здорових жінок (27,5 %), ВШ 0,94, 95% ДІ [0,41 – 2,12],  $p=0,86$ .

Аналіз результатів чисельності вагітних, які народжували вперше та повторно, а також кількість пацієток які завагітніли вперше та повторно у всіх підгрупах жінок із пізнім репродуктивним віком з порушенням фолатного метаболізму представлені у таблиці 3.6.

Таблиця 3.6 - Розподіл вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму за паритетом, (n=140)

Показники паритету	Основна група (пацієтки із ЕВ), n=100, абс (%)		Контрольна група (пацієтки без ЕВ), n=40, абс (%)		P
	абс.	%	абс.	%	
Жінки, які не народжували	32	32,0	4	10,0	0,01
Жінки, які народжували	68	68,0	36	90,0	0,01
Запланована вагітність	34	34,0	25	62,5	0,0025

У групі вагітних пізнього репродуктивного віку із ПФМ, так само як й серед жінок контрольної групи переважна кількість обстежуваних 68,0%, проти 90,0% вже народжували, проте відзначалось статистичне переважання на користь практично здорових жінок з контрольної групи, ВШ 0,24, 95% ДІ

[0,08 – 0,72],  $p=0,01$ . Наблизно, така ж саме ситуація склалася й при аналізі випадків повторної вагітності - ВШ 0,21, 95% ДІ [0,06 – 0,73],  $p=0,014$ .

Хотілося б зазначити, що у всіх вагітних жінок, які брали участь у проспективному дослідженні, вагітність була бажана, проте, в групі вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами лише у 34 (34,0 %) випадках вагітність була запланована обома членами родини.

У родинях вагітних жінок у контрольній групі, вагітність була запланована у 25 випадках (62,5 %), ВШ 0,31, 95% ДІ [0,14 – 0,66],  $p=0,0025$ .

Аналіз екстрагенітальної супутньої патології показав, що у вагітних основної клінічної групи найбільш поширенішою соматичною екстрагенітальною патологією були захворювання серцево-судинної системи (ССС), що були виявлені у 48 (48,0 %) (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 - Аналіз екстрагенітальних захворювань у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми репродуктивними втратами та порушенням фолатного метаболізму (n=140)

Екстрагенітальна патологія	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)		Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)		Відношення шансів (ВШ) (вагітні із ПФМ/контрольна група)
	абс.	%	абс.	%	
1	2	3	4	5	6
Дитячі інфекційні захворювання	48	48,0	5	12,5	6,46, 95% ДІ [2,34 – 17,84], $p=0,0003$
Захворювання ССС:	42	42,0	5	12,5	5,07, 95% ДІ [1,83 – 14,02], $p=0,002$
Вегето-судинна дистонія	28	28,0	5	12,5	2,72, 95% ДІ [0,97 – 7,65], $p=0,06$ -
Гіпертонічна хвороба	14	14,0	0	0	-
Варикозна хвороба	26	26,0	6	15,0	1,99, 95% ДІ [0,75 – 5,28], $p=0,17$

Продовження таблиці 3.7

1	2	3	4	5	6
Хронічні захворювання ШКТ	32	32,0	4	10,0	4,23, 95% ДІ [1,39 – 12,92], p=0,01
Хронічні захворювання органів дихання	18	18,0	2	5,0	4,17, 95% ДІ [0,92 – 18,89], p=0,06
Ендокринна патологія	22	22,0	0	0	-
Хронічні захворювання нирок	16	16,0	0	0	-
Анемія	52	52,0	12	30,0	2,53, 95% ДІ [1,16 – 5,52], p=0,02
Алергічний анамнез	15	15,0	0	0	-
Оперативні втручання в анамнезі	8	8,0	0	0	-

Тоді, як у обстежених жінок з контрольної групи, захворювання серцево-судинної системи, у вигляді вегето-судинної дистонії, були виявлені у 5 (12,5%) випадках, ВШ 5,07, 95% ДІ [1,83 – 14,02], p=0,002. Причому у 14 вагітних жінок (14,0%) пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму була діагностована гіпертонічна хвороба.

Варикозну хворобу, у переважній кількості варикозне розширення вен нижніх кінцівок, мали 26 вагітних пізнього репродуктивного віку з основної клінічної групи (26,0 %), у контрольній групі захворювання вен було діагностовано у 6 пацієнток (15,0 %) ВШ 1,99, 95% ДІ [0,75 – 5,28], p=0,17.

Також хотілося б відзначити достатньо високий відсоток інфекційних захворювання (кір, краснуха, епідемічний паротит), що перенесли жінки із порушенням фолатного метаболізму в дитинстві - 48 жінок (48,0 %) проти 5 респонденток із контрольною групою із аналогічною анамнестичною патологією (12,5 %), ВШ 6,46, 95% ДІ [2,34 – 17,84], p=0,0003.

При тому, що у більшості жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму, найчастіше зустрічалися кір та краснуха.

Патологія шлунково-кишкового тракту (ШКТ) у вагітних пацієнток пізнього репродуктивного віку була представлена хронічним гастритом, хронічним холециститом та дискінезію жовчовивідних шляхів.

32 випадки анамнестичної хронічної патології ШКТ були занотовані нами у пацієнток із ПФМ (32,0%), у вагітних жінок з контрольної групи вищенаведена патологія ШКТ була виявлена у 4 (10,0%) випадках (хронічний гастрит), ВШ 4,23, 95% ДІ [1,39 – 12,92],  $p=0,01$ .

Хронічний пієлонефрит в анамнезі був зазначений 16 пацієнтками (16,0 %) із порушенням фолатного метаболізму з основної клінічної групи, у вагітних жінок контрольної групи вказана запальна патологія нирок не визнавалась. Анамнестичний хронічний бронхіт переважно зустрічався у пацієнток пізнього репродуктивного віку із ПФМ – 18 (18,0 %), у вагітних жінок з контрольної групи наведена патологія респіраторної системи відзначалася у 2 пацієнток (5,0%), ВШ 4,17, 95% ДІ [0,92 – 18,89],  $p=0,06$ .

Захворювання щитоподібної залози (аутоімунний тиреоїд, дифузний та вузловий нетоксичний зоб) в анамнезі, були виявлені лише у 22 жінок пізнього репродуктивного віку основної клінічної групи (22,0%).

Анемія легкого ступеня в анамнезі була вказана 52 обстеженими пацієнтками із порушенням фолатного метаболізму (52,0 %) та у 12 вагітних жінок з контрольної групи (30,0 %), ВШ 2,53, 95% ДІ [1,16 – 5,52],  $p=0,02$  (табл. 3.7).

У 15 пацієнток (15,0%) пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму був виявлений обтяжливий алергологічний анамнез (харчові та побутові алергени).

8 вагітних пацієнток (8,0 %) із попередніми ембріональними втратами та порушенням обміну фолатів мали в анамнезі оперативні втручання (апендицит, позаматкова вагітність).

Також хотілося б зазначити, що виявлена нами анамнестична соматична патологія була у стадії компенсації та мала лише асоційований вплив на перебіг вагітності.



При дослідженні спадкової патології було виявлено, що артеріальна гіпертензія зустрічалася у родичів вагітних пізнього репродуктивного віку основної клінічної групи 26 (26,0 %) пацієток, тоді як у контрольній групі 3 вагітних (7,5 %) мала родичів із артеріальною гіпертензією, ВШ 4,33, 95% ДІ [1,23 – 15,25],  $p=0,02$  (табл. 3.8).

На тромботичні ускладнення (геморагічний та ішемічний інсульт, інфаркт міокарду) у близьких родичів вагітних із порушенням обміну фолатів та анамнестичними ранніми втратами вагітності вказували 24 (24,0 %) пацієтки проти 3 вагітних жінок (7,5 %) з контрольної групи, які мали тотожній спадковий анамнез, ВШ 3,89, 95% ДІ [1,10 – 13,77],  $p=0,035$ .

Таблиця 3.8 - Захворювання близьких родичів у вагітних жінок із порушенням фолатного метаболізму які мали попередні ембріональні втрати, (n=140)

Спадкова патологія	Основна група (пацієтки із ЕВ), n=100, абс (%)		Контрольна група (пацієтки без ЕВ), n=40, абс (%)		Відношення шансів (ВШ) (вагітні із ПФМ/контрольна група)
	абс.	%	абс.	%	
Артеріальна гіпертензія	26	26,0	3	7,5	4,33, 95% ДІ [1,23 – 15,25], $p=0,02$
Варикозна хвороба	16	16,0	0	0	
Тромботичний анамнез	24	24,0	3	7,5	3,89, 95% ДІ [1,10 – 13,77], $p=0,035$
Надмірна вага тіла	42	42,0	8	20,0	2,90, 95% ДІ [1,22 – 6,92], $p=0,02$ .
Ендокринні захворювання	10	10,0	2	5,0	2,11, 95% ДІ [0,44 – 10,09], $p=0,35$
Онкологічний анамнез	12	12,0	2	5,0	2,59, 95% ДІ [0,55 – 12,14], $p=0,23$

На варикозну хворобу своїх близьких родичів вказували 16 вагітних пацієнток із основної клінічної групи (16,0 %). Надмірну вагу тіла, за фактом спадкової патології у близьких родичів, зазначали 42 пацієнтки (42,0%) пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного обміну, проти 8 вагітних жінок з контрольної групи з аналогічною родинною патологією (20,0 %), ВШ 2,90, 95% ДІ [1,22 – 6,92],  $p=0,02$ .

На наявність ендокринної патології у родичів (тиреїдна патологія та цукровий діабет) вказували 10 вагітних пацієнток пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами (10,0 %), проти 2 пацієнток з контрольної групи (5,0 %), ВШ 2,11, 95% ДІ [0,44 – 10,09],  $p=0,35$ . Онкологічний анамнез у своїх родичів зазначали 12 (12,0 %) пацієнток із порушенням метаболізму фолатів, у вагітних з контрольної групи, онкологічні захворювання у родичів респонденток пізнього репродуктивного віку мали місце у 2 (5,0 %) випадках, ВШ 2,59, 95% ДІ [0,55 – 12,14],  $p=0,23$  (табл. 3.7).

Під час проведення клінічного дослідження було виявлено, що обтяжливий гінекологічний анамнез визначався у 44 жінок (44,0 %) із анамнестичними ранніми втратами вагітності, у вагітних пацієнток з контрольної групи анамнестична гінекологічна патологія була виявлена у 8 випадках (20,0 %), ВШ 3,14, 95% ДІ [1,32 – 7,50],  $p=0,001$  (табл. 3.9).

Після аналізу отриманих даних гінекологічного анамнезу нами було виявлено, що альгодисменорея мала місце у 18 (18,0 %) вагітних пацієнток пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами та порушенням обміну фолатів, тоді як у жінок контрольної групи вказана патологія не була діагностована взагалі.

Анамнестична гінекологічна патологія у пацієнток пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму була також представлена хронічними запальними захворюваннями внутрішніх статевих органів (сальпінгіт, сальпінгоофорит) у 22 вагітних (22,0%), проти 4 вагітних (10,0 %) з аналогічними, за структурою, захворюваннями у контрольній групі, ВШ 2,54, 95% ДІ [0,82 – 7,91],  $p=0,11$ .

Таблиця 3.9 – Структура гінекологічної патології у вагітних жінок із попередніми репродуктивними втратами та порушенням фолатного метаболізму, (n=140)

Гінекологічні захворювання	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	Відношення шансів (ВШ) (вагітні із ПФМ/контрольна група)
Хронічні запальні захворювання внутрішніх статевих органів	22 (22,0)	4 (10,0)	2,54, 95% ДІ [0,82 – 7,91], p=0,11
Патологія шийки матки	16 (16,0)	3 (7,5)	2,35, 95% ДІ [0,645 – 8,55], p=0,19
Бактеріальний вагіноз	36 (36,0)	6 (15,0)	3,19, 95% ДІ [1,22 – 8,32], p=0,02
Альгодисменорея	18 (18,0)	0	-
Захворювання що передаються статевим шляхом	8 (8,0)	0	-
Синдром полікістозних яєчників	4 (4,0)	0	-
Кісти яєчника	11 (11,0)	2 (5,0)	2,35, 95% ДІ [0,50 – 11,11], p=0,28
Аномальні маткові кровотечі	9 (9,0)	0	-
Непліддя	14 (14,0)	0	-

Пролікована неопластична трансформація шийки матки була виявлена у 16 вагітних жінок пізнього репродуктивного віку основної клінічної групи (16,0 %), у практично здорових пацієнток контрольної групи анамнестична патологія шийки матки, що згадувалася вище, була діагностована у 3 випадках (7,5 %), ВШ 2,35, 95% ДІ [0,645 – 8,55], p=0,19. Захворювання, що передавалися статевим шляхом, в анамнезі мали 8 вагітних (8,0 %) із

попередніми ембріональними втратами. На бактеріальний вагіноз, що був пролікований прекоцепційно, вказували 36 вагітних (36,0 %) пацієнток пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності, проти 15,0 % вагітних пацієнток з контрольної групи, ВШ 3,19, 95% ДІ [1,22 – 8,32],  $p=0,02$ .

У 9 обстежених жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів (9,0%) мали місце в анамнезі аномальні маткові кровотечі (АМК), респондентки з контрольної групи випадки АМК заперечували. Синдром полікістозних яєчників також був виявлений в анамнезі лише у 4 пацієнток із порушенням фолатного метаболізму (4,0 %). На анамнестичну кісту яєчника вказували 11 жінок (11,0 %) пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами та 2 пацієнтки з контрольної групи дослідження, ВШ 2,35, 95% ДІ [0,50 – 11,11],  $p=0,28$ .

14 жінок з непліддям становила достатньо невеликий відсоток серед обстежених жінок із ембріональними втратами в анамнезі (14, 0%), при тому що у 11 пацієнток основної клінічної групи непліддя було - вторинним. У практично-здорових вагітних жінок з контрольної групи не було свідчень про наявність непліддя (табл. 3.9).

У 32 вагітних жінок (32,0 %) пізнього репродуктивного віку із клінічної групи проспективного дослідження були анамнестичні артифіціальні аборти, у той час коли у контрольній групі 8 пацієнток (20,0 %) відзначали на переривання вагітності в анамнезі, ВШ 1,88, 95% ДІ [0,78 – 4,54],  $p=0,16$ . Післяабортні ускладнення (кровотеча, ендометрит) респондентки нашого клінічного дослідження заперечували.

Аналіз перебігу попередніх вагітностей та пологів у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку груп нашого проспективного дослідження, наведений у таблиці 3.10.

Таблиця 3.10 – Акушерські та перинатальні результати попередніх вагітностей жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми репродуктивними втратами та порушенням фолатного метаболізму, (n=140)

Результати попередніх вагітностей	Основна група (пацієнтки із ЕВ), n=100, абс (%)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ), n=40, абс (%)	Відношення шансів (ВШ) (вагітні із ПФМ/контрольна група)
Самовільний викидень (n/%)	28 (28,0)	4 (10,0)	3,50, 95% ДІ [1,14 – 10,74], p=0,03
Викидень, що не відбувся (n/%)	62 (62,0)	5 (12,5)	11,42, 95% ДІ [4,12 – 31,68], p < 0,0001
Передчасні пологи (n/%)	8 (8,0)	0	-
Ускладнення вагітності:			
- кров'яні виділення (n/%)	46 (46,0)	6 (15,0)	4,83, 95% ДІ [1,86 – 12,52], p=0,0012
- ранній гестоз (n/%)	38 (38,0)	4 (10,0)	5,82, 95% ДІ [1,92 – 17,61], p=0,002
- гіпертензивні розлади під час вагітності (n/%)	26 (26,0)	0	-
- вади розвитку плода (n/%)	8 (8,0)	0	-
- перинатальні втрати (n/%)	18 (18,0)	0	-
- МГВП/ЗРП (n/%)	20 (20,0)	2 (5,0)	4,75, 95% ДІ [1,06 – 21,37], p=0,04
- плацентарна недостатність (n/%)	36 (36,0)	4 (10,0)	5,06, 95% ДІ [1,67 – 15,37], p=0,04
Ускладнення в пологах (n/%)	14 (14,0)	0	-
Ускладнення після пологів (n/%)	6 (6,0)	0	-
Асфіксія новонароджених (n/%)	21 (21,0)	0	-

Примітка. МГВП/СЗРП – малий для гестаційного віку плід / синдром затримки розвитку плода.

Анамнестичний самовільний викидень мали 28 (28,0 %) вагітних жінок із анамнестичними втратами вагітності у ранньому терміні та 4 жінки з контрольної групи (10,0 %), ВШ 3,50, 95% ДІ [1,14 – 10,74],  $p=0,03$ . Викидень, що не відбувся, зазначали 62 (62,0 %) жінки пізнього репродуктивного віку із порушенням обміну фолатів та 5 пацієток (12,5 %) з контрольної групи, ВШ 11,42, 95% ДІ [4,12 – 31,68],  $p < 0,0001$ .

Також хотілося б відзначити, що завмирання вагітності у переважній кількості випадків сталося до 10 тижня гестації. Термінація вагітності у більш пізньому гестаційному віці, а саме, випадок передчасних пологів зазначали в анамнезі 8 жінок із основної клінічної групи із ембріональними втратами в анамнезі (8,0 %). Кров'яні виділення у ранньому терміні попередньої гестації, зазначали 46 пацієток із попередніми ранніми репродуктивними втратами (46,0 %) та 6 практично здорових вагітних жінок (15,0 %), ВШ 4,83, 95% ДІ [1,86 – 12,52],  $p=0,0012$ .

На надмірну блювоту вагітних при попередній гестації вказували 38 жінок (38,0 %) пізнього репродуктивного віку із порушенням обміну фолатів та 4 пацієтки (10,0 %) з контрольної групи, ВШ 5,82, 95% ДІ [1,92 – 17,61],  $p=0,002$ .

Гіпертензивні розлади при попередній вагітності було діагностовано у 26 (26,0 %) пацієток із попередніми ембріональними втратами. Перинатальні втрати, в анамнезі, також діагностувалися лише у 18 випадках серед жінок пізнього репродуктивного віку, що мали порушення метаболізму фолатів (18,0%).

Вади розвитку плода з боку серцево-судинної системи були у 8 (8,0 %) пацієток з порушенням метаболізму фолатів під час минулої вагітності. Анамнестичні МГВП/ЗРП були діагностовані у 20 вагітних жінок (20,0 %) з основної клінічної групи та 2 (5,0 %) пацієток з контрольної групи, ВШ 4,75, 95% ДІ [1,06 – 21,37],  $p=0,04$ .

На наявність плацентарної дисфункції за час попередньої вагітності вказували 36 пацієток (36,0 %) пізнього репродуктивного віку із

анамнестичними ранніми репродуктивними втратами та 4 (10,0%) жінок з контрольної групи, ВШ 5,06, 95% ДІ [1,67 – 15,37],  $p=0,04$  (табл. 3.10).

У 14 вагітних жінок з основної клінічної групи (14,0 %) була діагностована слабкість перейм та потуг, що потребувала медикаментозної корекції, у I та II періодах пологів, відповідно. Післяпологовий період ускладнювався, переважно ендометритом, у 6 пацієток (6,0%) пізнього репродуктивного віку із ПФМ. У жодної з жінок, які були задіяні в проспективному дослідженні, не проводилось оперативних втручань в пологах та післяпологовому періоді. Асфіксія новонародженого, переважно легкого та помірного ступенів, в анамнезі, мала місце у 21 пацієтки (21,0 %) із порушенням метаболізму фолатів.

У 34 (34,0 %) вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму у близьких родичів мав місце обтяжений акушерський анамнез, у вагітних пацієток з контрольної групи гестаційна патологія у родичів зазначалась у 6 випадках (15,0 %), ВШ 2,92, 95% ДІ [1,12 – 7,63],  $p=0,03$ . У 26 пацієток (26,0 %) із ПФМ родичі мали в анамнезі викидні до 10 тижня вагітності, тоді як у 2 жінок пізнього репродуктивного віку (5,0 %) з контрольної групи сталося подібне, ВШ 6,68, 95% ДІ [1,50 – 29,63],  $p=0,01$ . Передчасні пологи у своїх родичів зазначали 10 (10,0%) жінок із попередніми ембріональними втратами та 2 пацієтки які були зараховані нами до контрольної групи (5,0 %), ВШ 2,11, 95% ДІ [0,44 – 10,09],  $p=0,35$ . На прееклампсію у близьких родичів вказували 16 вагітних з основної клінічної групи (16,0 %).

### Резюме

Таким чином, проаналізований характер розподілу генотипів поліморфізму *rs1801133* гена *MTHFR* виявив самостійний характер його асоційованості із ризиком розвитку перинатальної патології та довів участь аллельного варіанту *rs1801133T* у патогенетичному механізмі порушень регуляції фолатного метаболізму. Генотипичний варіант *T/T* призводить до максимального зниження рівня синтезу ферменту *MTHFR*, що робить істотно самостійний вплив на процес синтезу метіоніну з гомоцистеїну, призводячи,

таким чином, до вираженого уповільнення інтенсивності процесу фолатного обміну й розвитку вітаміндефіцитного стану (фолієвої кислоти).

Попередні ембріональні втрати та порушення фолатного обміну, були асоційовані із достовірним збільшенням в анамнезі дитячої захворюваності ( $p=0,0003$ ), захворювань серцево-судинної системи ( $p=0,002$ ), хронічних захворювань ШКТ ( $p=0,01$ ), бактеріального вагінозу ( $p=0,02$ ), самовільного викидня ( $p=0,03$ ), викидня що не відбувся ( $p < 0,0001$ ), децидуальної васкулопатії ( $p=0,0012$ ), раннім гестозом ( $p=0,002$ ), та плацентарною дисфункцією ( $p=0,04$ ).

Обтяжливими факторами, що могли впливати на діагностовані зміни метаболізму фолатів у пацієток нашого проспективного дослідження, слід вважати спадковий фактор у близьких родичів (артеріальна гіпертензія, тромботичний анамнез, надмірна вага тіла, самовільні викидні).

Результати даного розділу опубліковані [47].



## РОЗДІЛ 4

### ОСОБЛИВОСТІ СТРАТИФІКАЦІЇ РИЗИКУ ЕМБРІОНАЛЬНИХ ВТРАТ У ПАЦІЄНТОК ЗАЛЕЖНО ВІД СТАНУ ФОЛАТНОГО МЕТАБОЛІЗМУ

#### 4.1 Оцінка результатів біохімічного, імунологічного та гормонального скринінгу у пацієнток із порушенням фолатного обміну

На сучасному етапі розвитку наукових знань, не дивлячись на значний прогрес у вивченні проблеми виявлення та профілактики невиношування вагітності у ранніх термінах гестації, в цьому питанні залишається безліч невизначеного. Так, недостатньо вивчені гормонально залежні механізми, що пов'язані із порушенням метаболізму фолатів у пацієнток із ембріональними втратами, не встановлені ранні предиктори імунологічних порушень, не розроблені методи скринінгу ендотеліальних порушень.

З'ясування генетичних особливостей ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку допоможе на прегравідарному етапі виявити групу ризику серед пацієнток з виникнення акушерських ускладнень та провести адекватну профілактику. Ми рекомендуємо у групі ризику вагітних із порушенням метаболізму фолатів з виникнення ранніх втрат вагітності проводити персоналізоване лабораторне обстеження.

Маркери ендотеліальної дисфункції у пацієнток пізнього репродуктивного віку із ембріональними втратами в анамнезі потребують окремого вивчення. Тому метою наступного етапу нашого клінічного дослідження була оцінка ендотелійзалежної регуляції судинного тону у пацієнток із порушенням метаболізму фолатів, які мали ембріональні втрати вагітності в анамнезі. В якості маркеру ендотеліальної дисфункції ми використовували дослідження ендотелійзалежної вазодилатації (ЕЗВД) у

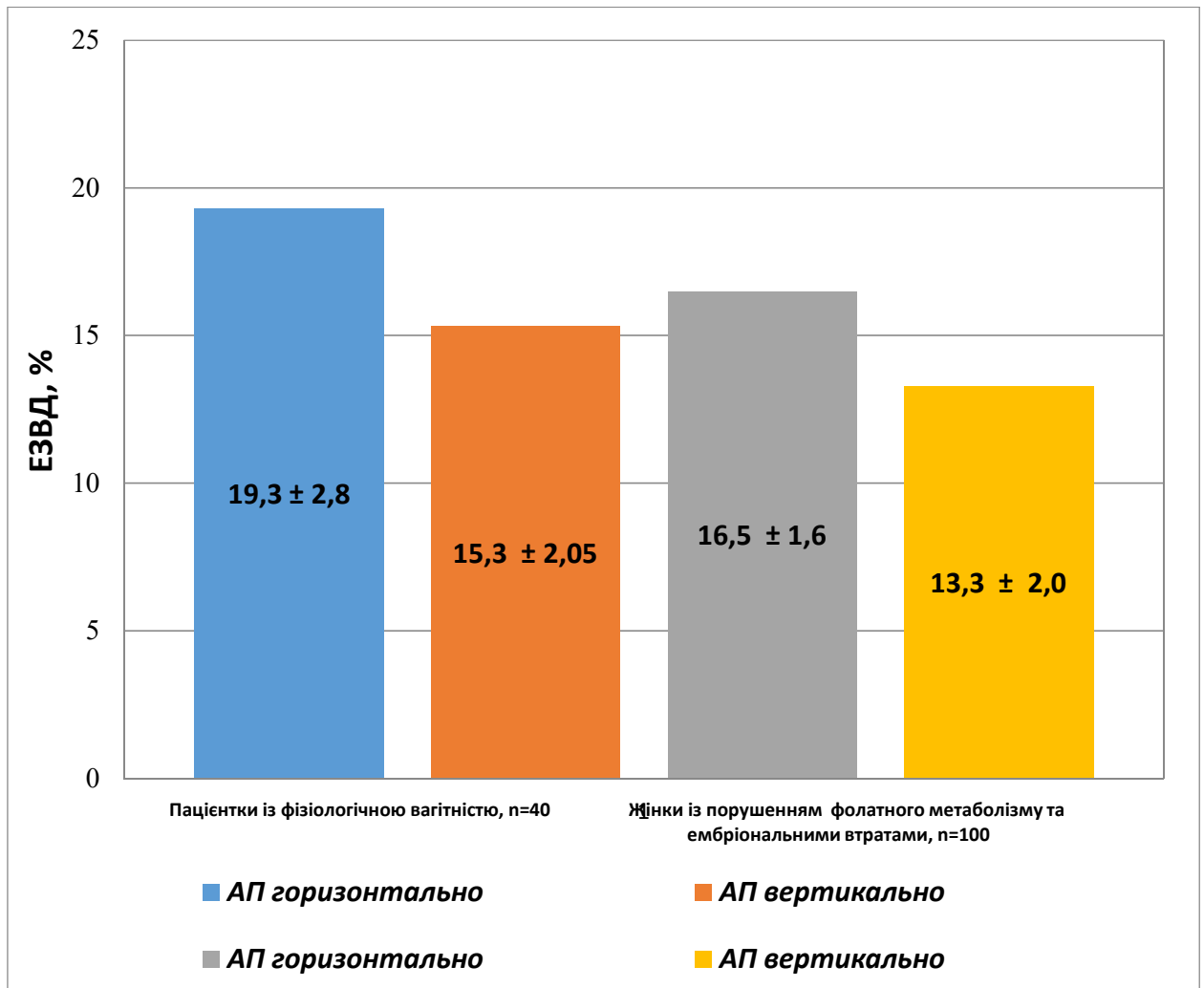
пробі з реактивною гіперемією плечової (АП) артерії у пацієток пізнього репродуктивного віку.

Дослідження ЕЗВД провели у пацієток основної та контрольної груп у терміні вагітності 10-12 тижнів гестації (100 пацієток із ембріональними втратами та 40 вагітних із фізіологічним перебігом гестації, без анамнестичних ембріональних втрат). Хотілося б зазначити, що на час проведення дослідження жодна з вагітних пацієток не отримувала в якості терапії препаратів, які навіть гіпотетично могли б вплинути на судинний тонус.

При проведенні аналізу результатів дослідження вазорегуляторної функції нами було встановлено, що у ранньому терміні вагітності у жінок із фізіологічним перебігом гестації показники ЕЗВД, у вертикальному положенні, складали  $15,3 \pm 2,05\%$  по плечовій артерії (рис. 4.1).

Тоді, як у горизонтальній позиції результати ЕЗВД становили  $19,3 \pm 2,8\%$  відповідно. При дослідженні регуляції судинного тонузу у пацієток пізнього репродуктивного віку із ембріональними втратами в анамнезі та порушенням обміну фолатів нами було виявлено, що в аналогічному ранньому терміні вагітності результати ЕЗВД по плечовій артерії, в положенні «лежачи», становили  $16,5 \pm 1,6\%$ . Наведений результат не мав статистично-вірогідної відмінності ( $p > 0,05$ ), порівняно із жінками, які не мали у своєму анамнезі ранніх втрат вагітності.

Також хотілося б зазначити, що у вертикальному положенні, показники ЕЗВД у пацієток із основної клінічної групи також не були статистично достовірні ( $p > 0,05$ ), щодо аналогічних показників при фізіологічній вагітності, по АП –  $13,3 \pm 2,0\%$ . Хоча й слід зазначити, що наведений вище показник вказував на сумнівну реакцію по ендотеліальній дисфункції.



Примітка. AP – плечова артерія; горизонтально/вертикально – пізні умови при яких виконувалось дослідження.

Рис. 4.1 - Показники ендотелійзалежної вазодилатації у пацієнток із порушенням метаболізму фолатів, n= 140 (%), (M±σ).

Таким чином, у результаті проведеного даного етапу проспективного клінічного дослідження виявлені нами зміни ендотелійзалежної релаксації плечової артерії на оклюзійну пробу (ЕЗВД), із врахуванням положення вагітної («горизонтально-вертикально»), свідчили про фактичну відсутність ендотеліальної дисфункції у вагітних жінок із порушенням метаболізму фолатів. Показники ЕЗВД у вагітних жінок, які були задіяні у дослідженні з клінічної, так із контрольної груп, свідчили про певні пристосувально-компенсаторні зміни ендотелійзалежної складової регуляції судинного тону, що характерні для початку ремоделювання спіральних артерій матки у

плацентарні судини. Наведений механізм, у першу чергу, був спрямований на оптимальне гемодинамічне забезпечення вагітності, починаючи із першого триместру вагітності.

Фактори фетоплацентарного ангиогенезу сироватці крові вагітних із анамнестичними ембріональними втратами та порушенням обміну фолатів були вивчені на наступному етапі нашої роботи. Ніз урахуванням ангиогенної складової у розвитку перинатальної патології, ми вирішили дослідити роль судинного ендотеліального фактора росту (СЕФР) та плацентарного фактору росту (ПлФР), у розвитку гестаційних ускладнень у вагітних жінок із порушенням фолатного метаболізму.

Згідно із завданням нашого дослідження, було обстежено 40 вагітних жінок у терміні вагітності 11-12 тижнів. Основна клінічна група була представлена 20 вагітними жінками, які мали анамнестичні ембріональні втрати та мінорний генотип (*T/T*) *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR*. У 20 вагітних з фізіологічним перебігом гестації та відсутнім порушенням метаболізму фолатного циклу також був проведений забір крові на дослідження факторів ангиогенезу ендотеліального походження (СЕФР та ПлФР).

Відповідно до результатів нашого проспективного дослідження різниця сироваткового рівня СЕФР між жінками із фізіологічним перебігом вагітності та основної клінічної групи мала статистично вірогідну відмінність ( $p < 0,05$ ). Сироваткові рівні СЕФР, у терміні вагітності 11-12 тижнів у жінок із носійством мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR* становив, у середньому  $23,49 \pm 2,88$  пг/мл, тоді як у пацієток із фізіологічною вагітністю аналогічний показник був  $36,14 \pm 3,88$  пг/мл відповідно (табл. 4.1).

Наведені результати можуть свідчити про те, що розвиток плаценти при носійстві мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR* відбувається в умовах порушення формування її судинної системи й зниження гемодинаміки. У зв'язку з вище викладеним представляло інтерес дослідити клінічний результат вагітності та викрити предиктивне значення зниження

СЕФР наприкінці першого триместру вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами.

Таблиця 4.1 - Аналіз дослідження показників СЕФР у вагітних жінок із мінорним генотипом (*T/T*) *rs1801133* (*677 C>T*) гена *MTHFR*, n= 40, ( $M \pm \sigma$ )

Показники	Основна група (вагітні жінки із мінорним генотипом ( <i>T/T</i> ) <i>rs1801133</i> ( <i>677 C&gt;T</i> ) гена <i>MTHFR</i> ) (n=20)	Контрольна група (пацієнтки без ЕВ) (n=20)
СЕФР, пг/мл.	23,49±2,88*	36,14±3,88
ПлФР, пг/мл	11,85±2,85*	20,17±2,92

Примітка. \* - відмінності статистично достовірні ( $p < 0,05$ ) щодо жінок з фізіологічним перебігом вагітності.

Отримані нами результати зможуть дати відповідь на певні запитання відносно генезу перинатальної патології за наявності поліморфізму *rs1801133* (*677 C>T*) гена *MTHFR* у нашому дослідженні.

При подальшому аналізі показників плацентарного фактору росту у сироватці крові вагітних жінок із носійством мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133* (*677 C>T*) гена *MTHFR*, було виявлено достовірне зниження ( $p < 0,05$ ) ПлФР до 11,85±2,85 пг/мл (табл. 4.1).

Достовірно вища концентрація ПлФР у сироватці крові була діагностована нами у вагітних жінок із фізіологічним перебігом гестаційного процесу - 20,17±2,92 пг/мл.

Результат дослідження факторів ангиогенезу ендотеліального походження у жінок із мінорним генотипом (*T/T*) *rs1801133* (*677 C>T*) гена *MTHFR* може бути свідченням порушення оптимального кровоплину у системі матка-плацента-плід, та може викликати розлади системного кровообігу матері, що визнається як визначний фактор стосовно клінічної маніфестації перинатальної патології.

На наступному етапі ми оцінили особливості стану анти- та прокоагулянтної систем у пацієток із анамнестичними ранніми втратами вагітності та порушенням фолатного метаболізму

Для аналізу стану плазмової ланки гемостазу ми визначали активований частковий тромбіновий час (АЧТЧ), рівень фібриногену, для оцінки рівня фізіологічних антикоагулянтів - антитромбін III. Також нами були проаналізовані фактори, що безпосередньо могли вплинути на прокоагулянтну та антикоагулянтну системи вагітної жінки – вовчаковий антикоагулянт та гомоцистеїн.

Наведений вище етап дослідження був проведений у 60 пацієток носійством гетеро- та гомозиготних генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та 40 жінок із контрольної групи (табл. 4.2). Було встановлено, що у жінок пізнього репродуктивного віку із генетичним поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T) MTHFR*, кількість тромбоцитів хоча і знаходилась в межах фізіологічних нормативів ( $197,78 \pm 17,63 *10^9/\text{л}$ ), проте була знижена відносно аналогічних показників у пацієток контрольної групи ( $219,50 \pm 17,63*10^9/\text{л}$ ). Хоча й зазначена різниця не мала статистично вірогідної відмінності ( $p > 0,05$ ).

Статистично достовірне зростання сироваткових показників фібриногену ( $3160,0 \pm 734,93$  мг/л), у жінок, що мали носійство генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* до аналогічного результату жінок практичноздорових жінок ( $2897,50 \pm 710,9$  мг/л) також не відзначалось статистичнодостовірною відмінністю ( $p > 0,05$ ).

Також хотілося б зазначити на тотожну тенденцію відносно показників протромбінового індексу, щодо достовірної різниці у пацієток з основної клінічної групи нашого проспективного дослідження ( $90,58 \pm 6,11\%$ ) проти рівня III у практично здорових жінок -  $83,32 \pm 7,09\%$ , який безпосередньо відповідає за зовнішній шлях нативної коагуляції ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 4.2 – Порівняльна характеристика коагулотесту у пацієток із носійством гетеро- та гомозиготних генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133* ( $677 C>T$ ) гена *MTHFR* із анамнестичними ембріональними втратами та практично здоровими жінками, ( $n=100$ ), ( $M\pm\sigma$ )

Показники	Вагітні пацієтки із генотипами ( $C/T+T/T$ ) <i>rs1801133</i> ( $677 C>T$ ) гена <i>MTHFR</i> ( $n= 60$ )	Контрольна група (пацієтки без ЕВ) ( $n=40$ )
АЧТЧ, сек.	$27,05 \pm 4,74$	$21,05 \pm 4,27$
Антитромбін III, %	$86,26 \pm 7,73$	$98,03 \pm 7,91$
Тромбоцити* $10^9$ /л	$197,78 \pm 17,63$	$219,50 \pm 17,63$
Фібриноген, мг/л	$3160,0 \pm 734,93$	$2897,50 \pm 710,9$
ПІ, %	$90,58 \pm 6,11$	$83,32 \pm 7,09$

Примітка. АЧТЧ - активований частково тромбопластиновий час; ПІ – протромбіновий індекс.

Активацію внутрішнього шляху згортання ми досліджували за допомогою аналізу показника АЧТЧ, чутливого методу щодо визначення дефіциту факторів згортання, характерною ознакою якого є незалежність від кількості тромбоцитів у периферичній крові. Проте, отримані нами результати сироваткових показників АЧТЧ не мали достовірної різниці ( $p > 0,05$ ) між жінками пізнього репродуктивного віку з основної клінічної групи ( $27,05 \pm 4,74$  сек.) та пацієтками, які не мали в своєму анамнезі ембріональних втрат ( $21,05 \pm 4,27$  сек.).

Антикоагулянтну активність плазми крові у пацієток із носійством генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133* ( $677 C>T$ ) гена *MTHFR* з анамнестичними ембріональними втратами та практично здоровими вагітними жінками ми визначали за результатом дослідження антитромбіну III. Нами було встановлено, що у жінок із контрольної групи сироватковий показник рівня антитромбіну III, у середньому, становив  $98,03 \pm 7,91\%$ . Хотілося б зазначити, що у пацієток з основної клінічної групи, на прегравідарному етапі,

спостерігалася певна тенденція, яка була спрямована на зниження рівня антитромбіну III у сироватці крові. У жінок із генетичним поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T) MTHFR* діагностувалось незначне зниження рівня антитромбіну III до  $86,26 \pm 7,73$  %. Однак наведене вище зниження рівня показників антикоагуляційної ланки гемостазу у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами не мали статистично-достовірної відмінності ( $p > 0,05$ ).

При дослідженні рівня гомоцистеїну та вовчакового антикоагулянту у жінок із гетеро- та гомозиготним генотипами (*C/T+T/T rs1801133 (677 C>T)*) гена *MTHFR* нами було визначено, що для вказаної популяції жінок було притаманне статистично недостовірне ( $p > 0,05$ ) підвищення рівня вовчакового антикоагулянта (ВАК) та достовірне зростання ( $p < 0,05$ ) рівня гомоцистеїна у сироватці крові (табл.4.3).

Таблиця 4.3 – Показники гомоцистеїну та вовчакового антикоагулянту у вагітних пацієнток із генетичним поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T) MTHFR* та у практично здорових вагітних жінок, (n=60) ( $M \pm \sigma$ )

Показники	Вагітні пацієнтки із генотипами ( <i>C/T+T/T rs1801133 (677 C&gt;T)</i> ) гена <i>MTHFR</i> (n= 40)	Контрольна група (пацієнтки без EB) (n= 20)
ВАК, сек.	$1,08 \pm 0,30$	$0,76 \pm 0,22$
Гомоцистеїн, мкмоль/л	$9,20 \pm 1,15^*$	$5,63 \pm 0,96$

Примітка. \* - достовірні відмінності між групами ( $p < 0,05$ ).

Проте, нами було визначено, що хоча й у середньому рівень ВАК у вагітних із носійством генотипів (*C/T+T/T rs1801133 (677 C>T)*) гена *MTHFR* знаходився у межах референтних значень ( $1,08 \pm 0,30$  сек), 14 пацієнток наведеної групи (35,0%) мали рівень ВАК вищий за 1,2 сек, тобто «слабо-позитивний тест», тоді, як результат аналогічного дослідження у групі практично здорових жінок, що звернулись у Центр планування сім'ї стосовно



запланованої вагітності,  $0,76 \pm 0,22$  сек, у жодної жінки не визначався рівень ВАК більший за 1,2 сек.

Сироватковий рівень гомоцистеїну у пацієток із генетичним поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T) MTHFR* та попередньою ембріональною втратою знаходився у межах  $9,05 \pm 2,1$  мкмоль/л. Тоді як у жінок з контрольної групи рівень гомоцистеїну у сироватці становив  $5,83 \pm 1,18$  мкмоль/л, у середньому.

Таким чином, спостерігалось недостовірне підвищення рівня вівчакового антикоагулянта (ВАК) та гомоцистеїну у сироватці крові пацієток із носійством генотипів (*C/T+T/T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. У пацієток пізнього репродуктивного віку із *rs1801133 (677 C>T) MTHFR* та попередньою ембріональною втратою не визначались статистично-значимі зміни параметрів гемостазу порівняно із аналогічними показниками при фізіологічній вагітності. Відсутність достовірних ознак гіперкоагуляції при носійстві гетеро- та гомозиготних генотипів (*C/T+T/T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* поряд із зниженням атромбогенного потенціалу стінки судини не потребують додаткового призначення медикаментозних препаратів із антикоагулянтною активністю.

#### **4.2 Аналіз кровоплину у спіральних та маткових артеріях у вагітних пацієток із попередніми ембріональними втратами та порушеннями фолатного обміну**

Наступним етапом дослідження став аналіз доплерометричних показників у спіральних артеріях (СА) та маткових артеріях (МА) при фізіологічній вагітності та вагітності у пацієток із попередніми ембріональними втратами.

Нами були проаналізовані результати доплерометричних досліджень 50 вагітних жінок з груп нашого клінічного проспективного дослідження. Кровоплин у СА та МА (середні показники по правій та лівій маткових

артеріях), оцінювали за допомогою трансвагінального кольорового доплерівського картування у термінах вагітності від 12 до 13 тижнів + 6 діб.

У першу групу були зараховані вагітні жінки із носійством генотипів (C/T+T/T) *rs1801133* (677 C>T) гена *MTHFR* (n=26). Контрольну групу складала вагітні з фізіологічним перебігом гестаційного процесу (n=24).

При аналізі отриманих результатів (табл. 4.4), нами було виявлено, що показники пульсаційного індексу ПІ у спіральних артеріях наприкінці першого триместру вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму були вищими ( $0,59 \pm 0,07$ ), ніж у пацієнок із фізіологічним перебігом вагітності ( $0,51 \pm 0,05$ ), проте зазначена відмінність не відрізнялась статистичною достовірністю ( $p > 0,05$ ).

Таблиця 4.4 - Характеристика ПІ та ІР в залежності від гестаційного віку жінок та умов дослідження, n=50 ( $M \pm \sigma$ )

Термін вагітності, тиж.	Кровоплин у спіральних артеріях		Кровоплин у маткових артеріях	
Пульсаційний індекс				
12 – 13 тиж.	Вагітні жінки із генотипами (C/T+T/T) <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n= 26)	Контрольна група (пацієнтки без EB) (n= 24)	Вагітні жінки із генотипами (C/T+T/T) <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n= 26)	Контрольна група (пацієнтки без EB) (n= 24)
	$0,59 \pm 0,07$	$0,51 \pm 0,05$	$1,03 \pm 0,1$	$0,93 \pm 0,07$
Індекс резистентності				
12 – 13 тиж.	Вагітні жінки із генотипами (C/T+T/T) <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n= 26)	Контрольна група (пацієнтки без EB) (n= 24)	Вагітні жінки із генотипами (C/T+T/T) <i>rs1801133</i> (677 C>T) гена <i>MTHFR</i> (n= 26)	Контрольна група (пацієнтки без EB) (n= 24)
	$0,57 \pm 0,08$	$0,45 \pm 0,06$	$0,70 \pm 0,09$	$0,65 \pm 0,07$

Подібна динаміка, до вказаного терміну вагітності, спостерігалась нами і при дослідженні ІІ у маткових артеріях -  $1,03 \pm 0,1$ , та  $0,93 \pm 0,07$  відповідно у вагітних жінок із носійством гетеро- та гомозиготного генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133* ( $677 C>T$ ) гена *MTHFR* та пацієток з фізіологічним перебігом гестації.

При дослідженні показника судинної резистентності спіральних та маткових артерій (індекс резистентності), нами було виявлено, що у пацієток основної групи клінічного дослідження із попередніми ембріональними втратами діагностувалися підвищені показники індексу резистентності (ІР) ( $0,57 \pm 0,08$  та  $0,70 \pm 0,09$ ) у порівнянні із аналогічним результатом у жінок без попередніх ембріональних втрат із фізіологічним перебігом вагітності ( $0,45 \pm 0,06$  та  $0,65 \pm 0,07$ ) наприкінці першого триместру вагітності.

Також ми зазначали, що статистично вірогідної відмінності не було встановлено у жодному з випадків у зазначений термін вагітності ( $p > 0,05$ ).

### **Резюме**

Таким чином, у першому триместрі вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку із носійством гетеро- та гомозиготного генотипів ( $C/T+T/T$ ) *rs1801133* ( $677 C>T$ ) гена *MTHFR* пульсаційний індекс та індекс опору, були вищими за такі при фізіологічній вагітності, як у спіральних, так і маткових артеріях. Зменшення або збільшення доплерівських індексів, у залежності від умов дослідження, у СА співпадало з аналогічними змінами у МА. Це підтверджує припущення, що опір кровоплину у СА знаходить своє відображення в кровоплину МА. Таким чином, доплерометричні дослідження, які були проведені, починаючи з 12 тижнів гестації, були цінним інструментом для диференціації вагітних групи ризику виникнення перинатальної патології у подальшому.

Результати даного розділу опубліковані в наступних наукових працях [47, 49, 116].

## РОЗДІЛ 5

### ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОФІЛАКТИЧНОЇ ТЕРАПІЇ У ПАЦІЄНТОК ІЗ ПОРУШЕННЯМ ФОЛАТНОГО МЕТАБОЛІЗМУ

У сучасному клінічному акушерстві намітилася тенденція до використання універсальних підходів до профілактики невиношування вагітності у ранньому терміні із урахуванням рекомендацій, що відображені у базах доказової медицини [138, 142, 210, 227, 229, 240]. Клінічно обґрунтована превентивна терапія на прегравідарному етапі та у першому триместрі вагітності є однією із основних запорок успішності профілактики перинатальної патології (завмерла вагітність, плацентарна дисфункція, прееклампсія та антенатальна загибель плода), що може призвести до значного зниження випадків втрат вагітності та підвищення якості перебігу гестаційного процесу.

Достатньо неоднозначним виглядає призначення препаратів фолієвої кислоти. Згідно із Наказом Міністерства охорони здоров'я № 7 від 09.01.2014 та рекомендаціями ВООЗ добова доза фолієвої кислоти для вагітної жінки повинна складати від 400 до 800 мкг [148]. Прийом слід починати за 2-3 місяці до запланованої вагітності й продовжувати, як мінімум, до 12 тижнів вагітності. Проте більшість жінок дізнаються про вагітність лише через 2-3 тижні від її початку. У цьому випадку прийом фолатів може виявитися неефективним. Тому Американський інститут Здоров'я рекомендує приймати фолат всім жінкам дітородного віку в дозі 400 мкг/добу постійно. Під впливом ферментів (MTHFR, MTR, MTRR), фолієва кислота перетворюється у дигідрофолієву, а потім у тетрагідрофолат та метилтетрагідрофолат [27, 29].

Тому, у відповідності до поставлених задач нашого проспективного порівняльного дослідження, вагітні були розподілені на клінічні групи, в залежності від вибору препарату на етапі ініціації профілактичної терапії. Перша клінічна група - жінки пізнього репродуктивного віку із порушенням

фолатного обміну та ранніми втратами вагітності в анамнезі отримували фолієву кислоту у дозі 400 мкг на добу (n=45). Друга клінічна група – пацієнтки із анамнестичної втратою вагітності у ранньому терміні та із порушенням метаболізму фолатів, які приймали препарат, що містив фолієву кислоту 200 мкг та 5-метилтетрагідрофолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу (n=55). Контрольна група нараховувала 40 вагітних з фізіологічним перебігом гестаційного процесу.

Профілактична терапія препаратами, що містили фолати розпочиналась за 8 тижнів до запланованої вагітності до 14-16 тижнів гестації.

Динамічне спостереження за станом пацієнток здійснювали за допомогою порівняння клініко-лабораторних методів проспективного дослідження.

### **5.1 Результати пренатального скринінгу у I та II триместрі у пацієнток пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів**

Черговим етапом порівняльного проспективного дослідження оцінки клінічної ефективності профілактичного лікування у вагітних жінок із попередньою ембріональною втратою та порушенням метаболізму фолатів був аналіз результатів пренатального скринінгу у I та II триместрі (табл. 5.1).

Відзначено, що у 17 жінок пізнього репродуктивного віку із носійством гомозиготного генотипу (*T/T*) *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR* (16,0%) достовірно частіше рівень  $\beta$ -ХГЛ у першому триместрі відрізнявся від нормативних значень (ВШ 7,99, 95% ДІ [1,03-62,20],  $p=0,047$ ), що ймовірно було пов'язано з особливостями імплантації та можливим подальшим розвитком дисфункції плаценти у пацієнток з анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні гестації із носійством мінорного генотипу (*T/T*) *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR*. Між пацієнтками клінічних груп дослідження достовірних відмінностей за ізольованими змінами  $\beta$ -ХГЛ не

було відзначено, ВР 2,24, 95% ДІ [0,90-5,59],  $p=0,083$ .

Таблиця 5.1 - Результати пренатального скринінгу в I та II триместрі у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із попередньою ембріональною втратою,  $n=259$

Групи дослідження	I клінічна група (n=45)	II клінічна група (n=55)	Контрольна група (n=40)
Маркери скринінгу			
I триместр			
Відхилення маркерів $\beta$ -ХГЛ, РАРР-А від нормативних показників, (n/%)	4 / 8,9	2 / 3,6	0
Ізольовані зміни $\beta$ -ХГЛ, (n/%)	11 / 24,4	6 / 10,9	1 / 2,5
Ізольовані зміни РАРР-А, (n/%)	3 / 6,7	2 / 3,6	0
Групи дослідження	(n=31)	(n=48)	(n=40)
II триместр			
Відхилення маркерів $\beta$ -ХГЛ, АФП, естріолу від нормативних показників, (n/%)	3 / 9,7	1 / 2,1	0
Ізольовані зміни $\beta$ -ХГЛ, (n/%)	8 / 25,8*	2 / 4,2	1 / 2,5
Ізольовані зміни АФП, (n/%)	4 / 12,9	0	0
Ізольовані зміни естріолу, (n/%)	14 / 45,2*	4 / 8,3	1 / 2,5

Примітка 1. АФН –  $\alpha$ -фетопротеїн.

Примітка 2. \* - статистично значущі відмінності ( $p < 0,05$ ) між групами проспективного дослідження.

За показником відхилення маркерів  $\beta$ -ХГЛ, РАРР-А та ізольованих змін РАРР-А від нормативних показників ми також не встановили статистично-значимої відмінності між групами вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням фолатного метаболізму, у залежності від запропонованої профілактичної стратегії, ВР 2,44, 95% ДІ [0,47-12,74],  $p=0,29$  та ВР 1,83, 95% ДІ [0,32-10,50],  $p=0,50$ , відповідно.

Як видно з матеріалів таблиці 5.1, у другому триместрі вагітності найбільш інформативними стали достовірні зміни рівня естріолу у вагітних пацієнток із попередньою ембріональною втратою, ВШ 11,51, 95% ДІ [1,48-89,70],  $p=0,020$ . До того ж, за вказаним вище показником, нами була відмічена надзвичайно висока статистична відмінність у залежності від виду профілактичної терапії, у 14 жінок (45,2%), які отримували у якості профілактики перинатальної патології суто фолієву кислоту, було діагностовано ізольовані зміни рівня сироваткового естріолу, проти 4 вагітних пацієнток (8,3%), які отримували комбінований препарат, що містив фолієву кислоту та L-метилфолат, ВР 5,42, 95% ДІ [1,96-14,96],  $p=0,0011$ . Випадки ізольованих змін АФП були зазначені нами лише у 4 обстежених жінок із першої клінічної групи (12,9%) із носійством гомозиготного генотипу (*T/T*) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

Стосовно ізольованих відхилень  $\beta$ -ХГЛ від нормативних показників, то за вказаним результатом не відзначались достовірні відмінності у відношенні до аналогічних показників жінок із фізіологічним перебігом вагітності, ВШ 5,65, 95% ДІ [0,70-45,83],  $p=0,11$ . Тоді як при міжгруповому порівнянні за змінами  $\beta$ -ХГЛ відмінність мала статистичну значимість ВР 6,19, 95% ДІ [1,41-27,27],  $p=0,015$ . Комбіноване відхилення маркерів  $\beta$ -ХГЛ, АФП, естріолу від нормативних показників не мало достовірної відмінності у залежності від виду профілактичної терапії, ВР 4,64, 95% ДІ [0,51-42,67],  $p=0,18$ .

## **5.2 Оцінка впливу профілактичної корекції гестаційної патології на сироваткові рівні гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну**

Визначення сироваткових показників рівня гомоцистеїну та маркерів метаболізму фолатів - метіоніну й бетаїну ми проводили наприкінці I - початку II триместру вагітності (активні процеси ангіогенезу у плаценті) та у третьому триместрі (перебудова плаценти, зменшення функціонуючих судин плаценти).

У терміні вагітності 12-15 тижнів вагітності нами було відзначено

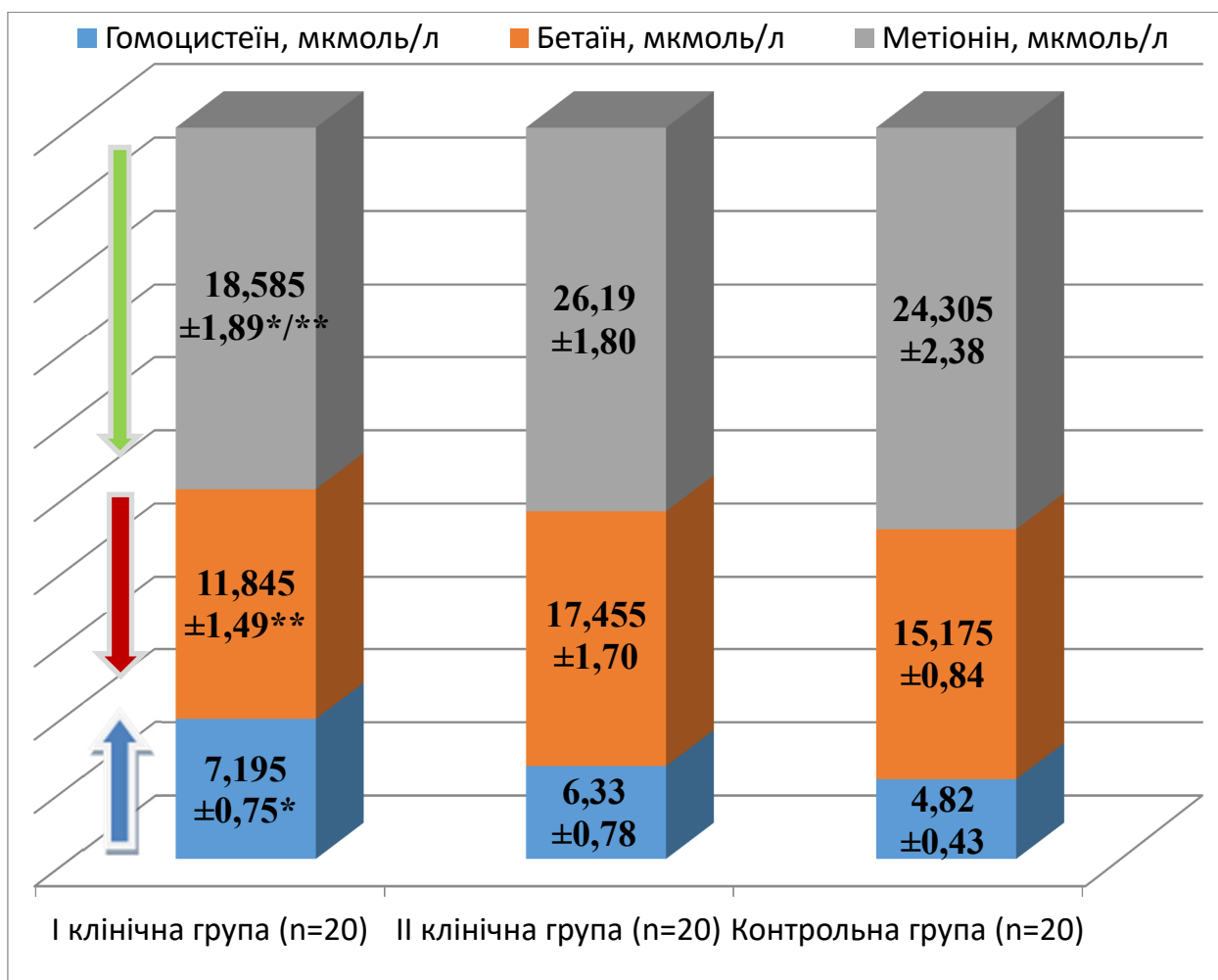
достовірно ( $p < 0,05$ ) більша концентрація гомоцистеїну у сироватці крові, у пацієток першої клінічної групи дослідження ( $7,195 \pm 0,75$  мкмоль/л) порівняно із аналогічним показником у вагітних жінок з контрольної групи ( $4,82 \pm 0,43$  мкмоль/л) дослідження (рис. 5.1). При тому, показники дослідженої субстанції у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів в другій клінічній групі, порівняно із першою, мали менше, значення ( $6,33 \pm 0,78$  мкмоль/л), хоча й достовірної відмінності нами не відзначалось.

Також нам хотілося наголосити, що у зазначений термін гестації не були виявлені достовірні відмінності ( $p > 0,05$ ) між вагітними, які використовували у якості профілактичної терапії комбінований препарат, що містив фолієву кислоту та L-метилфолат та пацієтками з контрольної групи, за результатами дослідження рівня бетаїну ( $17,455 \pm 1,70$  мкмоль/л та  $15,175 \pm 0,84$  мкмоль/л, відповідно).

Проте була встановлена достовірна відмінність ( $p < 0,05$ ) за компенсаторним зростанням сироваткового рівня бетаїну у вагітних із анамнестичними ембріональними втратами з II клінічної групи, порівняно із вагітними пацієтками, яку отримували монопрофілактику фолієвою кислотою (I клінічна група) –  $11,845 \pm 1,49$  мкмоль/л.

Відомо, що розвиток гіпергомоцистеїнемії безпосередньо пов'язаний з підвищенням рівня метіоніну у крові завдяки здатності останнього до перетворення на гомоцистеїн на шляху реметилювання. Відзначимо діагностично-значиме зниження рівня метіоніну у вагітних пацієток I клінічної групи до  $18,585 \pm 1,89$  мкмоль/л, причому вказаний показник мав статистичну вірогідність ( $p < 0,05$ ) не лише до аналогічного показника у контрольній групі ( $24,305 \pm 2,38$  мкмоль/л), але й до результату у вагітних з другої клінічної групи -  $26,19 \pm 1,80$  мкмоль/л.





Примітка. \* - достовірні відмінності щодо контрольної групи проспективного дослідження ( $p < 0,05$ ); \*\* - достовірні відмінності між групами проспективного дослідження ( $p < 0,05$ ).

Рис. 5.1 - Динаміка сироваткового рівня гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну у вагітних жінок з анамнестичними ембріональними втратами та порушеннями фолатного обміну на фоні проведення профілактичної терапії (12-15 тижнів вагітності),  $n=60$ .

Парадоксальність наведеного вище результату полягає у тому, що зменшення метіоніну у першій групі дослідження збіглося із зростанням сироваткового рівня гомоцистеїну. Напроти, збільшення концентрації метіоніну у пацієток II клінічної групи було паралельно зниженню концентрації гомоцистеїну.

Пояснення виявленого парадоксу можливо було пов'язано з тим, що бетаїн є донором метильної групи. Володіючи трьома метильними групами,

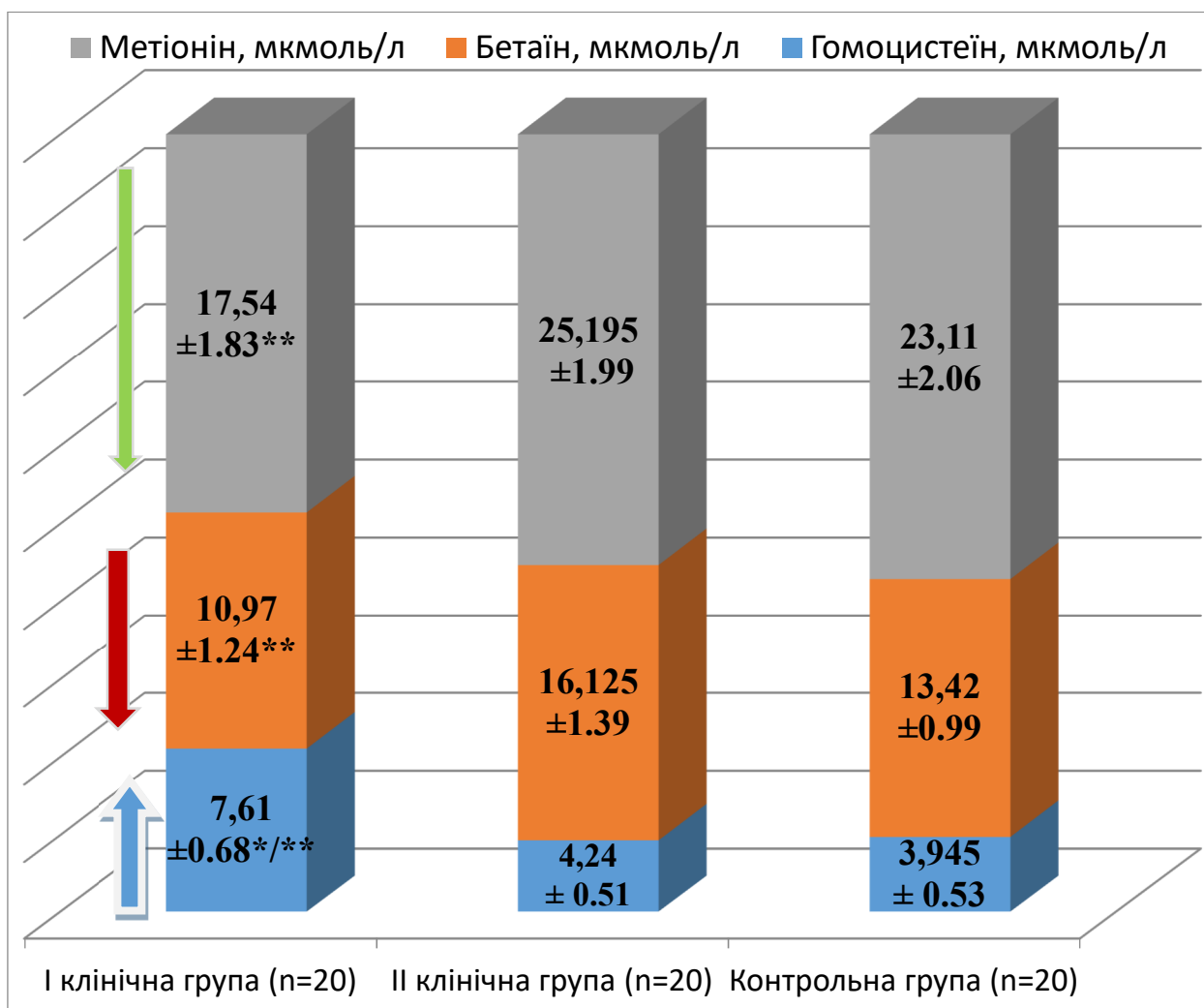
бетаїн ділиться ними з іншими біоактивними субстанціями. Іншими дослідниками було встановлено, що саме таким чином бетаїн може нейтралізувати гомоцистеїн, шляхом перетворення його в іншу амінокислоту – метіонін [54].

У третьому триместрі вагітності (28-32 тижня) сироваткова концентрація гомоцистеїну мала аналогічну динаміку дослідження, що було проведено у першому триместрі вагітності, проте статистично значуща ( $p < 0,05$ ) гіпергомоцистеїнемія у вагітних жінок I клінічної групи ( $7,61 \pm 0,68$  мкмоль/л) була виразніша не лише щодо контрольної групи ( $3,945 \pm 0,53$  мкмоль/л), але й стосовно пацієток II клінічної групи ( $4,24 \pm 0,51$  мкмоль/л), які отримували комбінований препарат що містив фолієву кислоту та L-метилфолат (рис 5.2).

Хотілося б зазначити, що показники рівня гомоцистеїну у вагітних жінок із анамнестичними ембріональними втратами та порушенням фолатного метаболізму, які попередньо отримували монопрофілактику фолієвою кислотою, були вищими за аналогічний показник у вказаній групі наприкінці першого триместру.

Подібне припущення також знаходило підтримку при оцінці інтегральних показників метаболізму фолатів у третьому триместрі на фоні призначення профілактичного лікування, яке було розпочато напередодні вагітності та тривало протягом першого триместру.

Статистично значуще вищий ( $p < 0,05$ ) результат у пацієток пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів з II групи проспективного дослідження по сироватковій концентрації рівня бетаїну ( $16,125 \pm 1,39$  мкмоль/л) щодо показників вагітних жінок з першої клінічної групи ( $10,97 \pm 1,24$  мкмоль/л), безпосередньо підтверджує нашу гіпотезу стосовно механізму нейтралізації гомоцистеїну бетаїном. Рівень бетаїну у вагітних жінок із фізіологічним перебігом гестації становив  $13,42 \pm 0,99$  мкмоль/л, у середньому.



Примітка. \* - достовірні відмінності щодо контрольної групи проспективного дослідження ( $p < 0,05$ ); \*\* - достовірні відмінності між групами проспективного дослідження ( $p < 0,05$ ).

Рис. 5.2 - Динаміка сироваткового рівня гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну у жінок вагітних жінок із анамнестичними ембріональними втратами на фоні проведення профілактичної терапії (28-32 тижнів вагітності),  $n=60$ .

У той час подібна відмінність між двома клінічними групами вагітних жінок із анамнестичними ембріональними втратами та порушенням обміну фолатів, зберігалася й відносно показника рівня метіоніну у сироватці крові. Була приведена позитивна динаміка ( $p < 0,05$ ) рівня метіоніну у вагітних пацієнок II клінічної групи ( $25,195 \pm 1,99$  мкмоль/л) порівняно із сироватковими показниками у обстежених жінок з першої групи ( $17,54 \pm 1,83$  мкмоль/л) проспективного порівняльного дослідження. До того ж зниження

рівня метіоніну у жінок із ПФМ з першої групи дослідження зберігало достовірність ( $p < 0,05$ ) й відносно аналогічних показників у обстежених жінок із фізіологічним перебігом вагітності –  $23,11 \pm 2,06$  мкмоль/л. Метіонін потім може бути трансформований в S-денозилметіонін, який в організмі людини виступає в якості донора метильних груп для більш ніж 200 різних метаболічних реакцій [159].

### **5.3 Оцінка клінічної ефективності використання профілактичного лікування у вагітних із порушенням метаболізму фолатів, які мали попередні репродуктивні втрати**

Оцінка клінічного результату вагітності та особливості перебігу пологів були простежені у всіх пацієток основної групи та пацієток групи контролю (100,0%). У першому триместрі провідними проблемами гестації у обстежених вагітних найчастіше були загрозливий викидень, самовільний викидень та викидень, що не відбувся, а також надмірне блювання вагітних (табл.5.2).

Не дивлячись на призначення профілактичної терапії із використанням фолатів, в першому триместрі, відзначався достатньо вагомий відсоток втрат вагітності у жінок I клінічної групи – 35,5%, тоді як аналогічний показник у пацієток, які отримували препарат, що містив L-метилфолат, становив 12,7%. Відношення ризиків (ВР) по втратах вагітності у I триместрі був 2,44, 95% ДІ [1,08-5,53],  $p=0,03$ . При проведенні більш детального аналізу було встановлено, що більша частка ранніх втрат вагітності складалася із завмерлої вагітності (22,2% у I групі та 9,1% - у II), ВР 2,44, 95% ДІ [0,90-6,64],  $p=0,08$  та випадків самовільного викидня (8,9% у I групі та 3,6% - у II), ВР – 2,44, 95% ДІ [0,47-12,74],  $p=0,29$ , тобто отримані результати були не достовірними між вагітними жінками, які отримували у якості профілактичної терапії фолати.

Таблиця 5.2 - Ускладнення вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного обміну та ранніми втратами вагітності в анамнезі, у I триместрі, n=140

Групи дослідження	I клінічна група (n=45)	II клінічна група (n=55)	Порівняння між I та II групами, p	Контрольна група, n=40
Патологія вагітності				
Загрозливий викидень, (n/%)	12 / 26,7	8 / 16,0	0,14	2 / 5,0
Утворення ретрохоріальних та ретроамніотичних гематом, (n/%)	5 / 11,1	2 / 3,6	0,17	0
Самовільний викидень, (n/%)	4 / 8,9	2 / 3,6	0,29	0
Викидень що не відбувся, (n/%)	10 / 22,2	5 / 9,1	0,08	0
Надмірне блювання вагітних, (n/%)	10 / 22,2	6 / 10,9	0,14	2 / 5,0
Анемія вагітних, (n/%)	25 / 55,5	16 / 29,1	0,009	6 / 15,0

Примітка 1. % - відсоток до конкретної клінічної групи вагітних, задіяних у дослідженні.

Примітка 2. Порівняння груп по частоті випадку здійснювали за допомогою точного тесту Фішера (двобічний критерій).

У жінок пізнього репродуктивного віку і з порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі, які отримували профілактичну терапію, також відзначались випадки загрозливого викидня, що у більшості проявлялись мажучими кров'яними виділеннями з статевих шляхів у 12 пацієток з I клінічної групи (26,7%) та у 8 вагітних (16,0%), з другої групи, ВР 1,83, 95% ДІ [0,82-4,09], p=0,14, тоді, як у вагітних жінок загроза переривання вагітності була діагностована у 2 випадках (5,0%). Утворення ретрохоріальних та ретроамніотичних гематом було відзначено у 5 жінок з I клінічної групи (11,1%) та у 2 (3,6%) - з другої, ВР 3,06, 95% ДІ [0,62-15,01], p=0,17.

10 випадків надмірної блювоти вагітних (НБВ) при використанні фолієвої кислоти у дозі 400 мкг на добу, за 8 тижнів до планування вагітності та 6 – у пацієток із порушенням фолатного метаболізму, які у той же самий термін отримували препарат, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу (ВР 2,04, 95% ДІ [0,80-5,17],  $p=0,14$ ), проте й цей результат також не мав статистичної вірогідності.

Відносно випадків анемії, то нами було встановлено, що у 25 жінок із І клінічної групи (55,5%) та 16 пацієток (29,1%) було діагностовано безсимптомне зниження показників гемоглобіну менше за 110 г/л, ВР 1,91, 95% ДІ [1,17-3,11],  $p=0,009$ .

Таким чином, достовірна різниця між випадками акушерської патології у першому триместрі у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні, які отримували у якості профілактичної терапії фолати, майже не спостерігалася, за виключенням поєданого показника по втратах вагітності ВР 2,44, 95% ДІ [1,08-5,53],  $p=0,03$  та анемії ВР 1,91, 95% ДІ [1,17-3,11],  $p=0,009$  незалежного від виду профілактичної терапії, що була розпочата на прегравідарному етапі.

Аналіз розвитку перинатальної патології у другому та третьому триместрах вагітності (загрозливі передчасні пологи, прееклампсія (ПЕ), плацентарна дисфункція, синдром затримки розвитку плода (СЗРП), перинатальні втрати (ПВ) представлений у таблиці 5.3.

Хотілося б зазначити, що кількість випадків анемії була достовірно вищою у вагітних жінок з І групи дослідження (48,4%) порівняно із пацієтками ІІ клінічної групи (12,5%), ВР 3,87, 95% ДІ [1,68-8,90],  $p=0,001$ .

При аналізі гестаційних ускладнень у другому та третьому триместрах вагітності у клінічних групах у пацієток пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами, на фоні прийому препаратів, призначених в якості профілактичної терапії, було виявлено недостовірне переважання випадків загрози передчасних пологів у пацієток з ІІ клінічної

групи 7 (14,6%) проти 4 (12,9%) серед вагітних жінок I клінічної групи ВР 0,88, 95% ДІ [0,28-2,77],  $p=0,83$ .

Таблиця 5.3 - Ускладнення вагітності у вагітних пацієнток із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням метаболізму фолатів у II та III триместрах,  $n=119$

Групи дослідження	I клінічна група ( $n=31$ )	II клінічна група ( $n=48$ )	Порівняння I та II груп, $p$	Контрольна група, $n=40$
Перинатальна патологія				
Загрозливі передчасні пологи, (n/%)	4 / 12,9	7 / 14,6	0,83	0
Прееклампсія, (n/%)	9 / 29,0	3 / 6,2	0,014	0
Анемія, (n/%)	15 / 48,4	6 / 12,5	0,001	
Плацентарна дисфункція, (n/%)	16 / 51,6	5 / 10,4	0,0005	0
Патологія розвитку та локалізації плаценти, (n/%)	6 / 19,3	2 / 4,2	0,0499	0
Синдром затримки розвитку плода, (n/%)	6 / 19,3	2 / 4,2	0,0499	0
Аntenатальна загибель плода, (n/%)	3 / 9,7	0	-	0
Вади розвитку плода, (n/%)	3 / 9,7	0	-	0

Примітка 1. % - відсоток до конкретної клінічної групи вагітних, задіяних у дослідженні.

Примітка 2. Порівняння груп по частоті випадку здійснювали за допомогою точного тесту Фішера (двобічний критерій).

Відношення ризиків з розвитку випадків ранньої та пізньої прееклампсії у II та III триместрах, в залежності від виду патогенетичної профілактики при порушенні фолатного метаболізму, становило 4,64, 95% ДІ [1,36-15,83],  $P=0,014$ . Наведений результат може свідчити про більш клінічно-ефективну профілактику комбінованого препарату що містив фолієву кислоту та 5-

метилтетрагідрофолат, порівняно із прийомом вагітними жінками лише препаратів синтетичної фолієвої кислоти.

На підтвердження наведеного вище припущення свідчило і достовірне збільшення випадків плацентарної дисфункції у вагітних пацієнок з I клінічної групи (51,6%) проти аналогічного результату у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів другої групи (10,4%), ВР 4,95, 95% ДІ [2,02-12,15],  $P=0,0005$ . До того слід додати, що кількість випадків патології розвитку посліду (гіпер- або гіпоплазія, кіста плаценти, патологія прикріплення пуповини) та локалізації плаценти (передлежання, низьке розташування) складало відповідно по I та II клінічній груп 6 (19,3%) та 2 (4,2%), ВР 4,64, 95% ДІ [1,00-21,57],  $p=0,0499$ . Аналогічний показник був визначений за випадками діагностики синдрому затримки розвитку плода порівняно між клінічними групами нашого проспективного дослідження у вагітних пацієнок із попередніми ембріональними втратами.

Хотілося б відзначити, що випадки антенатальної загибелі плода були виявлені лише у пацієнок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі першої клінічної групи (9,7%). Також були візуалізовані вади розвитку серцево-судинної системи у 3 плодів (9,7%) пацієнок першої клінічної групи.

Таким чином, у II та III триместрах вагітності спостерігались більш достовірні клінічні зміни у клінічних групах проспективного порівняльного дослідження. Зокрема відзначалось статистично значуще зменшення випадків плацентарного синдрому у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні, які отримували у якості профілактичної терапії комбінований препарат, що містив фолієву кислоту 200 мкг та 5-метилтетрагідрофолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу.

Тому наступним етапом нашого клінічного дослідження став аналіз порушення функціональності плаценти на підставі лабораторних та сонографічних критеріїв (кількості навколоплідних вод, плацентометрії,



порушень матково-плацентарного та плодово-плацентарного кровоплину за показниками доплерометрії) (табл. 5.4).

Таблиця 5.4 - Функціональні властивості плаценти у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами, n=119

Групи дослідження	I клінічна група (n=30)	II клінічна група (n=40)	Порівняння I та II груп, p
Функціональність плаценти			
Зниження рівня плацентарних гормонів, (n/%)	12 / 40,0	5 / 12,5	0,014
Порушення кровоплину у артерії пуповини, (n/%)	8 / 26,7	4 / 10,0	0,08
Передчасне визрівання плаценти, (n/%)	16 / 53,3	10 / 25,0	0,02

Примітка 1. % - відсоток до конкретної клінічної групи вагітних, задіяних у дослідженні.

Примітка 2. Порівняння груп по частоті випадку здійснювали за допомогою точного тесту Фішера (двобічний критерій).

У пацієнок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням фолатного метаболізму з I клінічної групи, на фоні профілактичної терапії фолієвої кислоти 400 мкг на добу, визначалось статистично значуще зниження гормонсинтезуючої функції плаценти, відносно вагітних пацієнок, які отримували комбінований препарат 400 мкг на добу, що містив фолієву кислоту та L-метилфолат, ВР 3,20, 95% ДІ [1,26-8,11],  $p=0,014$ . За результатами доплерометричного дослідження у артерії пуповини ми визначали зменшення випадків порушення гемодинамічного забезпечення гестаційного процесу у вагітних жінок II клінічної групи із попередніми втратами вагітності у ранньому терміні гестації, проти аналогічних результатів у пацієнок з першої групи проспективного дослідження, ВР 2,67, 95% ДІ [0,885-8,035],  $p=0,08$ , хоча й зазначена відмінність не мала статистичної достовірності.

Також за допомогою використаного нами статистичного методу нами було встановлено достовірне зменшення випадків передчасного дозрівання

плаценти у вагітних пацієнток з другої клінічної групи, порівняно із обстеженими жінками з I групи ВР 2,13, 95% ДІ [1,13-4,02],  $p=0,02$ .

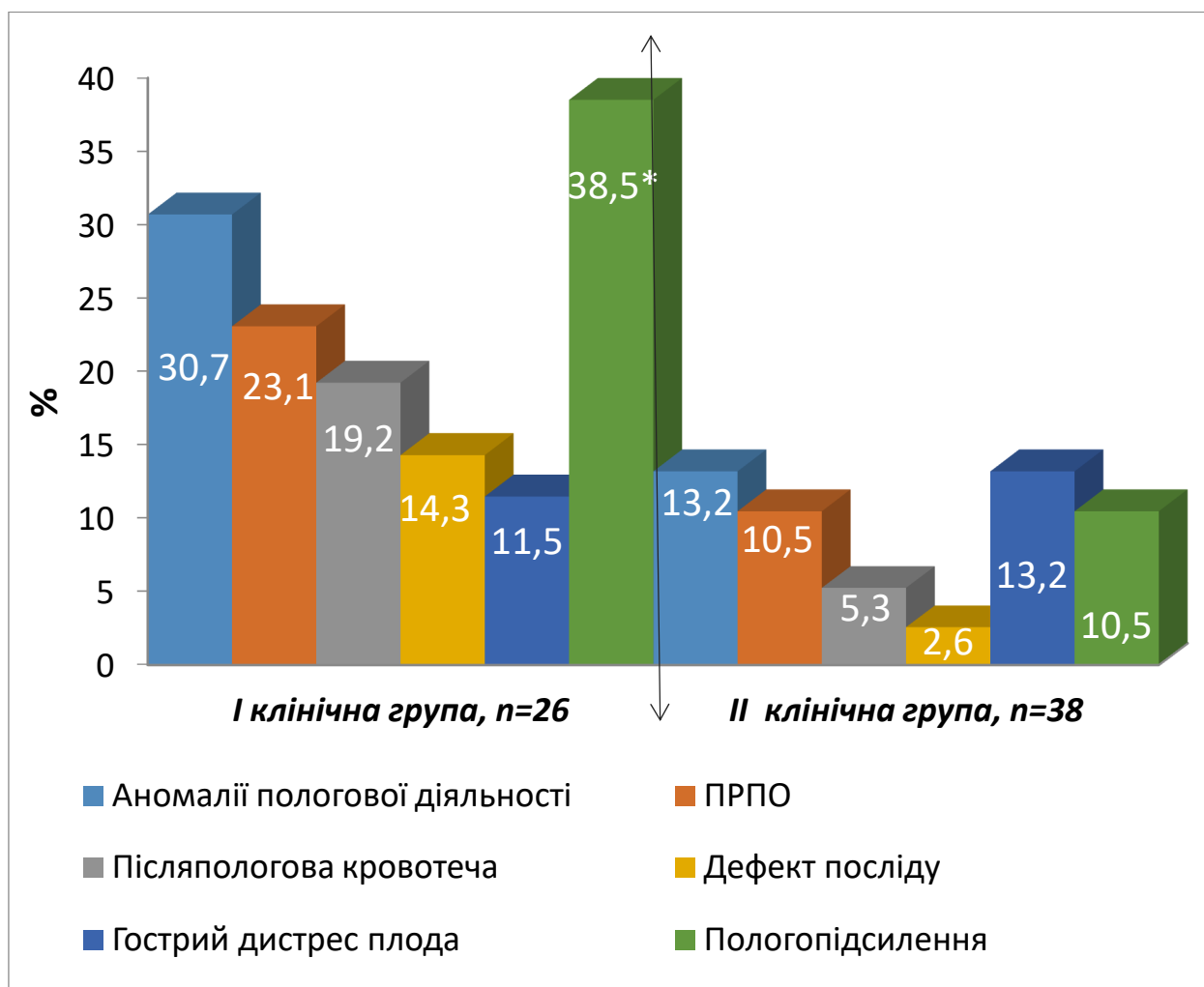
Таким чином, у II та III триместрах вагітності у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами першої клінічної групи спостерігалось достовірне збільшення випадків порушення функціональності плаценти за випадками зниження рівня плацентарних гормонів ( $p=0,014$ ) та передчасного дозрівання плаценти ( $p=0,02$ ), порівняно із пацієнтками із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та із порушенням фолатного метаболізму у другій групі.

Перебіг пологів та післяпологового періоду було проаналізовано нами у 26 проспективно обстежених жінок першої клінічної групи та у 38 – із II клінічної групи, які отримували профілактичну медикаментозну терапію фолатами 8 тижнів у прекоцепційному періоді та протягом 12 тижнів вагітності (рис.5.3).

У пацієнток з груп клінічного дослідження та контрольної групи всі вагітності закінчились терміновими пологами. Проте у I групі, в якій вагітні отримували фолієву кислоту у якості профілактичного лікування, 3 пологів завершилися кесаревим розтином (11,5%), тоді, як у другій групі оперативне розродження було зазначено у 5 випадках (13,2%).

Аномалії пологової діяльності найбільш часто стосувалися випадків первинної слабкості, мали місце у 8 породіль з I клінічної групи (30,7%) та у 5 – з другої (13,2%), ВР 2,28, 95% ДІ [0,84-6,18],  $p=0,11$ . Також не відзначалося статистично значуща відмінності між групами клінічного дослідження за випадками ПРПО 23,1% та 10,5% для обстежених жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами та ПФМ у I та II групах, відповідно, ВР 2,19, 95% ДІ [0,685-7,01],  $p=0,19$ . Пологопосилення використовували у 10 роділь (38,5%) які напередодні вагітності та протягом I триместру гестації отримували 400 мкг фолієвої кислоти щодоби, та у 4 (10,5%), які у зазначений вище час приймали комбінований препарат, що

містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу, ВР 3,65, 95% ДІ [1,28-10,41],  $p=0,015$ .



Примітка. ПРПО – передчасний розрив плідних оболонок; \* - достовірні відмінності ( $p<0,05$ ) між групами проспективного дослідження визначені за допомогою точного тесту Фішера (двобічний критерій).

Рис. 5.3 - Структура ускладнень під час пологів із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів,  $n=64$ .

Гострий дистрес плода в пологах був діагностований нами у 11,5% роділь першої клінічної групи та у 13,2% пацієток із другої групи із порушенням фолатного метаболізму, які отримували 5-метилтетрагідрофолат відповідно, ВР 0,88, 95% ДІ [0,23-3,35],  $p=0,85$ .

Кровотеча переважно виникала у ранньому післяпологовому періоді у 5 породіль (19,2%) у I клінічній групі та у 2 – з другої (5,3%), ВР 3,65, 95% ДІ

[0,77-17,42],  $p=0,10$ . Причиною кровотечі у жінок із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням обміну фолатів найчастіше виявлявся дефект посліду. Дефект посліду визначався у 4 випадках (14,3%) у першій групі та у 1 породіллі з II групи (2,6%), ВР 5,85, 95% ДІ [0,69-49,38],  $p=0,105$ .

Від вагітних, які були задіяні у нашому проспективному дослідженні, народилося 64 дітей. Співвідношення хлопчиків і дівчаток було приблизно однаковим у всіх групах дослідження. Зріст новонароджених, у середньому, серед пацієток I клінічної групи складав  $48,11 \pm 1,18$  см, тоді, як у породіль пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів II групи вищеприведений показник був  $48,82 \pm 1,33$  см. Проте статистично вірогідна відмінність за ростом новонародженого між клінічними групами та аналогічного показника у контрольній групі вагітних була відсутня ( $p>0,05$ ). У немовлят від жінок із фізіологічним перебігом вагітності (контрольна група) зріст складав  $49,85 \pm 1,70$  см у середньому (табл.5.5).

Вага новонароджених, у середньому, від пацієток першої групи (профілактична терапія із використанням фолієвої кислоти), становила у середньому  $3322,31 \pm 356,0$  г, у немовлят, народжених пацієтками, які отримували комбінований препарат, що містив фолієву кислоту та L-метилфолат (II клінічна група), маса тіла становила  $3512,89 \pm 272,0$  г. Статистично вірогідна відмінність від аналогічного показника у контрольній групі вагітних не спостерігалась ( $p>0,05$ ). Вага дітей у жінок контрольної групи (фізіологічний перебіг гестаційного процесу) була  $3710,50 \pm 141,6$  г.

Усі немовляти від жінок з контрольної групи народилися в задовільному стані, на 1 хвилині стан новородженого за шкалою APGAR був  $7,95 \pm 0,22$  балів, на п'ятій хвилині -  $9,1 \pm 0,54$  балів, відповідно. Статистична вірогідність не була винайдена ( $p>0,05$ ) й при аналізі стану новонародженого, між групами клінічного проспективного дослідження. Так, стан немовляти за шкалою APGAR на 1 хвилині становив, у середньому,  $7,08 \pm 0,56$  балів та  $7,53 \pm 0,60$  балів, для I та II групи, відповідно. На п'ятій хвилині стан дитини за шкалою

APGAR для I та II групи жінок із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням фолатного обміну був  $8,23 \pm 0,65$  балів та  $8,63 \pm 0,68$  балів, відповідно.

Таблиця 5.5 - Стан новонародженого після пологів у жінок пізнього репродуктивного віку із попередньою ембріональною втратою та порушенням метаболізму фолатів, n=104 ( $M \pm \sigma$ )

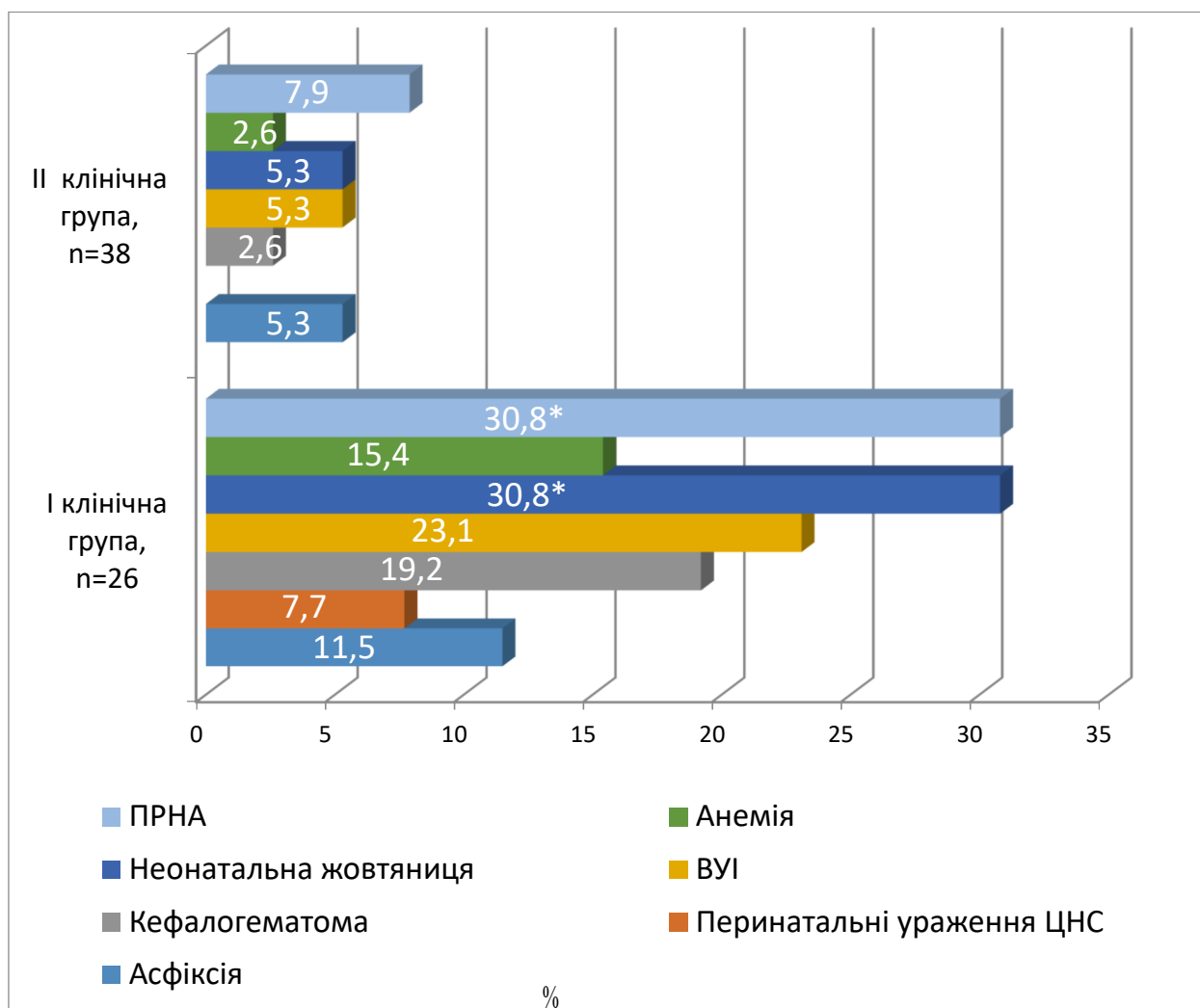
Групи дослідження	I клінічна група (n=26)	II клінічна група (n=38)	Контрольна група (n=40)
Стан новонародженого			
Зріст новонародженого, см	$48,12 \pm 1,18$	$48,82 \pm 1,33$	$49,85 \pm 1,70$
Вага новонародженого, г	$3322,31 \pm 356,0$	$3512,89 \pm 272,0$	$3710,50 \pm 141,6$
Оцінка стану новонародженого за шкалою ARGAR на 1 хв., бал.	$7,08 \pm 0,56$	$7,53 \pm 0,60$	$7,95 \pm 0,22$
Оцінка стану новонародженого за шкалою ARGAR, на 5 хв., бал.	$8,23 \pm 0,65$	$8,63 \pm 0,68$	$9,1 \pm 0,54$

Більш детальна інформація відносно ранньої неонатальної патології, що була діагностовано одразу після пологів, представлена на рисунку 5.6.

У першій клінічній групі 3 немовлят (11,5%) мала легку ступінь асфіксії при народженні 6 балів, тоді, як у другій групі легка асфіксія новонародженого була встановлена у 2 дітей (5,3%), ВР 2,19, 95% ДІ [0,39-12,22], p=0,37.

При аналізі випадків перинатальних уражень ЦНС, переважно гіпоксичного генезу, ми відзначили, що подібне ускладнення спостерігалось лише у 2 немовлят (7,7%) народжених від жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та ПФМ з першої

клінічної групи. У новонароджених від пацієток другої клінічної групи, так само, як і в контрольній групі, ураження ЦНС не були діагностовані.



Примітка. ПРПО – передчасний розрив плідних оболонок; \* - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) між групами проспективного дослідження визначені за допомогою точного тесту Фішера (двосторонній критерій).

Рис. 5.6 - Структура неонатальних ускладнень немовлят після пологів від жінок із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні порушенням фолатного метаболізму, n=64.

Досить цікавим виявився результат стосовно порушень ранньої неонатальної адаптації, які були діагностовано у 8 немовлят (30,8%) від

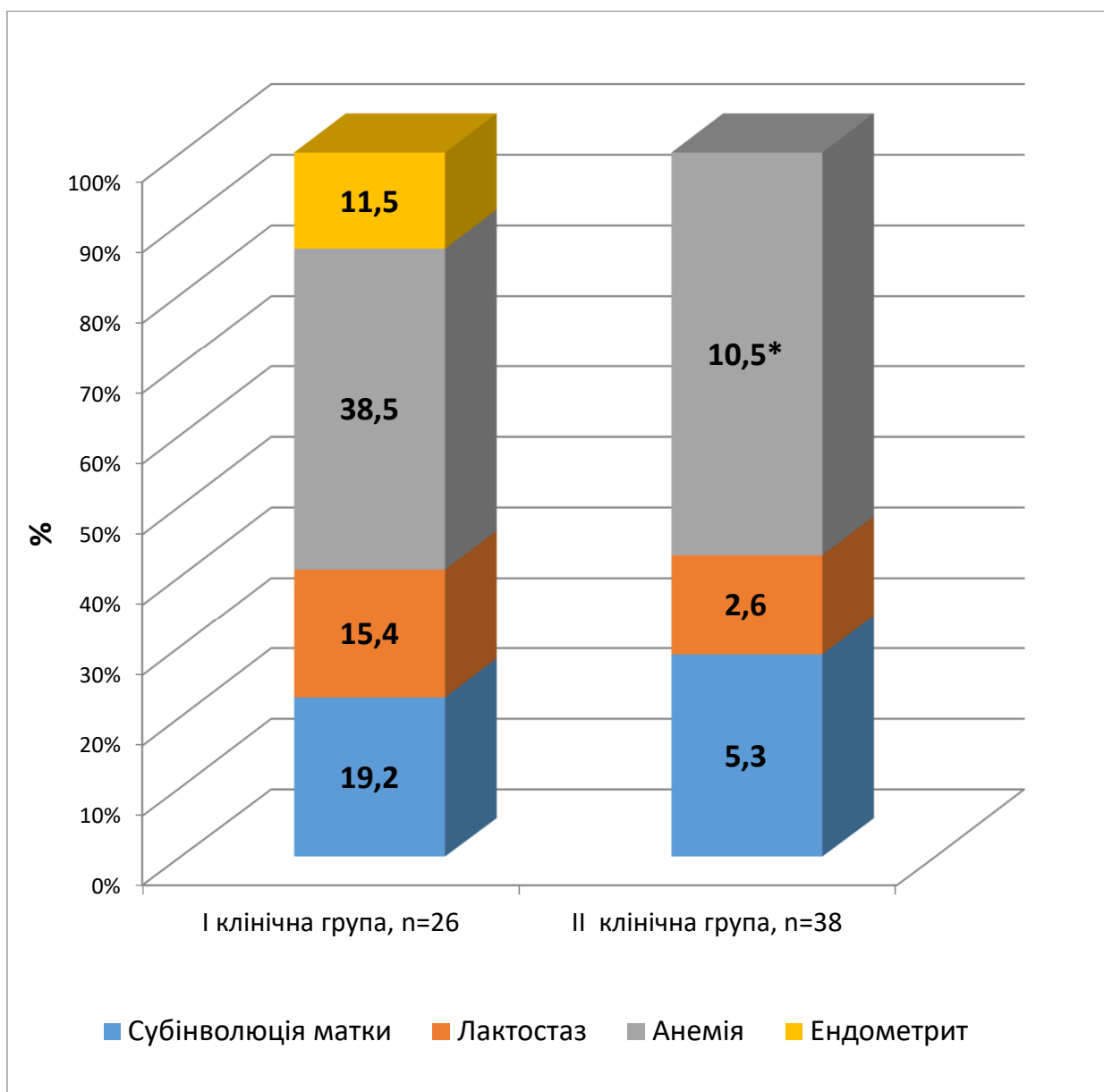
матерів, що мали порушення обміну фолатів із першої клінічної групи та у 3 (7,9%) – з II групи, ВР 3,90, 95% ДІ [1,14-13,33],  $p=0,03$ .

Кефалогематоми були виявлені у двох клінічних групах нашого проспективного дослідження, крім контрольної групи, найбільша їх кількість припадала на новонароджених, матері яких мали порушення метаболізму фолатів та були зараховані до першої групи – 5 (19,2%), проти 1 випадку (2,6%) у II групі, ВР 7,31, 95% ДІ [0,905-58,98],  $p=0,06$ . Нами було виявлено майже достовірно меншу кількість випадків внутрішньоутробної інфекції новонароджених дітей у другій клінічній групі (5,3%) щодо першої групи (23,1%), ВР 4,39, 95% ДІ [0,96-20,06],  $p=0,057$ . Також хотілося б відзначити достовірно більшу частку випадків неонатальної жовтяниці у немовлят народжених від пацієток пізнього репродуктивного віку із попередньою ембріональною втратою із I клінічної групи, ВР 5,85, 95% ДІ [1,35-25,35],  $p=0,018$ . Кількість анемій у новонароджених мала тенденцію подібно до приведеного вище результату (15,4% та 2,6%, для представників I та II груп, відповідно), ВР 5,85, 95% ДІ [0,69-49,38],  $p=0,11$ , лише відрізняючись ступенем вірогідності.

Тобто, у клінічній групі, де жінки приймали комбінований препарат, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу, відзначалося достовірне зменшення випадків порушення ранньої неонатальної адаптації ( $p=0,03$ ) та неонатальної жовтяниці ( $p=0,018$ ), порівняно із аналогічним результатом при прийомі, у якості профілактичного лікування, фолієвої кислоти 400 мкг на добу, відповідно.

При подальшому аналізі нами було визначено, що перебіг післяпологового періоду у пацієток пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням метаболізму фолатів, які отримували профілактичне лікування із використанням фолієвої кислоти або 5-метилтетрагідрофолату прегравідарно та у першому триместрі вагітності, у більшості випадків проходив без будь-

яких серйозних проблем. Структура післяпологових ускладнень зображена на рисунку 5.7.



Примітка. \* - достовірні відмінності ( $p < 0,05$ ) між групами проспективного дослідження визначені за допомогою точного тесту Фішера (двобічний критерій)

Рис. 5.7 - Особливості перебігу післяпологового періоду у роділь пізнього репродуктивного віку із попередньою ембріональною втратою, n=64.

Порушення післяпологової інволюції матки найчастіше зустрічалось у породіль з першої клінічної групи, які отримували курсовий цикл прийому фолієвої кислоти, порівняно із тими пацієнтками із порушенням фолатного



метаболізму, які отримували комбінований препарат (фолієва кислота та L-метилфолат) хоча отримані результати не були достовірними, ВР 3,65, 95% ДІ [0,77-17,425],  $p=0,10$ .

Післяпологовим ендометритом ускладнився пуерперальний період у 3 породіль (11,5%) із I клінічної групи. Лактостаз був діагностований у 4 пацієток (15,4%) з першої та 1 (2,6%) з другої груп проспективного клінічного дослідження із порушенням метаболізму фолатів, ВР 5,85, 95% ДІ [0,69-49,38],  $p=0,11$ .

Нарешті випадки анемії мали місце у 10 породіль (38,5%) пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів з I групи дослідження та у 4 з другої (10,5%), ВР 3,65, 95% ДІ [1,28-10,41],  $p=0,015$ .

Не було відмічено випадків тромботичних ускладнень у післяпологовому періоді серед обстежених пацієток.

### **Резюме**

Таким чином, при аналізі клінічного перебігу вагітності та пологів у пацієток пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням фолатного метаболізму, на фоні призначеної профілактичної терапії було встановлено більш позитивний ефект призначення комбінованого препарату, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу проти моно призначення фолієвої кислоти 400 мкг на добу. Вказаний клінічний ефект полягав насамперед у достовірному зменшенні випадків ранніх втрат вагітності ( $p=0,03$ ), анемії вагітних у I триместрі ( $p=0,009$ ), прееклампсії ( $p=0,014$ ), анемії у II та III триместрах вагітності ( $p=0,001$ ), плацентарної дисфункції ( $p=0,0005$ ), зниження рівня плацентарних гормонів ( $p=0,014$ ), патології розвитку та локалізації плаценти ( $p=0,0499$ ), синдром затримки розвитку плода ( $p=0,0499$ ), передчасного визрівання плаценти ( $p=0,02$ ), полог підсилення ( $p=0,015$ ), порушення ранньої неонатальної адаптації ( $p=0,03$ ), неонатальної жовтяниці ( $p=0,018$ ), післяпологової анемії ( $p=0,015$ ).

Крім того, при проведенні рекомендованого превентивного лікування, не було відзначено жодного випадку побічної дії вказаних вище препаратів з боку інших органів та систем.

При прийомі пацієнтками із ембріональними втратами в анамнезі на догравідарному етапі та протягом I триместру комбінованого препарату що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу спостерігалось достовірне зменшення випадків ізольованих змін естріолу ( $p=0,0011$ ) та  $\beta$ -ХГЛ ( $p=0,015$ ), у порівнянні із вагітними пацієнтками пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та генетичним поліморфізмом MTHFR C677T, які отримували у зазначені вище терміни фолієву кислоту 400 мкг на добу.

При дослідженні ефективності профілактичної терапії за динамікою маркерів функціональності фолатного метаболізму у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами та ПФМ було встановлені результати, що підтвердили ефективність використання фолатів у групах клінічного дослідження. Проте, більш кращий результат був притаманний у жінок II клінічної групи, які використовували комбінований препарат, що містив фолієву кислоту та 5-метилтетрагідрофолат. Наприкінці першого – початку другого триместру відзначалась достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) між аналогічним результатом за рівнями бетаїну та метіоніну, тоді як у III триместрі була діагностовано позитивна статистично-значуща відмінність ( $p < 0,05$ ) за підвищенням рівнів метіоніну, бетаїну та відповідного зниження рівня гомоцистеїну.

Результати даного розділу висвітлені та опубліковані [49].

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

У сучасному клінічному акушерстві намітилася тенденція до використання універсальних підходів до профілактики невиношування вагітності у ранньому терміні із урахуванням рекомендацій, що відображені у базах доказової медицини [18, 61, 82, 138, 218, 236]. Також слід враховувати, що в процесі метаболізму фолатів важливу роль відіграє поліморфізм *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. В організмі кожної другої жінки через обмежену активність ферментів ФК не може повністю перетворитися в біологічно активну форму - 5-метилтетрагідрофолат (5-MTHF).

Профілактика та лікування ранніх втрат вагітності із урахуванням поліморфізму генів ензимів, що контролюють фолатний метаболізм, стали метою клінічних досліджень в останні роки, а визначення факторів ризику для пацієнток пізнього репродуктивного віку та ембріональними втратами в анамнезі стає критичним для розробки ефективних превентивних заходів для запобігання невиношування та ВВР плода [26, 32, 37, 46, 48, 78].

Суперечливість отриманих попередньо результатів клінічних досліджень відносно взаємозв'язку порушення метаболізму фолатів та ембріональних втрат, обґрунтовує необхідність пошуку чинників, які сприяють або запобігають розвитку невиношування вагітності у ранньому терміні та формуванню перинатальної патології у пацієнток із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR* в асоціації із ембріональними втратами, з метою максимальної оптимізації ранньої доклінічної діагностики та адекватної профілактичної терапії у вказаної вище категорії пацієнток.

У зв'язку з цим, метою дослідження стало знизити частоту ранніх втрат вагітності та перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів на основі удосконалення клініко-діагностичних підходів та оптимізації профілактичних заходів.

За основу проспективного клінічного дослідження був використаний багатокомпонентний патогенетично обґрунтований підхід до ранньої доклінічної діагностики ризику виникнення ранніх репродуктивних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* які мали втрати вагітності в анамнезі. Наведений вище підхід був заснований на одночасному застосуванні методик інструментального та комплексного лабораторно-діагностичного моніторингу особливостей метаболізму фолатів та визначення їх значимості у патогенезі антенатальної захворюваності.

На першому етапі нашого клінічного дослідження ми проаналізували соціальний, соматичний, гінекологічний та акушерський анамнези жінок пізнього репродуктивного віку з порушенням фолатного метаболізму. До основної клінічної групи проспективного дослідження були зараховані 100 пацієнток пізнього репродуктивного віку із поліморфізмами *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR*. До другої групи ми віднесли 40 репродуктивно-здорових вагітних (без попередніх втрат вагітності) пізнього репродуктивного віку із фізіологічним перебігом гестації, клініко-лабораторні показники яких слугували контролем для порівняння даних обстеження вагітних жінок із основної групи.

Перевірка критеріїв зарахування та відрахування, а також підписання інформованої згоди на участь у дослідженні здійснювалися при першому відвідуванні пацієнтки.

***Критерії включення пацієнток у проспективне дослідження:***

- Жінки які мали анамнестичні ембріональні втрати.
- Жінки які мали порушення метаболізму фолатів.
- Вік від 35 до 42 років.
- Одноплодова вагітність.
- Відсутність наявної соматичної патології.
- Бажання та можливість брати участь у дослідженні.
- Етнічна однорідність.

***Критерії невключення пацієнток у проспективне дослідження:***

- Будь-які клінічно значущі стани, які, на думку дослідника, могли вплинути на безпеку пацієнта, результати оцінок, проведених в рамках дослідження, або порушити процес проведення дослідження.

- Наявні в даний час захворювання або стани, які могли вплинути на інтерпретацію даних з безпеки та ефективності досліджуваної терапії або які є протипоказаннями до неї:

ознаки кровотечі або підвищений ризик кровотечі, пов'язаний з порушенням гемостазу;

органічні ураження зі схильністю до кровоточивості (наприклад, гостра виразка шлунка або дванадцятипалої кишки).

- Гострі інфекційні захворювання бактеріальної етіології.
- Гострі запальні захворювання під час вагітності.
- Алергічні реакції на фолієву кислоту та інші компоненти превентивної терапії.

Відрахування пацієнток із дослідження здійснювалося при порушенні правил використання препаратів та у зв'язку із неможливістю здійснювати необхідні обстеження відповідно із завданням нашого проспективного дослідження.

Використані для обстеження жінок та новонароджених методи є безпечними, достатньо інформативними для об'єктивної оцінки функціонального стану різних органів і систем. Обстеження всіх пацієнтів проведено за однаковими методами та з використанням одних і тих же апаратів, що виключає вплив можливої помилки, характерної для будь-якого неінвазивного методу дослідження, на достовірність результатів обстеження.

У вагітних жінок пізнього репродуктивного віку, із анамнестичними ембріональними втратами, частіше виявлялися генетично-детерміновані порушення обміну фолатів, асоційовані з носійством мінорної алелі *T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. Найбільш виразний дефіцит фолієвої кислоти формується у вагітних жінок - гомозиготних носіїв генотипу

*T/T*. Однак, слід брати до уваги, що й носійство генотипу *C/T* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* також асоціюється зі значимим зниженням рівня фолієвої кислоти в сироватці крові у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з попередніми ембріональними втратами. Носійство генотипу *C/C* не асоціювалось з статистично значущим дефіцитом фолієвої кислоти в сироватці крові у ранньому терміні вагітності, що однак не виключає можливості порушення фолатного обміну у подальших термінах вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку. Для поліморфізму *rs1805087 (2756 A>G)* гена *MTR* не було виявлено достовірних відмінностей в частоті алелей та генотипів (*A, G, A/A, A/G* та *G/G*) у жінок пізнього репродуктивного віку із ранніми втратами вагітності в анамнезі. Статистично значущих відмінностей в частоті генотипів в досліджуваних групах також виявлено не було [47].

Особливості анамнестичних даних, гінекологічної та екстрагенітальної захворюваності, перебігу попередньої вагітності, пологів та післяпологового періоду доводили закономірність визнання порушення метаболізму фолатів у жінок пізнього репродуктивного віку важливим критерієм ризику по виникненню перинатальної патології.

Зазначені вище порушення обміну фолатів, мали асоційований зв'язок із достовірним збільшенням, в анамнезі, випадків дитячої захворюваності ( $p=0,0003$ ), захворювань серцево-судинної системи ( $p=0,002$ ), хронічних захворювань ШКТ ( $p=0,01$ ), самовільного викидню ( $p=0,03$ ), викидню що не відбувся ( $p<0,0001$ ), загрозливого викидню ( $p=0,0012$ ), надмірної блювоти вагітних ( $p=0,002$ ) та дисфункції плаценти ( $p=0,04$ ).

На сьогодні доведено, що в основі формування ембріональних втрат лежить порушення етапів інвазії трофобласта та неповноцінна трансформація спіральних артерій у плацентарні, що може призвести до зниження кровопостачання плаценти, гіпоксії, порушення секреції ангіогенних факторів, самовільних викиднів, синдрому затримки розвитку та загибелі ембріону, відшарування плаценти й преєклампсії. Таким чином, формування ускладнень вагітності відбувається ще в першому триместрі вагітності. За даними

літератури відомо, що вагітність, яка наступила після попередніх невдач, має більшу кількість ускладнень, ніж вагітність, що наступила на «неспровокованому» ендометрії [180, 197].

За результатами більш ранніх клінічних досліджень генетичні порушення активності ферменту *MTHFR* (*MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C*) у присутності поліморфних варіантів генів відповідають за збільшення гомоцистеїну та можуть бути причиною як багатьох гестаційних ускладнень, таких як невиношування вагітності, так й виникненню кардіо-васкулярної патології у майбутньому. При наявності «функціонально несприятливих» поліморфних алелей у декількох генах фолатного циклу істотно зростає ризик переривання вагітності у ранньому терміні гестації [8]. З іншого боку, за результатами Madjunkova S. і співавт. (2012), поширеність поліморфізму генів *MTHFR C677T*, *MTHFR A1298C*, *MTR A2756G* та *MTRR A66G* не впливало на частоту невиношування вагітності та ризику виникнення екстрагенітальної захворюваності. На думку провідних вітчизняних дослідників акушерської гемостазіології поліморфізм *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* є найбільш поширеною у пацієток з синдромом втрати плода.

Домінуюче становище в структурі репродуктивних втрат у пацієток з «тонким» ендометрієм належить вагітності, яку можна вважати одним з клінічних проявів ендометріопатії внаслідок самовільного викидня та завмерлої вагітності. На її частку в паритеті жінок основних груп спостереження припадає понад 40%, що узгоджується з даними більшості вітчизняних та зарубіжних досліджень [44, 67, 78, 158].

В останні роки у вивченні мікробіома людини стався прорив, за допомогою молекулярних методів ідентифіковано велика кількість бактерій, піддана критиці не одна концепція розуміння інфекційної патології [43]. Тому ми розглядали мікробіом піхви з використанням некультуральних методик. Це було обумовлено тим, що за даними Dethlefsen L. [2007] 90% мікроорганізмів розглядаються як некультивованих [112].

Обтяжуючими факторами, що могли впливати на фолатний обмін, слід вважати спадковий фактор у близьких родичів (артеріальна гіпертензія, тромботичний анамнез, надмірна вага тіла, самовільні викидні), тривала робота за комп'ютером ( $p=0,0005$ ).

Оптимальний метаболізм фолатного циклу у першу чергу забезпечує функціонування найважливіших біологічних процесів в організмі: оптимізацію рівня гомоцистеїну та інших амінокислот, забезпечення стабільності геномної ДНК (біосинтез й репарація), участь в реакціях метилювання протеїнів, нейротрансмітерів, фосфоліпідів та ДНК. Перераховані процеси особливо необхідні для активно проліферуючих клітин ембріона, оскільки необхідні для синтезу ДНК, а перенесення метильних груп на CpG-острівці в промоторних регіонах генів встановлює епігенетичні мітки для подальшої просторової та тимчасової регуляції експресії генів. Крім того, дефіцит фолату або генетичний поліморфізм ферментів метаболізму фолату пов'язаний із збільшенням ризику нерозходження хромосом та формування анеуплоїдії у плода [22, 79].

Аналіз міжгенних взаємодій генів-кандидатів показав, що ризик невиношування вагітності першого триместру значимо вище для жінок, які мають в своєму генотипі мінорні алелі генів ензимів фолатного циклу (*MTHFR*, *MTRR* та *MTR*). При гомозиготному носійстві мінорного генотипу підвищується ризик порушень кровообігу в судинах формування плаценти; можливе порушення процесів метилювання ДНК, сегрегації хромосом при діленні клітин. Ще більш високий ризик невиношування вагітності формується при поєднанні мінорних алельних варіантів генів *MTHFR*, *MTRR* та *SERPINE*. При наявності мінорних алельних варіантів трьох даних генів високий ризик утворення тромбів, обумовлений гіпергомоцистеїнемією, доповнюється зниженням активності процесів фібринолізу й збільшенням кількості ранніх втрат вагітності [26].

У світовій практиці проведено ряд досліджень пошуку асоціації мутацій генів фолатного циклу із невиношуванням вагітності. Частина клінічних



досліджень виявили ризик звичного невиношування при наявності в генотипі жінок зі звичним викиднем алелі *T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. У роботах інших авторів таких асоціацій виявити не вдалося [19, 22, 34, 76]. Ймовірно, отримані відмінності можуть бути пояснені особливостями популяцій, дизайном дослідження, розміром вибірок та ін. Гістологічні результати більш однозначні - у всіх дослідженнях виявлено позитивні асоціації між алелями *MTHFR 1298C* та *677T*, *transcobalamin 776G* та самовільним викиднем. Можна припустити, що для невиношування вагітності більше значення має генотип плоду, а не матері. Тому селективного відбору піддаються саме ембріони із несприятливими генотипами по генам фолатного циклу.

Відповідно до аутосомно-домінантних моделей успадкування аллель *A* поліморфіза *G10976A* гена *F7* була асоційована із розвитком загрозливого викидня й утворення ретрохоральної гематоми [225]. По відношенню зв'язку поліморфізму *G10976A* гена *F7* з ретрохоральною гематомою в літературі відсутні публікації, проте наведені результати про протективну роль поліморфізму *G10976A* гена *F7* при невиношуванні вагітності [226], й, навпаки, про відсутність будь-якого зв'язку між поліморфізмом *G10976A* гена *F7* та ранніми втратами вагітності [224].

Аналіз отриманих даних засвідчив різні шляхи дезадаптації метаболізму фолатів у вагітних в залежності від поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* [76, 107]. Характерною особливістю фолатного статусу у нашому дослідженні виявилось зростання сироваткової концентрації фолієвої кислоти у 31,7% вагітних з функціонально-зміненими генотипами *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, також достовірне зниження ФК у 38,3% вагітних жінок із попередніми ембріональними втратами із порушенням метаболізму фолатів. При дослідженні рівня фолатів в еритроцитах крові у жінок з *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* з різним типом успадкування R. Prinz-Langenohl та співавтори [2009] показали, що метафолін значно більшою мірою підвищує їх зміст, ніж фолієва кислота [200].

Фолати мають найважливіше значення для видалення надлишку гомоцистеїну з організму шляхом перетворення його у метіонін. Гомоцистеїн – сірковмісна амінокислота, обмін якої нерозривно пов'язаний з обміном незамінних амінокислот метіоніну та цистеїну. Гомоцистеїн (ГЦ) володіє цитотоксичними властивостями і його низький вміст у клітинах забезпечується шляхом реметилування до метіоніну, а також шляхом транссульфування з утворенням цистатіоніну, потім, цистеїну. Гіпергомоцистеїнемія призводить до порушення мікроциркуляції та тромбоутворення, розвитку мікроангіопатії, притаманна тератогенна та фетотоксична дія призводить до загибелі клітин трофобласта [22].

У метааналізу рандомізованих досліджень Homocysteine Lowering Trialists Collaboration було показано, що вплив ФК на концентрацію ГЦ в крові залежить від його дози: чим вища доза ФК, тим більш виражене зниження рівня ГЦ спостерігається при її прийомі. У той же час висловлюються припущення, що ГЦ може бути лише маркером порушень у метаболізмі ФК, й можливо, ключова роль у формуванні певної патології належить все ж не йому, а фолієвій кислоті [5]. 5-метилтетрагідрофолат більшою мірою, ніж фолієва кислота, впливає на сироватковий рівень гомоцистеїну [66, 103].

У пацієнок пізнього репродуктивного віку із попередньою ембріональною втратою, визначались статистично значущі зміни рівня гомоцистеїну у сироватці крові порівняно із аналогічними показниками при фізіологічній вагітності ( $p < 0,05$ ). Проте виявлений показник гомоцистеїну знаходився у межах референсних показників стосовно фізіологічної норми. Підвищення вмісту гомоцистеїну в плазмі трактується як помірне (16 - 30 мкмоль / л), середня (31 - 100 мкмоль / л) та важка, або виражена (більше 100 мкмоль / л) гіпергомоцистеїнемія [36]. В інших дослідженнях був отриманий аналогічний результат. Так у клінічному дослідженні Пустотиної О.А та Ахмедової А.Є. [2017] тромбоцитопатія у жінок з генетичним поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T) MTHFR* зустрічалася значно частіше, ніж гіпергомоцистеїнемія (високий рівень гомоцистеїну в крові визначався тільки

у 22% обстежених жінок). Разом з тим лише у 12% було підвищено кількість тромбоцитів в крові. Дану гіпотезу підтверджує висока частота патологічних маткових кровотеч у жінок з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*: майже у половини (49%) мали місце аномальні маткові кровотечі переважно у вигляді рясних і / або тривалих менструацій і у кожної п'ятої - кровотеча після пологів або абортів, яке в двох випадках призвело до гемотрансфузії [66].

Забезпечення переважання тромборезистентності мікроциркуляторного русла матково-плацентарного кровотоку забезпечується трохи інакше. На поверхні ворсин хоріона присутня тромболітична система, в яку входять мембрани щіткової облямівки та тромбомодулін. У даний час дослідники повідомляють про те, що при наявності патологічного варіанту перебігу вагітності, наприклад, у вигляді преєклампсії, передчасного відшарування нормально розташованої плаценти експресія тромбомодуліна сінцитіотрофобластом істотно знижена. В результаті формується додатковий фактор, що сприяє тромбоутворенню в міжворсинчастому просторі [55].

Подальші дослідження Невзорової І.А. [2015] наочно продемонстрували, що зниження рівня ТМ при розвитку загрозливого мимовільного викидня та відшарування плодового яйця на преємбріонічній стадії виникає за рахунок активного зв'язування ТМ з комплексом протеїн С-протеїн S. Як кофактор антикоагулянтного потенціалу плазми- ТМ депонується в субендотеліальному матриксі пошкоджених мікросудин ендометрія та хоріону, а в подальшому поступово виснажується в результаті збіднення його запасів в ендотеліальних гранулах та підвищеної зв'язку (афінності) тромбомодуліна з рецепторами протеїнів C\S. Оскільки при розвитку репродуктивних втрат має місце активація протромботичних компонентів на тлі закономірного пригнічення функціонального резерву антикоагулянтного потенціалу плазми, то зниження кофакторів інгібіторів коагуляції (зокрема тромбомодуліну) бачиться цілком очевидним та патогномонічним [55].

Проте, при проведенні подальшого обстеження у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму нами було виявлено, що напередодні вагітності спостерігалось недостовірне підвищення рівнів вовчакового антикоагулянта (ВАК), активованого часткового тромбінового часу, фібриногену та зниження антитромбіну III і кількості тромбоцитів ( $p > 0,05$ ). Тому, через відсутність достовірних ознак гіперкоагуляції при порушенні метаболізму ензимів фолатного циклу, поряд із зниженням атромбогенного потенціалу стінки судин не потребують додаткового призначення медикаментозних препаратів із антикоагулянтною активністю

Як показали дослідження останніх років, в генезі ранніх втрат вагітності лежить гестаційна ендотеліопатія, обумовлена плацентарною гіпоперфузією в результаті неповноцінної перебудови спіральних артерій. У дослідженнях останніх років доведено, що порушення фетоплацентарного кровообігу ініціюються вже на ранніх стадіях ембріогенезу та є наслідком порушень плацентації й інвазії трофобласта [40]. Дані моменти вимагають більш докладного вивчення. Крім того, недоступність для безпосереднього дослідження структур ендотелію диктує необхідність пошуку чутливих методів визначення причин ендотеліальної дисфункції, враховуючи її важливу роль в генезі судинних порушень у вагітних [16, 116].

Дезорганізація стінок спіральних артерій ендометріального сегмента починається до моменту інвазії цитотрофобласта й посилюється при його вторгненні в терміні вагітності 6-8 тижнів (перша хвиля цитотрофобластичної інвазії). При цьому заміщення фібриноїдом стінки артерії виникає тільки при контакті з цитотрофобластом [57, 219].

Також визначено, що інвазія цитотрофобласту в міометральний сегмент спіральних артерій відбувається в терміні 17-18 тижнів, після чотирьох тижнів періоду «затишшя», коли цитотрофобласт знаходився тільки в межах децидуальної оболонки (друга хвиля цитотрофобластичної інвазії) [57]. Тому при допомозі використання певних препаратів на етапі прекоцепції та в

зазначені вище критичні терміни імплантації та плацентації, ми можемо втрутитися в діалог плодового яйця і матері. Адекватний приплив материнської крові до плаценти залежить від двох чинників: числа спіральних артерій, які пов'язані із інтервілезним простором, глибиною інвазії цитотрофобласту [57]. Патологічна плацентація характеризується великою кількістю спіральних артерій, але відсутністю або недостатністю їх гестаційної трансформації та розвитком плацентарної дисфункції [59, 94, 160, 212, 219].

Показники маркера гестаційної ендотеліопатії (ЕЗВД) у пацієток пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму та попередньою ембріональною втратою, та у вагітних жінок контрольної груп дослідження свідчили про певні пристосувально-компенсаторні зміни ендотелій-залежної складової регуляції судинного тону, що характерні для початку ремоделювання спіральних артерій матки у плацентарні судини, не мали статично значущі відмінності ( $p > 0,05$ ).

Найбільш вивченими та представляють особливий інтерес в плані вивчення патогенезу ранньої антенатальної патології є проангіогенні агенти: судинно-ендотеліальний фактор росту (СЕФР) та плацентарний фактор росту (ПлФР) у жінок із мінорним генотипом (*T/T*) *rs1801133* (*677 C>T*) гена *MTHFR*. Роль інших факторів росту та активних субстанцій у формуванні матково-плацентарного кровообігу вивчена недостатньо, оскільки переважна маса досліджень виконується в пізні терміни вагітності, а основоположні події, що визначають подальший перебіг гестації, відбуваються в самому її початку [127]. Секреція ПлФР гігантськими клітинами трофобласта, як показують дослідження, є сигналом, який ініціює та координує васкуляризацію у децидуальній оболонці та плаценті під час раннього ембріогенезу [1]. Неадекватне формування та дисфункція судин плаценти призводять до розвитку недостатності першої хвилі інвазії трофобласта й обумовленої цим редукції матково-плацентарного кровообігу. Визначення ПлФР, за алгоритмом Фонду медицини плода (Fetal Medicine Foundation), необхідно

виконувати в першому триместрі разом з PAPP та АФП. Достовірне зменшення рівня сироваткової концентрації плацентарного фактору росту ( $p < 0,05$ ) при мінорному генотипі ( $T/T$ ) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* у жінок пізнього репродуктивного віку, було пов'язаний із порушенням процесів плацентогенезу, та може бути предиктором розвитку преєклампсії, плацентарної дисфункції та передчасних пологів. На думку І.А. Андрієвської з співав. [2017], порушення секреції ПЛФР трофобластом на ранніх термінах вагітності, являє собою вагомий патогенетичний механізм розвитку невиношування у ранньому терміні гестації, обумовленого недостатністю інвазії та міграції трофобласта з подальшою загибеллю ембріону [1].

Порушення синтезу СЕФР в якості регуляторного фактора формування хоріона/плаценти та порушення генетичної програми розвитку плода визначає ступінь морфологічних змін, які спостерігаються в децидуальній тканині матково-плацентарної області. У нашому дослідженні було встановлено, що рівень СЕФР у сироватці крові жінок із анамнестичними втратами вагітності, які мали мінорний генотип ( $T/T$ ) *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, був достовірно нижчим, ніж у пацієток із фізіологічною вагітністю ( $p < 0,05$ ).

СЕФР є єдиним специфічним мітогеном ендотеліальних клітин, стимулює їх зростання, міграцію, проліферацію та протеолітичну активність, збільшує при цьому проникність судин у багатьох тканинах й сприяє васкулогенезу та ангиогенезу, відіграє тим самим важливу роль у фізіологічному зростанні плаценти та судинної мережі стромы ворсин, а також регулює інвазивні властивості цитотрофобласту [86, 131, 212, 228]

Порушення секреції СЕФР у плаценті, а також порушення експресії його рецепторів може призвести до порушення процесів ангиогенезу в плаценті плацентарної дисфункції та потенціює прогресію гестаційної ендотеліопатії [25]. За результатами дослідження Соколова Д.І. (2007) СЕФР також прискорює експресію на ендотеліальних клітинах молекул адгезії ICAM-1 та VCAM-1, збільшує життєздатність ендотеліоцитів, захищає клітини від апоптозу, індукованого фактором некрозу пухлини- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), підвищує

експресію антиапоптотичного протеїну Bcl-2 в ендотеліоцитах [71]. У дослідженнях Ferrara N. Et al. (2001) було показано, що VEGF-A індукує експресію інших ключових факторів патогенезу перинатальної патології плацентарного походження - матриксних металопротеїназ, що беруть участь в руйнуванні базальної мембрани судини при ангиогенезі [125].

В огляді літератури, що приводить Гайська О.В. [2018], показаний кореляційний зв'язок між експресією ангиогенних факторів та васкуляризацією децидуальної оболонки, а також частотою самовільного переривання вагітності. На початкових етапах плацентації в стані відносної гіпоксії відбувається індукування експресії судинно-ендотеліального фактора росту трофобласта. Для загрози переривання вагітності із несприятливим результатом характерно достовірне підвищення рівня СЕФР й незначне зниження рівня ПлФР [19].

В основі механізму, що забезпечує сталість матково-плацентарного кровоплину, лежить зниження преплацентарного опору за рахунок ремодуляції спіральних артерій (СА), внаслідок якої відбувається заміщення м'язового та ендотеліального шарів фібриноїдом, за рахунок чого прозір спіральних артерій значно розширюється та втрачає здатність до скорочення у відповідь на аферентні імпульси. Нами було встановлено, що у першому триместрі вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням фолатного метаболізму пульсаційний індекс та індекс резистентності були вищими за такі при фізіологічній вагітності, як у спіральних, так й маткових артеріях. Проте вказані відмінності не мали статистично значущої відмінності ( $p > 0,05$ ). Зменшення або збільшення доплерівських індексів, у залежності від умов дослідження, у СА співпадало з аналогічними змінами у МА. Це підтверджує припущення, що опір кровоплину у СА знаходить своє відображення в кровоплині по МА.

Згідно з аналізом отриманих результатів Перетятко Л.П. (2019), при неускладненому перебігу вагітності у діцидуальному сегменті здійснюється послідовна трьохстадійна спіралізація СА (5, 6-10 та 11-12 тижні), що

завершується збільшенням їх кількості та щільності розташування в судинних «клубках». На підставі динаміки гестаційного ремоделювання СА, викликаного інвазією внутрішньосудинного цитотрофобласту й проявляється заміщенням судинної стінки фібриноідом, можливо виділити 4 фази: початкову (5 тижнів.), ранню (6-8 тиж.), середню (9-10 тиж.) та пізню (11-12 тиж.) [59].

З огляду на літературні дані [170, 183, 215] про позитивний вплив децидуальних клітин ендометрію на процес ремоделювання СА, можна припустити, що виявлене відставання трансформації судин було пов'язано із затримкою диференціювання фібробластоподібних клітин гравідарного ендометрію при звичному невиношуванні вагітності у ранніх термінах. Відсутність трансформації спіральних артерій встановлено при викидні, що не стався, при цьому спіралізація має випереджальний характер [59].

Таким чином, результати проведеного дослідження показують, що значний внесок у порушення процесів раннього ембріонального розвитку вносить генотип клітин зародкового походження, що вказує на необхідність аналізу генотипу не тільки матері, але й батька по генах-кандидатах, асоційованих з підвищенням ризику невиношування вагітності. Встановлено сукупність молекулярно-генетичних маркерів, що дозволяють індивідуально прогнозувати ризик можливих ускладнень при вагітності. На їх основі можлива розробка та створення алгоритму доклінічної профілактики репродуктивних втрат, складання індивідуального прогнозу ризику ембріональних втрат.

Тому наступним етапом нашого проспективного клінічного дослідження стала оцінка клінічної ефективності профілактичної терапії у пацієнток пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів та ранніми втратами вагітності в анамнезі.

Клінічно обґрунтована превентивна терапія на прегравідарному етапі та у першому триместрі вагітності є однією із основних заporук успішності профілактики перинатальної патології (завмерла вагітність, плацентарна



дисфункція, прееклампсія та антенатальна загибель плода), що може призвести до значного зниження випадків ембріональних втрат та підвищення якості перебігу гестаційного процесу [41, 133].

Достатньо неоднозначним виглядає призначення препаратів фолієвої кислоти. Прийом ФК оптимально слід розпочинати за 12 тижнів від очікуваної концепції й продовжувати до закінчення годування грудьми [124, 178].

Можливим заміником фолієвої кислоти може стати природна для біологічних систем форма - [6S] -5-метилтетрагідрофолат (5-МТГФ). Її використання замість фолієвої кислоти або на додаток до неї було б виправдано при доказовій ефективності з точки зору запобігання формування ДНТ. Саме тому в останні роки дослідження з профілактики ускладнень, пов'язаних з поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* були сфокусовані на додатковому прийомі іншої форми фолієвої кислоти -5-МТГФ, або метафоліну. Це обумовлено високою поширеністю генетичного поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* серед населення, з чим пов'язана знижена активність основного ферменту фолатного циклу. На відміну від синтетичної фолієвої кислоти метафолін є біологічно активною формою фолатів й всмоктується в кров без участі ферментативних систем кишечника, в тому числі ферменту *MTHFR*. Він безпосередньо захоплюється клітинами і використовується в обмінних процесах - реплікації ДНК і циклах метилування [133, 141].

Біологічно активна форма фолієвої кислоти – метафолін міститься в багатьох препаратах. Препарат, що містить метафолін представлено у двох модифікаціях – таблетки для I триместру та II–III триместрів й періоду лактації. Доскладу обох форм препарату входять: фолати в сумарній дозі 400 мкг (ФК 200 мкг та кальцій-L-метилфолат 208 мкг); вітамін С (кальцій L-аскорбат 110 мг); вітамін РР, нікотинамід 15 мг; вітамінЕ 13 мг; пантотеновакислота 6 мг; вітамін В<sub>6</sub> 1,9 мг; вітамін В<sub>2</sub> 1,6 мг; вітамін В<sub>1</sub> 1,2 мг; біотин 60 мкг; вітамін В<sub>12</sub> 3,5 мкг; йод 150 мкг. До складу препарату, що рекомендований для використання у II–III триместрі й під час лактації

додатково входить докозагексаєнова кислота (ДГК) у вигляді окремої капсули 200 мг. Наявність у складі комплексу вітамінів групи В дозволяє забезпечити весь каскад перетворень неактивної частини ФК на активну.

Довголанцюжкові поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК) є вкрай важливими для нормального перебігу вагітності, повноцінного розвитку плода та новонародженого. ДГК належить до ПНЖК, і в дозі 200–300 мг/доба в прегравідарному періоді та під час вагітності може знижувати частоту акушерських та перинатальних ускладнень і позитивно впливати на розвиток головного мозку, імунної системи і органу зору плода [10, 29, 45]. У нервовій системі відзначається висока концентрація ДГК (15–20% від загального вмісту жирних кислот у фосфоліпідах головного мозку та 60% від їх рівня у фосфоліпідах мембран клітин сітківки), що забезпечує життєдіяльність і функціонування нервових клітин. ДГК також бере участь у синаптичній передачі сигналу та активує зоровий пігмент родопсин, впливаючи на світлочутливість сітківки. ДГК міститься в жировій тканині жінки і за необхідності мобілізується під час вагітності й передається плоду через плаценту, накопичуючись у тканині головного мозку, причому особливо активно в III триместрі [29]. Ці факти зумовлюють доцільність призначення ДГК вагітним з метою забезпечення адекватного розвитку центральної нервової системи плода.

Слід зазначити, що між  $\omega$ -3-ПНЖК, до яких належить й ДГК, активними фолатами та вітамінами групи В існує фармакодинамічний синергізм, тому їх сумісне застосування може більш виражено сприяти зниженню рівня гомоцистеїну, відновленню метилування ДНК, позитивно впливати на процеси росту та диференціювання клітин плаценти й плода [109]. Стабільність ДГК також забезпечується вітаміном Е, який входить до складу препарату що був використаний у нашому проспективному клінічному дослідженні.

Систематичний огляд Cochrane Pregnancy and Child birth's Trials Register [2019] нараховував у цілому 20 досліджень (за участю 141 849 жінок).

Наведені дослідження порівнювали вагітних жінок, які доповнювали свій раціон кількома мікроелементами (включаючи залізо та фолієву кислоту) із вагітними жінками, які отримували залізо (з фолієвою кислотою або без неї) у якості монопрепаратів або плацебо. Автори виявили, що вагітні жінки, які отримували вітамінно-мінеральні комплекси із ФК та залізом, мали менше випадків МГВП (вагою менше 2500 г), СЗРП, ніж та меншу кількість передчасних пологів до 37 тижня вагітності. Було виявлено, що докази основних результатів низької ваги при народженні та малого гестаційного віку є якісними та середньоякісними відповідно. Ці результати, які спостерігалися, можуть послужити основою для керівництва заміни монопрепаратів заліза та фолієвої кислоти на ВМК для вагітних в країнах із низьким та середнім рівнем доходу [155].

Метою наступного етапу нашого проспективного дослідження була оцінка клінічних ефектів використання вітамінного комплексу, що містив метафолін, у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів, які мали анамнестичні ембріональні втрати.

Набір клінічного матеріалу був здійснений на базі Обласного Центру планування сім'ї, репродукції людини і медико-генетичного консультування Вінницької обласної лікарні імені М.І. Пирогова. Обстеження та подальше спостереження за пацієнтками проводилося протягом 2017-2019 років.

Для виконання поставленої мети була оцінена терапія, спрямована на збереження вагітності та профілактику розвитку перинатальної патології у 100 жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням обміну фолатів, які мали попередні втрати вагітності у ранньому терміні гестації.

Залежно від характеру профілактичної терапії пацієнтки були розділені на групи таким чином: I підгрупа - 45 жінок, які отримували препарати ФК (400 мкг на добу) та II підгрупа - 55 пацієнток, які отримували ВМК, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг I (1 таблетка на добу). Прийом препаратів починався за 6-8 тижнів до запланованої вагітності, та

продовжувався на вьому терміні вагітності. До контрольної групи входили 40 практично здорових жінок з фізіологічним перебігом вагітності.

Аналіз клінічного перебігу вагітності та пологів у пацієток пізнього репродуктивного віку із анамнестичними втратами вагітності у ранньому терміні гестації та порушенням метаболізму фолатів засвідчив більш позитивний ефект призначення вітамінного комплексу, що містив активний фолат- метафолін, проти монотерапії ФК у дозі 400 мкг/доба.

У жінок, які отримували вітамінний комплекс, що містив метафолін з 6-8-го тижнів прекоцепційної підготовки та впродовж всієї вагітності, було діагностовано достовірне зменшення випадків ранніх втрат вагітності ( $p=0,03$ ), анемії вагітних у I триместрі ( $p=0,009$ ), прееклампсії ( $p=0,014$ ), анемії у II та III триместрах вагітності ( $p=0,001$ ), плацентарної дисфункції ( $p=0,0005$ ), зниження рівня плацентарних гормонів ( $p=0,014$ ), патології розвитку та локалізації плаценти ( $p=0,0499$ ), синдром затримки розвитку плода ( $p=0,0499$ ), передчасного визрівання плаценти ( $p=0,02$ ), необхідності підсилення пологів ( $p=0,015$ ), порушення ранньої неонатальної адаптації ( $p=0,03$ ), неонатальної жовтяниці ( $p=0,018$ ), післяпологової анемії ( $p=0,015$ ), порівняно з жінками, які у зазначений термін отримували лише ФК.

Результати рандомізованих досліджень показали 60-100% скорочення ДНТ, в разі додаткового споживання жінками фолієвої кислоти на тлі повноцінного різноманітного харчування протягом одного місяця до зачаття та одного місяця після концептису. У США рекомендується вживання 400 мкг фолієвої кислоти щодня всім жінкам, репродуктивного віку для запобігання ДНТ, крім цього з 1998 р всі зернові продукти додатково збагачуються фолієвою кислотою, що призвело до 26% зниження даних вад розвитку плода. У Канаді, де так само проводиться збагачення продуктів харчування аналогічне США (1,5 і 1,4 мг фолієвої кислоти / кг зерна відповідно), повідомляється про зниження частоти випадків ДНТ до 50% [178].

Порівняння даних проведеного в Угорщині рандомізованого дослідження з використанням полівітамінів, що містять фолієву кислоту та

багаторічних даних Угорської служби спостереження за вродженими аномаліями показало, що полівітаміни (400 мкг / сут фолієвої кислоти) були більш ефективні в профілактиці вад розвитку нервової трубки, ніж високі дози монопрепарата фолієвої кислоти [108]. У той час як і полівітаміни так й монопрепарат фолієвої кислоти запобігали вадам розвитку серцево-судинної системи, тільки полівітаміни запобігали обструктивні порушення сечових шляхів, пороки розвитку кінцівок, а також й вроджений пілоростеноз.

Генетичний дефіцит фолатного циклу негативно впливає на фертильність людини. Chen Н.із співавт. опублікували результати систематичного огляду та метааналізу 16 клінічних досліджень за типом випадок - контроль за участю 1420 пацієнток і 1408 осіб групи контролю, згідно з якими мутація *MTHFR C677T* була пов'язана з високим ризиком спонтанних повторних переривань вагітності за домінантною ( $T/T + C/T$  в порівнянні із  $C/C$ ; ВШ 2,10; 95% довірчий інтервал (ДІ) 1,76 - 2,50), рецесивної ( $T/T$  в порівнянні із  $C/C + CT$ ; ВШ 2,36; 95% ДІ 1,92 - 2,90), гетерозиготною ( $C/T$  в порівнянні із  $C/C$ ; ВШ 1,77; 95% ДІ 1,32 - 2,37), гомозиготною ( $T/T$  в порівнянні із  $C/C$ ; ВШ 3,55; 95% ДІ 2,76 - 4,56) та адитивної ( $T$  в порівнянні з  $C$ ; ВШ 1,83; 95% ДІ 1,64 - 2,05) моделях[88, 201]. Ходжаєва із співавт. в контрольованому клінічному дослідженні виявили асоціацію генотипу *MTHFR C677T*, але не *A1298C*, з синдромом полікістозного яєчника у жінок, причому мінорний варіант генотипу  $TT$  виявився додатково пов'язаний з інсулінорезистентністю при СПКЯ [82]. Метааналіз результатів 26 контрольованих клінічних випробувань свідчить про тісний зв'язок генотипу *MTHFR C677T* із безпліддям у чоловіків [82].

Проведені у пацієнток з порушенням метаболізму фолатів дослідження при призначенні препаратів фолієвої кислоти не показували очікуваної високої ефективності (стійкого зниження рівня гомоцистеїну, зниження ймовірності вроджених вад розвитку плоду) [84]. У разі виявленої ГГЦ рекомендована доза фолієвої кислоти становить 500-1000 мкг/добу. При стійкій гіпергомоцистеїнемії існує практика призначення фолієвої кислоти в

дозах понад 5000 мкг / сут. Встановлена асоціація алелі *T* поліморфізму *rs1801133* (677 *C>T*) гена *MTHFR* з ризиком розвитку серцево-судинних захворювань у японців, європейців і американців європейського походження, а також з ризиком цукрового діабету 2-го типу [190]. У разі вираженої ферментопатії оптимальним вважається профілактичне застосування метаболізованих форми фолатів: 5-метилтетрагідрофолата (5-МТГФ) (метафоліну як синтетичної форми метилфолата, L-метилфолата) [83, 84].

Крім того, за даними ряду авторів призначення надлишкових доз фолатів призводить до парадоксального зниження фолатного статусу. Це пов'язують з реакцією «фолатних» клітинних рецепторів на надлишкову дозу фолієвої кислоти, що призводить як до зниження засвоюваності фолієвої кислоти, так й до депресії ферментів фолатного метаболізму [83]. Подібна профілактика може не тільки виявитися неефективною, а й посилити небажані наслідки фолатного дефіциту (збільшення рівня гомоцистеїну в крові, порушення згортання крові зі схильністю до тромбоемболічних ускладнень, підвищення ймовірності невиношування вагітності, вроджених вад плоду, збільшення ризику онкозахворювань та ін.).

Результати тривалого дослідження, проведеного в групі здорових невагітних жінок, продемонстрували більш високу ефективність біологічно активної форми 5-МТГФ в порівнянні з еквімолярною дозою фолієвої кислоти щодо створюваного рівня фолатів. Як індикатор рівня фолатів, що впливає на ризик розвитку ДНТ, вибрано зміст фолатів в еритроцитах. Половинна доза 5-МТГФ, рівна 208 мкг / добу, не була настільки ж ефективною, як доза 416 мкг 5-МТГФ або 400 мкг фолієвої кислоти. Через 24 тижні застосування всіх форм фолатів середній вміст фолатів в еритроцитах перевищувало 906 нмоль / л, що прийнято за порогове значення, після якого ризик розвитку ДНТ мінімальний [30].

Результати дослідження довели, що застосування 5-МТГФ більш ефективно в порівнянні з фолієвою кислотою збільшує вміст фолатів в еритроцитах у жінок репродуктивного віку. Додатковий прийом 5-МТГФ

може стати адекватною альтернативою фолієвої кислоти в підтримці нормального рівня фолатів й, таким чином, в зниженні ризику розвитку внутрішньоутробних ДНТ [30].

При прийомі жінками із порушенням метаболізму фолатів комбінованого препарату, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу, у нашому проспективному дослідженні на догравідарному етапі та протягом всієї вагітності спостерігалось достовірне зменшення випадків ізольованих змін за результатами пренатального скринінгу. А саме, було діагностовано відхилення рівнів маркерів  $\beta$ -ХГЛ ( $p=0,015$ ) та естріолу ( $p=0,0011$ ) від референтних показників у порівнянні із вагітними пацієнтками пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням фолатного обміну, які отримували у зазначені вище терміни фолієву кислоту 400 мкг на добу [30].

Вітаміни з антиоксидантним потенціалом можуть мати позитивний терапевтичний ефект при призначенні вагітним з груп ризику [31]. Проте раннє призначення антиоксидантів, таких як вітаміни Е та С, для жінок з високим ризиком розвитку преєклампсії може мати клінічне значення. На основі доплерівського дослідження маткових артерій Chappell et al. виявили, що у 283 жінок був діагностований підвищений ризик розвитку преєклампсії. У групі прийому вітамінів Е (263 мг / добу) та С (1000 мг / добу) ризик розвитку преєклампсії був в 2 рази нижчий, ніж в групі плацебо [102]. Цікаво, що призначення вітамінів було пов'язано з поліпшенням функції ендотелію та меншим ступенем вираженості плацентарної дисфункції. Ці дані, поряд зі зменшенням концентрації ізопростанів у жінок, які отримували вітамінний антиоксидантний комплекс, демонструють біохімічну основу поліпшення клінічного стану пацієнток [51]. Проте фахівці з Університетського медичного центру Роттердама (Нідерланди) вважають, що прийом вітаміну Е під час вагітності може стати причиною виникнення у малюка захворювань серцево-судинної системи. Було проведено обстеження 276 жінок, у дітей яких при

народженні були виявлені проблеми з серцем, й 324 жінки, чії діти з'явилися на світ абсолютно здоровими. Виявилось, що жінки, чії діти народилися з дефектами серця, споживали під час вагітності велику дозу вітаміну Е. Дослідження показало, що діти жінок, які протягом перших 2-х міс. вагітності приймали більш 14,9 мг вітаміну Е на добу, в 9 разів частіше з'являлися на світ з вродженими органічними і функціональними порушеннями в роботі серця [51].

Також нам хотілося зазначити, що при дослідженні ефективності профілактичної терапії за динамікою маркерів функціональності фолатного метаболізму у вагітних жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ембріональними втратами та порушенням метаболізму фолатів були встановлені результати, які свідчили, що у пацієток II клінічної групи, які використовували комбінований препарат, що містив фолієву кислоту та L-метилфолат наприкінці першого – початку другого триместра відзначалась достовірна різниця ( $p < 0,05$ ) між аналогічним результатом за сироватковою концентрацією рівнів бетаїну та метіоніну, тоді як у III триместрі була діагностовано позитивна статистично значуща відмінність ( $p < 0,05$ ) рівнів як метіоніну, бетаїну, а також й гомоцистеїну.

У дослідженні Linda Dodds [2008], до якого було залучено 2119 жінок, 103 мали ембріональну втрату, 115 - гестаційну гіпертензію, 65 - преєклампсію. Пацієнти з підвищеною концентрацією гомоцистеїну мали підвищений ризик втрати вагітності [ВР 2,1, 95% ДІ 1,2–3,6] або ПЕ (ВР 2,7, 95% ДІ 1,4–5,0), ніж у пацієток із меншими концентраціями ГЦ, але підвищена концентрація ГЦ не була пов'язана з підвищеним ризиком розвитку гестаційної гіпертензії або народження дитини із СЗРП. Таким чином, виявлення ГЦ на ранніх термінах вагітності як фактор ризику втрати вагітності та преєклампсії є підтвердженням гіпотези, що підвищення ГЦ призводить до аномалій судинної системи плаценти [119].

ГЦ є одним з факторів ризику звичної втрати плоду та порушення тромбоцитарної ланки гемостазу. Визначення рівня ГЦ має бути включено у



прегравідарну підготовку всім жінкам зі звичним невиношуванням вагітності. Для зниження рівня ГЦ до оптимальних значень у жінок з ГГЦ доцільно застосовувати спеціалізовані вітамінно-мінеральні комплекси, що містять оптимальні дози фолієвої кислоти за 3 міс до планованої вагітності й у подальшому протягом її I триместру. Контроль рівня ГЦ необхідно здійснювати пацієнткам з ГГЦ одноразово в кожному триместрі вагітності [4].

При використанні вітамінно-мінерального комплексу (ВМК), що містить метафолін, з II триместру у жінок з низькими показниками ЕФР (епідермальний фактор росту) і ТФР- $\beta$ 2 (трансформуючий фактор росту  $\beta$ 2) виявлено, що у пацієток, які приймали метафолін, рідше розвивалася преєклампсія (реєструвалися в основному легкі форми), плацентарна дисфункція, рідше реєструвалися ускладнення під час пологів, а також порушення адаптації та захворювання у новонароджених [21]. Застосування метафоліну ефективно знижувало рівень гомоцистеїну та нормалізувало показники коагулограми, знижуючи ризик розвитку акушерських й перинатальних ускладнень. Так, в групі пацієток, які приймали 5,8 мг фолієвої кислоти, рівень гомоцистеїну не знижувався, а, навпаки, мав тенденцію до підвищення, до того ж в коагулограмі спостерігалися ознаки гіперкоагуляції, в той час як в групі вагітних, які отримували 200 мкг фолієвої кислоти та 200 мкг метафоліну, рівень гомоцистеїну знижувався, набуваючи нормальні значення [32].

У 2012 р авторитетною групою дослідників був проведений фармако-економічний аналіз ефективності та доступності препаратів за ціною. Згідно з аналізом, у групі найбільш ефективних засобів, порівняних за якістю, дозувань та ціною, представлені комбіновані препарати, що містили метафолін. Фармако-економічний аналіз проводився з урахуванням доз нутрієнтів, рекомендованих регламентуючими документами. Було з'ясовано, що незважаючи на те, що препарати відносилися до групи «економ-2», а вони мали істотні переваги. Препарати містили комбінацію фолієвої кислоти (400 мкг) та активного L-метилфолата (200 мкг), що дозволяє проводити корекцію

фолатного статусу незалежно від генотипу ферментних систем біотрансформації фолатів. З огляду на високу поширеність генетичних поліморфізмів ферментів фолатного циклу серед населення, використання комплексу, що містить фолати в біологічно активній формі, є патогенетично і практично обґрунтованим [48].

Наведена вище комбінація забезпечує підвищену потребу та забезпечення необхідного рівня вмісту фолатів в організмі за досить короткий час. При цьому вдається уникнути ризику передозування фолатів для тієї категорії пацієток, у яких має місце генетично детермінована недостатність ферментної ланки фолатного циклу. Препарати із метафоліном рекомендовані для використання в якості прегравідарної підготовки а також протягом перших 12 тижнів вагітності. Препарат забезпечує високу ефективність та комплайентність пацієток до лікування, а витрати на профілактику ВВР в рази менші, ніж на переривання вагітності (у зв'язку з діагностованим ВВР плода), й тим більше на хірургічне усунення ВВР у дитини та подальшу реабілітацію [35]. Представляючи собою багатоконпонентний комплекс, комбінований препарат із метафоліном містить основні вітаміни та мікроелементи, оптимальне поєднання яких сприяє швидкому метаболізму та засвоєння в організмі на етапі прегравідарної підготовки, а також в ранні терміни вагітності, коли відбувається активний поділ клітин, закладка тканин й органів.

### **Резюме**

Таким чином, найбільш відповідальні етапи ембріогенезу припадають на найбільш ранні терміни гестації. При аналізі клінічного перебігу вагітності та пологів у пацієток пізнього репродуктивного віку із анамнестичною втратою вагітності у ранньому терміні та порушенням метаболізму фолатів, на фоні призначеної профілактичної терапії було встановлено більш позитивний ефект призначення комбінованого препарату, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг (еквівалентно 200 мкг фолієвої кислоти) на добу проти моно призначення фолієвої кислоти 400 мкг на добу. Вказаний клінічний ефект

полягав насамперед у достовірному зменшенні випадків ранніх втрат вагітності, анемії вагітних, плацентарної дисфункції патології розвитку та локалізації плаценти, синдром затримки розвитку плода, передчасного дозрівання плаценти, пологодісилання, порушення ранньої неонатальної адаптації, неонатальної жовтяниці, післяпологової анемії.

Крім того, при проведенні рекомендованого превентивного лікування не було відзначено жодного випадку побічної дії вказаних вище препаратів з боку інших органів та систем. Саме тому препарат, що містив фолієву кислоту 200 мкг та L-метилфолат 208 мкг, може бути рекомендований в групі жінок ризику з розвитку ембріональних втрат із порушенням метаболізму фолатів, особливо на фоні поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, які планують вагітність. У II-III триместрі вагітності фолієва кислота та L-метилфолат в складі мультивітамінних комплексів компенсує підвищені потреби вагітної та плода у вітамінах, сприяючи нормальному фетогенезу, запобігає розвитку анемії, викликаній дефіцитом вітамінів та мікроелементів, також сприяє підготовці жінки до пологів і лактації, забезпечуючи оптимальний вміст мікроелементів.

Саме персоніфікований підхід у призначенні профілактичної терапії продемонстрував достатню альтернативу до існуючих програм прекоцепційної підготовки та моніторингу вагітності.

## ВИСНОВКИ

За наявними даними, у пацієнтів із вагітністю, що не розвивається, та спонтанному викидні, мутація при поліморфізмі *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* визначалася в 60% та 50% випадків відповідно. Згідно з результатами об'єднаного аналізу, в субпопуляціях із різних регіонів України переважають генотипи з низькофункціональними алелями і популяційна частота поліморфних варіантів гена *MTHFR(C677>T)*, складає 50,9%. У дисертаційному дослідженні представлено вирішення актуальної задачі практичного акушерства – удосконалення критеріїв діагностики та оптимізація медикаментозної профілактики ембріональних втрат та розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із порушенням метаболізму фолатів.

1. Порушення фолатного метаболізму у жінок із попередньою ембріональною втратою було асоційовано із достовірним збільшенням випадків, в анамнезі, дитячої захворюваності ( $p=0,0003$ ), захворювань серцево-судинної системи ( $p=0,002$ ), хронічних захворювань ШКТ ( $p=0,01$ ), самовільного викидню ( $p=0,03$ ), викидню, що не відбувся ( $p < 0,0001$ ), загрозливого викидню ( $p=0,0012$ ), надмірної блювоти вагітних ( $p=0,002$ ) та дисфункції плаценти ( $p=0,04$ ).

2. Наявність гомозиготної та гетерозиготної форми (генотипи *C/T* та *T/T*) поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* була асоційована із збільшенням ризику виникнення ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку (ВШ 3,50, 95% ДІ, 1,63-7,51,  $p=0,001$ ).

3. У вагітних жінок з мінорним генотипом *T/T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* та генотипом *CT* за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* відзначалось статистично значуще зниження рівня фолієвої кислоти у сироватці крові (в 3,3 та 1,55 рази,  $p < 0,05$ ) порівняно з контрольною групою. У носіїв генотипу *C/C* рівень фолієвої кислоти виявився достовірно вищим (в

2,7 рази,  $p < 0,05$ ), ніж у носіїв генотипу *T/T*. У вагітних жінок пізнього репродуктивного віку з ембріональними втратами в анамнезі носійство мінорного генотипу *T/T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* асоціювалось зі статистично значущим зниженням рівнів судинних ростових факторів СЕФР та ПЛФР (у 1,6 та 1,7 рази,  $p < 0,05$ ) та більш високим рівнем гомоцистеїну (у 1,63 рази,  $p < 0,05$ ) в сироватці крові.

4. Використання жінками із порушенням метаболізму фолатів на догравідарному етапі, I триместрі та впродовж всього терміну гестації комбінованого препарату, що містив 5-метилтетрагідрофолат, дозволило достовірно зменшити випадки ізольованих змін рівнів естріолу ( $p=0,0011$ ) та  $\beta$ -ХГЛ ( $p=0,015$ ) (пренатальний скринінг II триместру), зростання рівнів бетаїну та метіоніну ( $p < 0,05$ ), зниження рівня гомоцистеїну у сироватці крові.

5. Призначення профілактичної терапії 5-метилтетрагідрофолатом жінкам пізнього репродуктивного віку із анамнестичними втратами вагітності у ранньому терміні дозволило зменшити випадки ембріональних втрат ( $p=0,03$ ), анемії вагітних у I триместрі ( $p=0,009$ ), преєклампсії ( $p=0,014$ ), анемії у II та III триместрах вагітності ( $p=0,001$ ), плацентарної дисфункції ( $p=0,0005$ ), патології розвитку та локалізації плаценти ( $p=0,0499$ ), синдром затримки розвитку плода ( $p=0,0499$ ), передчасного визрівання плаценти ( $p=0,02$ ), пологодісилення ( $p=0,015$ ), порушень ранньої неонатальної адаптації ( $p=0,03$ ), випадків неонатальної жовтяниці ( $p=0,018$ ), післяпологової анемії ( $p=0,015$ ) у пацієток із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*. При цьому, не відзначено жодного випадку побічної дії препаратів на мати та плід та випадків перинатальної смертності.

## ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. З метою оптимізації своєчасної предикторної діагностики невиношування вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку доцільно визначати генотип за поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* у прегравідарному періоді. При виявленні генотипів *C/T* та *T/T* слід очікувати високий ризик ранніх втрат вагітності та гестаційних ускладнень.

2. У жінок пізнього репродуктивного віку із генотипами *C/T* та *T/T* *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* для профілактики ембріональних втрат та розвитку акушерської патології, рекомендовано призначення терапії 5-метилтетрагідрофолатом розпочинаючи за 8-12 тижнів до планування вагітності, протягом першого триместру та всього терміну гестації.

3. У жінок пізнього репродуктивного віку з ембріональними втратами в анамнезі за наявності мінорного генотипу *T/T rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* рекомендовано визначати сироваткові рівні фолієвої кислоти та гомоцистеїну на етапі преконцепції з метою призначення оптимальної профілактичної терапії (із включенням 5-метилтетрагідрофолату протягом всього терміну вагітності) та попередження перинатальної патології.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андриевская ИА, Луценко МТ, Петрова КК, с соавт. Плацентарный фактор роста как маркер угрозы ранних самопроизвольных выкидышей при цитомегаловирусной инфекции. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2017; 64:55-59.
2. Антипкин ЮГ, Задорожная ТД, Парницкая ОИ. Патология плаценты (современные аспекты). Киев: ООО «Атопол», 2016: 127с.
3. Антропофизиологический анализ системной вазоконстрикции и эндотелийзависимой вазодилатации в гемодинамическом обеспечении беременности / Белкания ГС, Коньков ДГ, Диленян ЛР, Пухальская ЛГ. Müasir ginekologiya və perinatologiyanın aktual məsələləri. 2018; 1:30-41.
4. Аржанова ОН, Алябьева ЕА, Шляхтенко ТН. Гипергомоцистеинемия у женщин с привычным невынашиванием беременности. Гинекология. 2009;11(5):53-55.
5. Архипкина ТЛ, Любимова ЛП. Гипергомоцистеинемия, дисфункция эндотелия и их связи с половыми стероидами при синдроме поликистозных яичников. Акушерство, гинекология и репродукция. 2016;10(3):24-28.
6. Аршакян АК. Оптимизация тактики ведения пациенток с привычным невынашиванием беременности и хроническим эндометритом на этапе прегравидарной подготовки: дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2017: 150 с.
7. Атабаева ХЛ. Основные принципы подготовки к беременности и ее ведение у беременных с преэклампсией на фоне выявленной тромбофилии. Акушерство, гинекология и репродукция. 2016;10(4):30–38.

8. Баранов ВС. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины. СПб.: Издательство Н-Л, Санкт-Петербург, 2009: 528 с.
9. Барковський ДЄ. Зміни Т-хелпер асоційованих цитокінів при загрозі невиношування вагітності. Запорізький медичний журнал. 2019;3(114):373–376.
10. Беременность и полиморфизмы генов фолатного цикла: какую дозу и форму фолатов выбрать? / Курмачева НА, и др. Доктор.ру. Гинекология. Эндокринология. 2015; 14 (115):49–54.
11. Беспалова ОН. Генетические факторы риска невынашивания беременности: автореф. дис... докт. мед. наук. СПб., 2009: 46 с.
12. Бицадзе ВО, Самбулова НВ, Макацария НА, Мищенко АЛ. Фолатдефицитные состояния в акушерской практике и проблема их коррекции. Акушерство, гинекология и репродукция. 2016;10(1):38–48.
13. Борзенко ІБ, Коньков ДГ, Лазуренко ВВ, Білий ЄЄ. Роль маркерів гестаційної ендотеліопатії в розвитку плацентарної дисфункції. Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe. 2019; 7 (47):36–39.
14. Булавенко ОВ, Мунтян ОА. Прогнозирование риска прерывания беременности у женщин с привычным невынашиванием в анамнезе. Biomedical and Biosocial Anthropology. 2017; 1:147-149.
15. Булавенко ОВ. Сучасний погляд акушера гінеколога на полівітамінні комплекси для вагітних. Репродуктивна ендокринологія. 2019;3 (47):64-66.
16. Винокурова ИН Роль ангиогенных факторов при преэклампсии: дис. ... канд. мед. нау. Москва, 2016: 26с.
17. Волков ВГ, Ахильгова ЗС. Факторы риска ранних потерь беременности. Вестник новых медицинских технологий. 2020; 1(14):66-72.



18. Воробйова ІІ, Живецька-Денисова АА, Ткаченко ВБ, Рудакова НВ, Толкач СМ. Невиношування вагітності: сучасні погляди на проблему. *Здоровье женщины*. 2017;3 (119): 113-117.
19. Гайская ОВ. Клинико-диагностическое значение специфических маркеров при угрожающем выкидыше у беременных в первом триместре: автореф. дис. ... к.м.н. Белгород, 2018: 23 с.
20. Гостева ЕО. Акушерские аспекты младенческой смертности от врожденных пороков развития в Пермском крае: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Пермь, 2013: 24 с.
21. Громова ОА, Торшин ИЮ, Тетруашвили НК, Лиманова ОА. О новых тенденциях в нутрициальной поддержке беременности. *Акуш. и гин.* 2018;1:21–28.
22. Демченко НС. Оценка роли полиморфизма генов фолатного цикла и ангиогенеза при неразвивающейся беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Екатеринбург, 2015: 23с.
23. Дефіцитні стани в жінок під час прегравідарної підготовки до вагітності і їх корекція. Огляд міжнародних досліджень / Сіліна НК, Коваль ГМ, Сіліна ТН, та ін. *Слово про здоров'я*. 2019;19 (Акушерство). — URL: <https://ozdorovvvvie.com.ua/category/rozdili/akusherstvo-uk>.
24. Доброхотова ЮЭ, Ганковская ЛВ, Бахарева ИВ, Свитич ОА, Малушенко СВ, Магомедова АМ. Роль иммунных механизмов в патогенезе невынашивания беременности. *Акушерство и гинекология*. 2016; 7:5–10.
25. Дубовой АА. Тяжелая преэклампсия: особенности ангиогенного статуса: дис. ... канд. мед. наук. Ставрополь. 2016: 156 с.
26. Жабченко ІА. Проблеми відкладеного дітонародження: порушення фертильності у жінок старшого репродуктивного віку та методи їх корекції. *Репродуктивна ендокринологія*. 2019; 5 (49):43-49.

27. Жабченко ІА. Сучасний погляд на роль фолатів у профілактиці перинатальних проблем. Репродуктивна ендокринологія. 2019;2 (46):57-61.
28. Живецька-Денисова АА, Воробйова ІІ, Ткаченко ВВ, Рудакова НВ. Невиношування вагітності: сучасні підходи до діагностики, профілактики та лікування. Перинатологія та педіатрія. 2017;2 (70): 91-98.
29. Зайченко АВ. Фолаты и омега-3-ПНЖК в акушерстве: больше чем профилактика дефектов нервной трубки. Здоров'я України. Гінекологія. Акушерство. Репродуктологія. 2018; 1:1–4.
30. Инновационные подходы к коррекции микронутриентного статуса беременных и кормящих женщин / Жук СИ, Бондаренко КК. Здоровье женщины. 2016; 8:37-40.
31. Казова А, Прожерина Ю. Витаминно-минеральные комплексы для здоровья будущих мам и малышей Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике, 2017;1-2:36-40.
32. Камилова ІК, Миклин ОП, Гудзь ОВ, Зинченко АА. Коррекция фолатного статуса – проблемы и перспективы в Российской Федерации Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2019;3(25):120-128.
33. Камилова ІК, Миклин ОП, Зинченко АА, Гудзь ОВ. Гипертиреоидные состояния в акушерской и гинекологической практике. Синергия наук. 2018;30:1746-1753.
34. Карева ЕН, Зорина ЛА, Судницына МВ. Тетрагидрофолат: роль в прегравидарной подготовке и ведении беременности. Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2019;2 (24):59-63.
35. Керимкулова НВ, Громова ОА, Никифорова НВ. и др. Фармакоэкономический анализ витаминно-минеральных комплексов и препаратов отдельных микронутриентов для нутритивной поддержки беременности. Эффективная фармакотер. 2012. № 3.

- [Электронный ресурс]. URL: <http://umedp.ru/upload/iblock/e02/e02c04bb25d61bb7a48564db3cf25f2c>.
36. Клинические аспекты гипергомоцистеинемии: монография / [В. А. Снежицкий и др.]; под общ. ред. Снежицкого ВА, Пырочкина ВМ. Гродно: ГрГМУ, 2011: 290 с.
37. Коньков ДГ, Кливак ВВ, Таран ОА, Ластовецька ОБ. Сучасні клінічні аспекти ефективної профілактики гестаційної та фетальної патології. Репродуктивна ендокринологія. 2020;5(55):29–37.
38. Коньков ДГ, Старовер АВ. Обоснованность превентивного назначения L-аргинина в I триместре беременности при гестационной эндотелиопатии. Здоровье женщины. 2012; 9:92-96.
39. Коньков ДГ, Піскун АО. Особливості трансформації ендометріальних сегментів спіральних артерій при гестаційній ендотеліопатії. Тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини», 1 листоп. 2017 р., Запоріжжя. - Запоріжжя, 2017. - С. 56-58.
40. Коньков ДГ. Патогенез та профілактика перинатальних втрат, що обумовлені ендотеліальною дисфункцією: автореф. дис. ... доктора мед. наук. Вінниця, 2015: 38 с.
41. Коньков ДГ, Булаченко ОВ, Дудник ВМ, Буран ВВ. Сучасні аспекти патогенетично обумовленої профілактики преєклампсії. Перинатология и педиатрия. 2016;1: 46-50.
42. Коренная ВВ, Агишева ВВ, Любимова ЕА. Роль микронутриентных препаратов в периконцепционной профилактике акушерских осложнений и врожденных пороков развития. Гинекология. 2016;2(18):4-7.
43. Кузнецова НБ. Профилактика перинатальных осложнений у беременных с ретрохориальными гематомами с учетом их патогенеза: дис. ... канд. мед. наук / Н.Б. Кузнецова. Москва, 2017: 292 с.

44. Кузнецова ИВ, и соавт. Проблема тонкого эндометрия и возможные пути ее решения. Эффективная фармакотерапия. 2015; 1:15-25.
45. Курмачева НА, Харитонова ОМ, Верижникова ЕВ. Акушерские и перинатальные аспекты выбора фолатсодержащих препаратов при невынашивании беременности. Гинекология. 2016;18(6):51-55.
46. Ларина ТН, Супрун СВ. Фолатный цикл: патогенетические механизмы осложнений беременности (литературный обзор) Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2018; 70:113-120.
47. Ластовецкая ОБ. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов MTHFR и MTR у женщин с эмбриональными потерями. Austria-science. 2020;37(1):3-7.
48. Ластовецька ОБ, Булавенко ОВ. Оцінка ефективності використання 5-метилтетрагідрофолата за показниками гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну у вагітних жінок із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко. Вісник Вінницького Національного Медичного Університету. 2020;4(24):631-636.
49. Ластовецька ОБ, Булавенко ОВ, Коньков ДГ, Буран ВВ. Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі. Репродуктивна ендокринологія. 2020;3(53):55-60.
50. Мандрикова А. Предикторна роль активаційних маркерів апоптозу в індукції ранніх передчасних пологів у пацієнток після допоміжних репродуктивних технологій. Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П. Л. Шупика. 2018;29(1):36–41.
51. Махова АА, Максимов МЛ. Коррекция витаминного статуса у беременных. РМЖ. 2014; 14:1014-1018.

52. Машкина ЕВ, Коваленко ВА, Деверянчук ЕГ, Шкурат ТП. Ассоциация полиморфных вариантов генов фолатного цикла и интегринов с невынашиванием беременности. Медицинская генетика. 2013; 1: 40-5.
53. Мшак-Манукян Гоар Н, Оптимизация прегравидарного обследования супружеской пары при невынашивании беременности: дис. ... канд. мед. наук. Челябинск, 2017:177 с.
54. Наумов АВ, Данильчик ИВ, Сарана ЮВ. Три пути реметилирования гомоцистеина. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2016; 2:27-32.
55. Невзорова ИА. Клиническая значимость клеточных маркеров эндотелиальной дисфункции при отслойке хориона у женщин с ранними репродуктивными потерями: дис. ... канд. мед. наук. Иркутск, 2015: 117 с.
56. Нефедова ДД. Роль факторов врожденного и адаптивного иммунитета в генезе невынашивания беременности: дис. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2016: 156 с.
57. Николаева МГ. Репродуктивно-значимая реализация мутации Лейден иперсонифицированный подход к профилактике осложненного течения беременности: дис. ... канд. мед. Наук. Санкт-Петербург, 2018: 297 с.
58. Носкова ИН. Потеря беременности в ранние сроки: прогнозирование и профилактика: дис. ... канд. мед. наук. Кемерово, 2013: 119 с.
59. Перетятко ЛП, Фатеева НВ, Кузнецов РА, Малышкина АИ. Особенности ремоделирования и спирализации артерий гравидарного эндометрия у женщин с привычным невынашиванием беременности ранних сроков, сопряженным с хроническим эндометритом. Современные проблемы науки и образования. 2019; 2:8-12.

60. Порівняльна оцінка моделей генетичного ризику репродуктивних розладів, зумовлених поліморфізмом генів MTHFR, MTRR, MTR1 / Россоха ЗБ, Кир'яченко СП, Горovenко НГ. Мед. Перспективи. 2018; XXIII (2):85–91.
61. Посисеева ЛВ. Резервы профилактики репродуктивных потерь. Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2015;5: 74-77.
62. Прегравидарная подготовка: клинический протокол / М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2016: 80 с.
63. Профілактика передчасних пологів: метод. рекомендації / уклад.: Конько ДГ, Булавенко ОВ, Галич СР, та ін. ; Укр.центр наук. мед. інформації та патентно-ліценз. роботи ; ВНМУ ім. М. І. Пирогова. Київ, 2017: 56 с.
64. Прохоренко ТС, Зима АП, Саприна ТВ, Новицкий ВВ, Тодосенко НМ, Литвинова ЛС. Цитокиновый статус беременных с метаболическими нарушениями. Медицинская иммунология. 2017;19(3):301-306.
65. Пустотина ОА. Достижения и риски применения фолатов / Медицинский совет, 2015;5:92-99.
66. Пустотина ОА, Ахмедова АЭ. Роль фолатов в развитии осложненной беременности // Здоровье женщины. 2017;1(117):56-61.
67. Радзинский ВЕ. Неразвивающаяся беременность: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017: 176 с.
68. Радзинский ВЕ, Рябинкина ТС, Бриль ЮА, Симоновская ХЮ. Коррекция рациона беременных: доказательные данные (информационный бюллетень). Редакция журнала Status Praesens, 2018: 28 с.
69. Рекомендации по оказанию дородовой помощи для формирования положительного опыта беременности / Женева: ВОЗ, 2017 г. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

70. Россоха ЗІ, Кир'яченко СП, Горовенко НГ. Роль міжгенної взаємодії MTHFR, MTRR, MTR1 у розвитку порушень фолатного обміну у пацієнток із репродуктивними розладами. Український Медичний Часопис. 2018;3(125):1-5.
71. Соколов ДИ. Васкулогенез и ангиогенез в развитии плаценты. Журнал акушерства и женских болезней. 2007; LVI(3):129-133.
72. Соловьева АВ, Геворгян ДА. Прогнозирование и предупреждение осложненной гестации. Возможно ли это? Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения. 2019;3(25):88-92.
73. Старший репродуктивный возраст: контрацепция и не только. Рациональная контрацепция женщин старшего возраста: контрацептивные и не контрацептивные аспекты. Информ. бюллетень / Рябинкина ТС, Симоновска ХЮ, Руднева ОД. ; под ред. Радзинского ВЕ. – М.: Редакция журнала StatusPraesens, 2014. – 16 с.
74. Стрижаков АН, Белоусова ВС, Свитич ОА. Клиническое значение Toll-подобных рецепторов в патогенезе преждевременных родов. Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2016;1(15): 35-40.
75. Стрижова ТВ. Повторные потери беременности: роль хронического эндометрита (патогенез и диагностика): дис. ... канд. мед. наук. Москва, 2012: 105 с.
76. Супрун СВ, Ларина ТН, Козлов ВК, Чижова ГВ, Морозова ОН, Кудряшова ОС. Структура полиморфизма гена фолатного цикла (MTHFR) у беременных женщин коренного и пришлого населения. Таврический медико-биологический вестник. 2013;16(2):115-118.
77. Сучасні аспекти раціональної терапії загрозливого викидня / Коньков ДГ, Старовер АВ, Буртяк НГ. Здоров'я України. Тематичний випуск "Гінекологія. Акушерство. Репродуктологія". 2016;4(24):50-52.

78. Тетруашвили НК. Привычный выкидыш. *Акушерство и гинекология: Новости. Мнения. Обучения.* 2017; 4: 1-18.
79. Третьякова ТБ, Демченко НС. Ассоциация полиморфных маркеров генов метаболизма фолатов с ранними потерями беременности. *Акушерство, гинекология и репродукция.* 2018;12 (1):42-52.
80. Тютюнник ВЛ, Кан НЕ, Михайлова ОИ, Шувалова МП. Витаминная поддержка во время беременности. *РМЖ. Мать и дитя.* 2016;5:294-296.
81. Хилькевич ЕГ, Языкова ОИ. Витамины для беременных. Активные фолаты со стопроцентным усвоением. *Медицинский совет.* 2017;2:48-50.
82. Ходжаева ЗС, Блинецкая СЛ. Мутация гена MTHFR C677T и синдром репродуктивных потерь. *Вестник РУДН, серия Медицина.* 2009;6:339-343.
83. Щелочков АМ, Сараева НВ. Селективная профилактика репродуктивных потерь и неудач применения ВРТ у пациентов с полиморфизмами гена MTHFR. Сб. тезисов докладов XXVII Ежегод. междунар. конф. РАРЧ «Репродуктивные технологии сегодня и завтра» (симпозиум РАРЧ/IFFS). Санкт-Петербург, 6–9 сентября 2017:285–288.
84. Щелочков АМ, Романова ЕЮ, Полушина НМ, с соавт. Особенности прегравидарной подготовки и профилактики репродуктивных потерь при нарушениях фолатного метаболизма. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.* 2018;6(4):59–64.
85. Amrane S, McConnell R. Endocrine causes of recurrent pregnancy loss. *Semin Perinatol.* 2019;43(2):80-83.



86. Andraweera PH, Dekker GA, Roberts CT. The vascular endothelial growth factor family in adverse pregnancy outcomes. *Hum.Reprod. Update.* 2012;18(4): 436-457.
87. Arias-Sosa LA, Acosta ID, Lucena-Quevedo E, Moreno-Ortiz H, Esteban-Pérez C, Forero-Castro M. Genetic and epigenetic variations associated with idiopathic recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(3):355-366.
88. Bae J, Shin SJ, Cha SH et al. Prevalent genotypes of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR C677T and A1298C) in spontaneously aborted embryos. *FertilSteril.* 2007;87(2):351-5.
89. Barut MU, Bozkurt M, Kahraman M, et al. Thrombophilia and recurrent pregnancy loss: The Enigma Continues. *Med Sci Monit.* 2018; 24:4288-4294.
90. Bashiri A, Halper KI, Orvieto R. Recurrent Implantation Failure-update overview on etiology, diagnosis, treatment and future directions. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):121.
91. Biesalski HK, Tinz J. Multivitamin/mineral supplements: Rationale and safety. *Nutrition.* 2017; 36:60-66.
92. Bigdeli R, Younesi MR, Panahnejad E, et al. Association between thrombophilia gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss risk in the Iranian population. *Syst Biol Reprod Med.* 2018;64(4):274-282.
93. Blue NR, Page JM, Silver RM. Genetic abnormalities and pregnancy loss. *Semin Perinatol.* 2019;43(2):66-73.
94. Borzenko I, Konkov D, Kondratova I, Basilayshvili O, Gargin V. Influence of endotheliopathy of spiral arteries on placental ischemia // *GeorgianMedNews.* 2019;11(296):131-34.
95. Caffrey A, Irwin RE, McNulty H, et al. Gene-specific DNA methylation in newborns in response to folic acid supplementation during the second and third trimesters of pregnancy: epigenetic analysis from a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2018;107(4):566-575.

96. Carp H. Immunotherapy for recurrent pregnancy loss. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019 Oct;60:77-86.
97. Carp HJA. Progestogens and pregnancy loss. *Climacteric.* 2018;21(4):380-384.
98. Castaño E, Piñuñuri R, Hirsch S, Ronco AM. Folatos y Embarazo, conceptos actuales: ¿Es necesaria una suplementación con Acido Fólico? [Folate and Pregnancy, current concepts: It is required folic acid supplementation?]. *Rev Chil Pediatr.* 2017;88(2):199-206.
99. Castano E, Yildirim S, Fáberová V, Krausová A, Uličná L, Paprčková D, Sztacho M, Hozák P. Nuclear Phosphoinositides-Versatile Regulators of Genome Functions. *Cells.* 2019;8(7):649.
100. Catalano PM, Shankar K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long term adverse consequences for mother and child. *BMJ.* 2017;356:j1.
101. Chan DMK, Cheung KW, Ko JKY, Yung SSF, Lai SF, Lam MT, Ng DYT, Lee VCY, Li RHW, Ng EHY. Use of oral progestogen in women with threatened miscarriage in the first trimester: a randomized double-blind controlled trial. *Hum Reprod.* 2020; Dec 17: deaa327.
102. Chappell LC, Enye S, Seed P, Briley AL, Poston L, Shennan AH. Adverse perinatal outcomes and risk factors for preeclampsia in women with chronic hypertension: a prospective study. *Hypertension.* 2008;51(4):1002-9.
103. Charles D, Ness AR, Campbell D. et al. Taking folate in pregnancy and risk of maternal breast cancer. *BMJ.* 2004;329(7479):1375–1376.
104. Chiokadze M, Kristesashvili J. Immunobiological mechanisms and management of recurrent pregnancy loss. *Georgian Med News.* 2019;(291):26-31.

105. Colley E, Hamilton S, Smith P, Morgan NV, Coomarasamy A, Allen S. Potential genetic causes of miscarriage in euploid pregnancies: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2019;25(4):452-472.
106. Coomarasamy A, Harb HM, Devall AJ, Cheed V, et al. Progesterone to prevent miscarriage in women with early pregnancy bleeding: the PRISM RCT. *Health Technol Assess*. 2020 Jun;24(33):1-70.
107. Cordero AM, Crider KS, Rogers L, Cannon MJ et al. Optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects: World Health Organization guidelines // *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep*. 2015; 64(15):421– 423.
108. Czeizel AE The primary prevention of birth defects: Multivitamins or folic acid? *Int. J. Med. Sci*. 2004; 1(1): 50–61.
109. Czeizel A, Dudas, I, Vereczkey, A, et al. Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. *Heart Defects Nutrients*. 2013;5(11):4760–75.
110. Dang VQ, Nguyen LK, Pham TD, et al. Pessary compared with vaginal progesterone for the prevention of preterm birth in women with twin pregnancies and cervical length less than 38 mm: A randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2019;133(3):459-467.
111. De Carolis S, Moresi S, Rizzo F, et al. Autoimmunity in obstetrics and autoimmune diseases in pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2019; 60:66-76.
112. Dethlefsen L, McFall-Ngai M, Relman DA. Anecological and evolutionary perspective on human-microbe mutualism and disease. *Nature*. 2007;449(7164):811-888.
113. DeVilbiss EA, Mumford SL, Sjaarda LA, et al. Preconception folate status and reproductive outcomes among a prospective cohort of folate-replete women. *Am J Obstet Gynecol*. 2019;221(1):51.e1-51.e10.
114. Dimac-Stohl KA, Davies CS, Grebe NM, et al. Incidence and biomarkers of pregnancy, spontaneous abortion, and neonatal loss during

an environmental stressor: Implications for female reproductive suppression in the cooperatively breeding meerkat. *Physiol Behav.* 2018;193(Pt A):90-100.

115. Dimitriadis E, Menkhorst E, Saito S, Kutteh WH, Brosens JJ. Recurrent pregnancy loss. *Nat Rev Dis Primers.* 2020 Dec 10;6(1):98.

116. Dmytro Konkov, Oksana Lastovetska. The features of fetoplacental angiogenesis in pregnant women with anamnestic embryonic losses. The proceedings of the 19th World Congress of the Gynecological Endocrinology, (Florence 2-5 of December 2020). Florence (Italy). 2020:174.

117. Duffy JMN, AlAhwany H, Bhattacharya S, Collura B, et al. Core Outcome Measure for Infertility Trials (COMMIT) initiative. Developing a core outcome set for future infertility research: an international consensus development study. *Hum Reprod.* 2020 Dec 1;35(12):2725-2734.

118. Early pregnancy loss. ACOG Practice Bulletin No. 200. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol* 2018;132: e197–207.

119. Effect of homocysteine concentration in early pregnancy on gestation, hypertensive disorders and other pregnancy outcomes / Linda Dodds, Deshayne B. Fell, Kent C. Dooley et al. // *Clinical Chemistry* 2008;54(2):326–334.

120. El Hachem H, Crepaux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *Int J Womens Health.* 2017; 9:331-345.

121. Endothelin-dependent vasoconstriction in human uterine artery: application to preeclampsia / Clotilde Dechanet, Aurélie Fort, Elisabet Barbero-Camps, [et al.] // *PLoS ONE.* 2011;6(1):e16540. - P.1-8.

122. Ewington LJ, Tewary S, Brosens JJ. New insights into the mechanisms underlying recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(2):258-265.

123. Fallahi S, Rostami A, Nourollahpour Shiadeh M, Behniafar H, Paktinat S. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. 2018;47(3):133-140.
124. Fauque P, De Mouzon J, Devaux A, et al. Reproductive technologies, female infertility, and the risk of imprinting-related disorders. *Clin Epigenetics*. 2020;12(1):191.
125. Ferrara, N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2001;280(6):1358-1366.
126. Fischer-Betz R, Specker C. Pregnancy in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2017;31(3):397-414.
127. Forbes K., Westwood M. Maternal growth factor regulation of placental development and fetal growth. *J. Endocrinol*. 2010;207(1):1–16.
128. FortisMF, FragaLR, BoquettJA, et al. Angiogenesis and oxidative stress-related gene variants in recurrent pregnancy loss. *Reprod Fertil Dev*. 2018;30(3):498-506.
129. Gallot V, Nedellec S, Capmas P, et al. Fausses couches précoces «à répétition»: bilan et prise en charge [Early recurrent miscarriage: Evaluation and management]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2014;43(10):812-841.
130. Gibbins KJ, Mumford SL, Sjaarda LA, et al. Preconception antiphospholipid antibodies and risk of subsequent early pregnancy loss. *Lupus*. 2018;27(9):1437-1445.
131. Goldstein JA, Gallagher K, Beck C, Kumar R, Gernand AD. Maternal-Fetal Inflammation in the Placenta and the Developmental Origins of Health and Disease. *Front Immunol*. 2020 Nov 13; 11:531543.

132. Green DM, O'Donoghue K. A review of reproductive outcomes of women with two consecutive miscarriages and no living child. *J Obstet Gynaecol.* 2019;39(6):816-821.
133. Greenberg JA, Bell SJ, Guan Y. et al. Folic acid supplementation and pregnancy: more than just neural tube defect prevention. *Rev. Obstet. Gynecol.* 2011;4(2):52–59.
134. Guo EJ, Chung JPW, Poon LCY, Li TC. Reproductive outcomes after surgical treatment of Asherman syndrome: A systematic review. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2019; 59:98-114.
135. Haag M, Zemp E, Hersberger KE, Arnet I. Who Is Best to Test? A systematic review of chlamydia infections in Switzerland. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(24):9389.
136. Haider BA, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;4(4):CD004905.
137. Henkel A, Shaw KA. Advances in the management of early pregnancy loss. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2018;30(6):419-424.
138. Hickey SE, Curry CJ, Toriello HV. ACMG Practice Guideline: lack of evidence for MTHFR polymorphism testing. *Genet. Med.,* 2013.15(2):153–156.
139. Hind N Moussa, et al. Folic acid supplementation: what is new? Fetal, obstetric, long-term benefits and risks.” *Future Sci OA* 2016; 2(2):. FSO116.
140. Hoek J, Koster MPH, Schoenmakers S, et al. Does the father matter? The association between the periconceptional paternal folate status and embryonic growth. *Fertil Steril.* 2019;111(2):270-279.
141. Hogeveen M, Blom HJ, den Heijer M. Maternal homocysteine and small-for-gestational-age offspring: systematic review and meta-analysis // *Am. J. Clin. Nutr.* 2012;95(1):130–136.

142. Hong Li Y, Marren A. Recurrent pregnancy loss: A summary of international evidence-based guidelines and practice. *Aust J Gen Pract.* 2018;47(7):432-436.
143. [http://search.ligazakon.ua/l\\_doc2.nsf/link1/MOZ21729.html](http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/MOZ21729.html)
144. Hu L, Du J, Lv H, et al. Influence of factors of pregnancy loss and survival probability of clinical pregnancies conceived through assisted reproductive technology. *Reprod Biol Endocrinol.* 2018;16(1):74.
145. Iffath SM. Doppler study of umbilical & fetal middle cerebral artery in severe preeclampsia in intrauterine growth restriction & correlation with perinatal outcome: diss. For PhD. / Syeda Monsina Iffath. The Rajiv Gandhi University of Health Sciences. Karnataka. 2014. 74 p.
146. Ignaszak-Kaus N, Ozegowska K, Piekarski P, Pawelczyk L, Jędrzejczak P. Planning and preparation for pregnancy among women with and without a history of infertility. *Ginekol Pol.* 2018;89(2):74-79.
147. Irwin RE, Pentieva K, Cassidy T, Lees-Murdock DJ et al. The interplay between DNA methylation, folate and neurocognitive development. *Epigenomics.* 2016;8(6):863–879.
148. Is folic acid good for everyone? / Smith A.D., Kim Y.I., Refsum H. // *Am. J. Clin. Nutr.* 2008;87(3):517-533.
149. Jena MK, Nayak N, Chen K, Nayak NR. Role of Macrophages in Pregnancy and Related Complications. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2019;67(5):295-309.
150. Jevc YB, Davies W. Evidence-based management of recurrent miscarriages. *J Hum Reprod Sci.* 2014;7(3):159-169.
151. Jusić A, Balić D, Avdić A, Pođanin M, Balić A. The association of factor VG1961A (factor V Leiden), prothrombin G20210A, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Bosnian women. *Med Glas (Zenica).* 2018;15(2):158-163.

152. Kardi MT, Yousefian E, Allahveisi A, Alaei S. Association of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A Polymorphisms in Women with Recurrent Pregnancy Loss in Isfahan Province, Iran. *Int J Prev Med.* 2018; 9:13.
153. Kaser D. The status of genetic screening in recurrent pregnancy loss. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 2018;45(1):143-154.
154. Kasman AM, Zhang CA, Li S, Lu Y, Lathi RB, Stevenson DK, Shaw GM, Eisenberg ML. Association between preconception paternal health and pregnancy loss in the USA: an analysis of US claims data. *Hum Reprod.* 2020 Dec 18: deaa332.
155. Keats EC, Haider BA, Tam E, Bhutta ZA. Multiple-micronutrient supplementation for women during pregnancy // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2019; 3: CD 004905.
156. Keighley CL, Skrzypek HJ, Wilson A, Bonning MA, Gilbert GL. Infections in pregnancy. *Med J Aust.* 2019;211(3):134-141.
157. Kitaya K, Takeuchi T, Mizuta S, Matsubayashi H, Ishikawa T. Endometritis: newtime, newconcepts. *Fertil Steril.* 2018;110(3):344-350.
158. Kitaya K, Matsubayashi H, Yamaguchi K. Chronic endometritis: potential cause of infertility and obstetric and neonatal complications. *Am. J. Reprod. Immunol.* 2016;75(1):13-22.
159. Kocsis MG, Ranocha P, Gage DA, Simon ES, Rhodes D, Peel GJ, et al. Insertional inactivation of the methionine S-methyltransferase gene eliminates the S-methylmethionine cycle and increases the methylation ratio. *Plant Physiol.* 2003; 131 (4): 1808–15.
160. Konkov DG, Zaporozhan VM, Grinevich VN. Abnormal spiral artery remodelling in the decidual segment during gestational endotheliopathy. *Proceedings of the 3rd European Conference on Biology and Medical Sciences / «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna, 2014:76-81.*



161. Konkov DG, Piskun AO. The features of placental angiogenesis in early preeclampsia. Actual questions of modern gynecology and perinatology. 2018; 4:25-29.
162. Konkov D. The expression of sPECAM-1 and sVCAM-1 in the genesis of gestational endotheliopathy. The abstract book of the 17th World Congress of the Academy of Human Reproduction, (Rome, Italy. 15-18 March 2017). - URL: <http://hr2017.humanreacademy.org/abstractbook/pdf/abs5679.pdf>.
163. Konkov D. The preventive strategy of cervical in competency / D. Konkov, O. Bulavenko, A. Zhurauleu. The abstract book of the 18<sup>th</sup> World Congress of the Gynecological Endocrinology, (Florence, 7-10 March 2018). - Florence (Italy), 2018:166.
164. Konkov DG. Placental expression of plasminogen activator inhibitor-1 and tissue-type plasminogen activators in gestational endotheliopathy. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2017;21(1):213-216.
165. Konkov DG. The influence of the preventive treatment by levels of s-PECAM-1 and s-VCAM-1 among pregnant woman with gestational endotheliopathy. Science and Innovation in the XXI Century. Collection of Conference Papers of International Scientific-Practical Conference (13-14.04.2015, the United Kingdom, London). – u-conferences.org / Centre for Scientific and Practical Studies, 2015:6-8.
166. Konkov DG, Piskun AO, Taran OA, Kostur GV. Specialties of hystomorphometrical changes in placenta of women with early and late preeclampsia. Wiadomości Lekarskie. 2020;73(1):151-155.
167. Korir ML, Manning SD, Davies HD. Intrinsic Maturational Neonatal Immune Deficiencies and Susceptibility to Group B Streptococcus Infection. Clin Microbiol Rev. 2017 Oct;30(4):973-989.
168. Krikke GG, Grooten IJ, Vrijkotte TG, van Eijsden M, Roseboom TJ, Painter RC. Vitamin B12 and folate status in early pregnancy and

cardiometabolic risk factors in the offspring at age 5–6 years: findings from the ABCD multi-ethnic birth cohort. *BJOG*. 2016; 123(3):384–392.

169. Kumar KS, Govindaiah V, Naushad SE. et al. Plasma homocysteine levels correlated to interactions between folate status and methylene tetrahydrofolate reductase gene mutation in women with unexplained recurrent pregnancy loss. *J Obstet Gynaecol*. 2003; 23: 55-8.

170. Lala PK, Nandi P. Mechanisms of trophoblast migration, endometrial angiogenesis in preeclampsia: The role of decorin. *Cell Adh Migr*. 2016;10(1-2):111-125.

171. Lessey BA, Young SL. What exactly is endometrial receptivity?. *Fertil Steril*. 2019;111(4):611-617.

172. Levine SZ, Kodesh A, Viktorin A, et al. Association of maternal use of folic acid and multivitamin supplements in the periods before and during pregnancy with the risk of autism spectrum disorder in offspring. *JAMA Psychiatry*. 2018;75(2):176-184.

173. Li S, Hou Y, Yan X, et al. Joint effects of folate and vitamin B<sub>12</sub> imbalance with maternal characteristics on gestational diabetes mellitus. *J Diabetes*. 2019;11(9):744-751.

174. Lintas C. Linking genetics to epigenetics: The role of folate and folate-related pathways in neurodevelopmental disorders. *Clin Genet*. 2019;95(2):241-252.

175. Liu C, Wang Q, Zhang Z. Supplementation of folic acid in pregnancy and the risk of preeclampsia and gestational hypertension: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(4):697-704.

176. Liu L, Sun D. Pregnancy outcomes in patients with primary antiphospholipid syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2019;98(20):e15733.

177. Looman M, van den Berg C, Geelen A, et al. Supplement use and dietary sources of folate, vitamin D, and n-3 fatty acids during preconception: The GLIMP2 Study. *Nutrients*. 2018;10(8):962.
178. Madhari RS, Boddula S, Ravindranadh P, et al. High dietary micronutrient inadequacy in peri-urban school children from a district in South India: Potential for staple food fortification and nutrient supplementation. *Matern Child Nutr*. 2020;16 Suppl 3(Suppl 3):e13065.
179. Magnus MC, Wilcox AJ, Morken NH, Weinberg CR, Håberg SE. Role of maternal age and pregnancy history in risk of miscarriage: prospective register based study. *BMJ* 2019;364: 1869
180. Mahajan N, Sharma S. The endometrium in assisted reproductive technology: How thin is thin? *J Hum Reprod Sci*. 2016;9(1):3-8.
181. Martini AE, Healy MW. Polycystic Ovarian Syndrome: impact on adult and fetal health. *Clin Obstet Gynecol*. 2020.
182. Mascarenhas M, Habeebullah S, Sridhar MG. et al. Revisiting the role of i rst trimester homocysteine as an index of maternal and fetal outcome. *J. Pregnancy*. 2014; 2014:ID 123024.
183. Mayoral Andrade G, Vásquez Martínez G, Pérez-Campos Mayoral L, et al. Molecules and Prostaglandins Related to Embryo Tolerance. *Front Immunol*. 2020; 11:555414.
184. McNulty H, Ward M, Hoey L, Hughes CF, Pentieva K. Addressing optimal folate and related B-vitamin status through the lifecycle: health impacts and challenges. *Proc Nutr Soc*. 2019;78(3):449-462.
185. McStay CL, Prescott SL, Bower C, Palmer DJ. Maternal folic acid supplementation during pregnancy and childhood allergic disease outcomes: A question of timing? *Nutrients*. 2017;9(2):123.
186. Methodological issues of determining concentrations of some cytokines in peripheral mblood from healthy individuals /N. A. Arsentieva, AregA. Totolian// *Medical Immunology (Russia)*, 2018; 520:763.

187. Michels RA, Wactavski-Wende J, Mills JL, et al. Folate, homocysteine heart defects. *Hum Reprod* 2017;32(8):1743–50.
188. Modzelewski J, Kajdy A, Rabijewski M. The role of lymphocytes in fetal development and recurrent pregnancy loss. *Ginekol Pol.* 2019;90(2):109-113.
189. Morita K, Ono Y, Takeshita T, et al. Risk Factors and Outcomes of Recurrent Pregnancy Loss in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 2019;45(10):1997-2006.
190. Morris JK, Springett AL, Greenlees R, et al. Trends in congenital anomalies in Europe from 1980 to 2012. *PLoS One.* 2018;13(4):e0194986.
191. Naert MN, Khadraoui H, Muniz Rodriguez A, Fox NS. Stratified risk of pregnancy loss for women with a viable singleton pregnancy in the first trimester. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020 Nov 22:1-7.
192. Naert MN, Khadraoui H, Muniz Rodriguez A, Naqvi M, Fox NS. Association between first-trimester subchorionic hematomas and pregnancy loss in singleton pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2019 Aug;134(2):276-281.
193. Naert MN, Muniz Rodriguez A, Khadraoui H, Naqvi M, Fox NS. Association between first-trimester subchorionic hematomas and adverse pregnancy outcomes after 20 weeks of gestation in singleton pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2019 Oct;134(4):863-868.
194. Neal SA, Morin SJ, Franasiak JM, et al. Preimplantation genetic testing for aneuploidy is cost-effective, shortens treatment time, and reduces the risk of failed embryo transfer and clinical miscarriage. *Fertil Steril.* 2018;110(5):896-904.
195. Pat. US 5631127 A, Int. Cl. C12Q 1/00, C12Q 1/34, G01N 33/53, A01N 55/02. Enzymatic assay for homocysteine and a kit therefor [Text] / E. Sundrehagen; Axis Biochemicals AS (Норвегия). – 422104; appl.16.05.1995; publ. 20.05.1997.

196. Petersen JF, Andersen AN, Klein BM, Helmgaard L, Arce JC. Luteal phase progesterone and oestradiol after ovarian stimulation: relation to response and prediction of pregnancy. *Reprod Biomed Online*. 2018;36(4):427-434.
197. Piskun A, Konkov D, Lastovetska O. Patomorphological changes in placenta in women with early and late preeclampsia. The proceedings of the 27th biannual European Congress of Obstetrics and Gynaecology EBCOG, (Bergen, 14-16 of May 2020). Bergen (Norway). 2020. - ID 26495.
198. Plana-Ripoll O, Parner E, Olsen J, Li J. Severe stress following bereave ment during pregnancy and risk of pregnancy loss: results from apopulation-basedcohort study. *J EpidemiolCommunityHealth* 2016; 70:424–429.
199. Popescu F, Jaslow CR, Kutteh WH. Recurrent pregnancy loss evaluation combined with 24-chromosome microarray of miscarriage tissue provides a probable or definite cause of pregnancy loss in over 90% of patients. *Hum Reprod*. 2018;33(4):579-587.
200. Prinz-Langenohl R, Brdmswig S, Tobolski O, et al. (6S)-5-methyltetrahydrofolate increases plasma folate more effectively than folic acid in women with the homozygous or wildtype 677C>T polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase // *Br. J. Pharmacol*. 2009;158(8):2014–2021.
201. Puri M, Kaur L, Walia GK, et al. MTHFR C677T polimorphism, folate, vitamin B12 and homocysteine in reccurent pregnancy losses: a case control study among North Indian women. *J. Perinat. Med*. 2013;41(5):549–554.
202. Raghavan R, Dreibelbis C, Kingshipp BL, Wong YP, et al. Dietary patterns before and during pregnancy and birth outcomes: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2019 Mar 1;109(Suppl\_7):729S-756S.

203. Raghavan R, Riley AW, Volk H, et al. Maternal multivitamin intake, plasma folate and vitamin B<sub>12</sub> levels and autism spectrum disorder risk in offspring. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2018;32(1):100-111.
204. Rao M, Zeng Z, Zhou F, et al. Effect of levothyroxine supplementation on pregnancy loss and preterm birth in women with subclinical hypothyroidism and thyroid autoimmunity: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2019;25(3):344-361.
205. Rasmak Roepke E, Hellgren M, Hjertberg R, et al. Treatment efficacy for idiopathic recurrent pregnancy loss - a systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2018;10.1111/aogs.13352.
206. Regidor PA, Schindler AE, Lesoine B, Druckman R. Management of women with PCO Susingmyo-inositol and folic acid. New clinical data and review of the literature. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2018;34(2):/j/hmbci.2018.34.issue-2/hmbci-2017-0067/hmbci-2017-0067.xml
207. Robertson SA, Chin PY, Femia JG, Brown HM. Embryotoxic cytokines. Potential roles in embryo loss and fetal programming. *J Reprod Immunol*. 2018; 125:80-88.
208. Rodrigues VO, Soligo AGES, Pannain GD. Antiphospholipid antibody syndrome and infertility. Síndrome anticorpo antifosfolípide e infertilidade. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2019;41(10):621-627.
209. Rossen LM, Ahrens KA, Branum AM. Trends in risk of pregnancy loss among US women, 1990-2011. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2018;32(1):19-29.
210. Royal College of Obstetricians & Gynaecologists. The investigation and treatment of couples with recurrent first-trimester and second trimester miscarriage. Guideline No. 17, (Update February 2017).
211. Scheres LJJ, Bistervels IM, Middeldorp S. Everything the clinician needs to know about evidence-based anticoagulation in pregnancy. *Blood Rev*. 2019; 33:82-97.

212. Schiffer V, Evers L, de Haas S, Ghossein-Doha C, Al-Nasiry S, Spaanderman M. Spiral artery blood flow during pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2020;20(1):680.
213. Schreiber K, Hunt BJ. Managing antiphospholipid syndrome in pregnancy. *Thromb Res*. 2019;181 Suppl 1:S41-S46.
214. Semeniuk LM, Likhachov VK, Yuzvenko TY, Dobrovolska LM, Makarov OG. Risk markers of reproductive loss in women with hyperandrogenism. *Wiad Lek*. 2018;71(8):1550-1553.
215. Seok J, Jun S, Lee JO, Kim GJ. Mitochondrial Dynamics in Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Regulate the Invasion Activity of Trophoblast. *Int J Mol Sci*. 2020;21(22):8599.
216. Serapinas D, Boreikaite E, Bartkeviciute A, Bandzeviciene R, Silkunas M, Bartkeviciene D. The importance of folate, vitamins B6 and B12 for the lowering of homocysteine concentrations for patients with recurrent pregnancy loss and MTHFR mutations. *Reprod Toxicol*. 2017;72:159-163.
217. Sharman Moser S, Davidovitch M, Rotem RS, Chodick G, Shalev V, Koren G. Highdose folic acid during pregnancy and the risk of autism; The birth or death bias: A nested case-control study. *Reprod Toxicol*. 2019;89:173-177.
218. Shilpa AV, Zubaida PA, Rajalekshmi G. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy and preeclampsia and its relation with oxidative stress. *Int J Res Med Sci* 2017; 5:330-4.
219. Smith SD, Dunk CE, Aplin JD. Evidence for immune cell involvement in decidua spiral arteriole remodeling in early human pregnancy. *Am. J. Pathol*. 2009;174:1959-1971.
220. Spanish Infertility SWOT Group (SISG), Checa MA, Bellver J, et al. Hysteroscopic septum resection and reproductive medicine: A SWOT analysis. *Reprod Biomed Online*. 2018;37(6):709-715.

221. Sun X, Hou N, Wang H, Ma L, Sun J, Liu Y. A meta-analysis of pregnancy outcomes with levothyroxine treatment in euthyroid women with thyroid autoimmunity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(4):dgz217.
222. Sun YF, Zhang J, Xu YM, Cao ZY, Wang YZ, Hao GM, Gao BL. High BMI and insulin resistance are risk factors for spontaneous abortion in patients with polycystic ovary syndrome undergoing assisted reproductive treatment: A systematic review and meta-analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020 Dec 3;11:592495.
223. Szczuko M, Kikut J, Komorniak N, Bilicki J, Celewicz Z, Ziętek M. The Role of arachidonic and linoleic acid derivatives in pathological pregnancies and the human reproduction process. *IntJMolSci.* 2020 Dec 17;21(24):E9628.
224. The association between thrombophilic gene mutations and recurrent pregnancy loss / A. Poursadegh Zonouzi, N. Chaparzadeh, S. Ghorbian, et al. *J. Assist. Reprod. Genet.* 2013;30(10):1353-1359.
225. The combined therapy for the first trimester retrochorial hematoma in patients with pregnancy loss / AM Torchinov, MM Umakhanova, G.L. Doronin et al. *Rus. J. Hum. Reprod.* 2014;1:82-86.
226. The connection between Arg353Gln polymorphism of coagulation factor VII and recurrent miscarriages / A Seremak-Mrozikiewicz, K Drews, G Kurzawińska, et al. *Ginekol. Pol.* 2009;80(1):8-13.
227. The ESHRE Guideline Group on RPL, Ruth Bender Atik, Ole Bjarne Christiansen, Janine Elson, Astrid Marie Kolte, Sheena Lewis, Saskia Middeldorp, Willianne Nelen, Braulio Peramo, Siobhan Quenby, Nathalie Vermeulen, Mariëtte Goddijn, ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss, *Human Reproduction Open*, Volume 2018, Issue 2, 2018, hoy004.



228. The imbalance in expression of angiogenic and anti-angiogenic factors as candidate predictive biomarker in preeclampsia / P Nikuei, et al. // *Iran J Reprod. Med.* 2015;13(5):251-262.
229. Toth B, Würfel W, Bohlmann M, et al. Recurrent Miscarriage: Diagnostic and Therapeutic Procedures. Guideline of the DGGG, OEGGG and SGGG (S2k-Level, AWMF Registry Number 015/050). *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2018;78(4):364-381.
230. Trifonova EA, Swarovskaya MG, Ganzha OA, Voronkova OV, GabidulinaTV, StepanovVA. The interaction effect of angiogenesis and endothelial dysfunction-related gene variants increases the susceptibility of recurrent pregnancy loss. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(4):717-726.
231. Tu J, Lin G, Gong F. Additional luteal support might improve IVF outcomes in patients with low progesterone level in middle luteal phase following a GnRH agonist protocol. *Gynecol Endocrinol.* 2020;1-5.
232. Valencia-Ortega J, Zárata A, Saucedo R, Hernández-Valencia M, Cruz JG, Puello E. Placental Proinflammatory State and Maternal Endothelial Dysfunction in Preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2019;84(1):12-19.
233. Van Gool JD, Hirche H, Lax H, DeSchaepdrijver L. Folic acid and primary prevention of neural tubed effects: Areview. *Reprod Toxicol.* 2018; 80:73-84.
234. Velkeniers B, Van Meerhaeghe A, Poppe K, Unuane D, Tournaye H, Haentjens P. Levothyroxine treatment and pregnancy outcome in women with subclinical hypothyroidism undergoing assisted reproduction technologies: systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update.* 2013;19(3):251-258.
235. Wahabi HA, Fayed AA, Esmaeil SA, Bahkali KH. Progestogen for treating threatened miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;8(8):CD005943.

236. Wyck S, Herrera, C, Requena, C E, Bittner L, Hajkova P, Bollwein H, & Santoro, R. Oxidative stress in sperm affects the epigenetic reprogramming in early embryonic development. *Epigenetics & chromatin*. 2018;11(1):60.
237. Xiong YQ, Tan J, Liu YM, et al. The risk of maternal parvovirus B19 infection during pregnancy on fetal loss and fetal hydrops: A systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol*. 2019;114:12-20.
238. Xu J, Chen D, Duan X, Li L, Tang Y, Peng B. The association between antiphospholipid antibodies and late fetal loss: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(12):1523-1533.
239. Yeung EH, Park H, Nobles C, Mumford SL, Silver R, Schisterman EF. Cardiovascular disease family history and risk of pregnancy loss. *Ann Epidemiol*. 2019;34:40-44.
240. Youssef A, Vermeulen N, Lashley EELO, Goddijn M, van der Hoorn MLP. Comparison and appraisal of (inter)national recurrent pregnancy loss guidelines. *Reprod Biomed Online*. 2019;39(3):497-503.
241. Zaric BL, Obradovic M, Bajic V, Haidara MA, Jovanovic M, Isenovic ER. Homocysteine and Hyperhomocysteinaemia. *Curr Med Chem*. 2019;26(16):2948-2961.
242. Zhang T, Sun Y, Chen Z, Li T. Traditional and molecular chromosomal abnormality analysis of products of conception in spontaneous and recurrent miscarriage. *BJOG* 2018; 125: 414–420.

## Додаток А

## Додаток А1

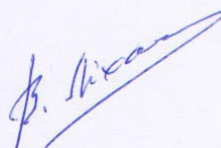

  
**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Перший проректор з науково-педагогічної роботи  
 Української медичної стоматологічної академії  
 професор  
 В.М.Дворник

“03 ” березня 2021 року

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Профілактичне використання препаратів, що містять активний метаболіт фолієвої кислоти для попередження перинатальної патології у жінок із попередніми втратами вагітності.
2. **Установа розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2, 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56. *Розробила: Ластовецька Оксана Богданівна*
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булаченко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія.* – 2020. - №3(53). – С.55-60.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** Українська медична стоматологічна академія, кафедра акушерства і гінекології №2.
5. **Результати застосування пропозиції та термін впровадження:** Матеріали використовуються у навчальному процесі кафедри акушерства і гінекології №2 УМСА; вересень 2020 р. – лютий 2021 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів наукового дослідження у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо профілактики звичного викидня у жінок із поліморфізмом ензимів генів фолатного циклу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри 02.03.2021 р (*ПРОТОКОЛ №12*)

Завідувач кафедри акушерства  
і гінекології №2  
Української медичної  
стоматологічної академії,  
д.мед.н., професор



В.К.Ліхачов

1. Узагальнені акти, впровадження затверджує зам. завідуючого відділом охорони здоров'я
2. Заповнюється розробником
3. Тільки по пропозиції, включених до республіканського плану впровадження
4. Заповнюється установою, яка проводила впровадження
5. До акту заносяться тільки ті показники, на які впливає впроваджувана розробка.

## Додаток А2

Україна  
 Комунальне некомерційне підприємство  
 «Ямпільська територіальна  
 лікарня» Ямпільської міської ради  
 Ідентифікаційний код 01982726  
 24500 Вінницька обл., м.Ямпіль,  
 вул.Пирогова, 1  
 « 01 » \_\_\_\_\_ 10 \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_\_ р.  
 № \_\_\_\_\_ 378 \_\_\_\_\_

“ЗАТВЕРДЖУЮ”  
 Медичний директор  
 КНП Ямпільська територіальна  
 лікарня ЯМР  
 Ідент. код 01982726  
 “ 1 ” \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_\_ р.

## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
 матеріалів наукового дослідження

- Найменування пропозиції для впровадження:** «Дослідження поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, як предиктор розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку».
- Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
- Джерела інформації:** Ластовецкая О.Б. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов *MTHFR* и *MTR* у женщин с эмбриональными потерями. *Austria-science*. 2020;37(1):3-7.
- Де впроваджено:** КНП «Ямпільська територіальна лікарня ЯМР м.Ямпіль для доклінічної діагностики патології вагітності.
- Термін впровадження:** Серпень 2020 р. – Лютий 2021 р.
- Форма впровадження:** впроваджено для предикції розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
- Ефективність впровадження:** Виявлення мінорного генотипу *TT rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* із подальшим персоніфікованим призначення профілактичної терапії дозволило зменшити на 31,4% випадків завмерлої вагітності та на 36,8% випадків плацентарної дисфункції у жінок із попередніми ембріональними втратами.
- Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

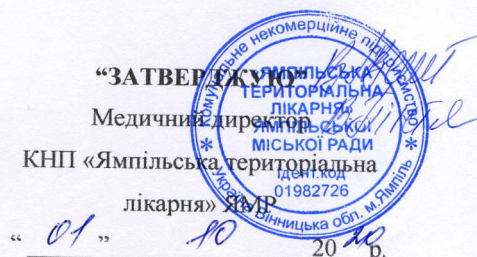
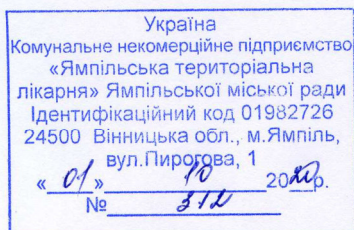
“ 1 ” \_\_\_\_\_ 10 \_\_\_\_\_ 20 \_\_\_\_\_ р.

Відповідальний за впровадження



Т.В.Ліваковська

## Додаток АЗ



## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання препарату що містить 5-метилтетрагідрофолат для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності».
2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булашенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..
4. **Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес жіночої консультації КНП «Ямпільська територіальна лікарня» Ямпільської міської ради на прегравідарному етапі.
5. **Термін впровадження:** Жовтень 2020 р. – Січень 2021 р.
6. **Форма впровадження:** впроваджено для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
7. **Ефективність впровадження:** Зниження випадків ранніх втрат вагітності на 20,8 %, вад розвитку плоду на 24,5%, випадків ЗВУР на 21,8 % у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

« 01 » 10 2020 р.

Відповідальний за впровадження



Т.В.Ліваковська

## Додаток А4

Україна Комунальне некомерційне підприємство «Ямпільська територіальна лікарня» Ямпільської міської ради Ідентифікаційний код 01982726 24500 Вінницька обл., м.Ямпіль, вул.Пирогова, 1 «01» 10 20 19 р. № 372
---

“ЗАТВЕРДЖУЮ”  
Медичний директор  
КНП «Ямпільська територіальна лікарня» ЯМР  
«01» 10 20 19 р.

## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження

**Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання 5-метилтетрагідрофолату для профілактики ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*».

**Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.

**Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія.* – 2020. - №3(53). – С.55-60..

**Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес центру планування сім'ї при КНП «Ямпільська територіальна лікарня» ЯМР на етапі планування вагітності.

**Термін впровадження:** Травень 2020 р. – Лютий 2021 р.

**Форма впровадження:** впроваджено для попередження ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Ефективність впровадження:** Зниження випадків ембріональних втрат вагітності на 24,2 %, ВВР плоду на 28,0%, випадків кров'яних виділень у першому триместрі вагітності на 32,4% у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Зауваження та пропозиції:** Не вносились  
«01» 10 20 19 р.

Відповідальний за впровадження



Т.В.Ліваковська

## Додаток А5

“ЗАТВЕРДЖУЮ”



Директор ТОВ «Клініка професора  
С.Хміля у Тернополі»

проф. С.В.Хміль

2020 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Використання молекулярно-діагностичного методу для предиктивної діагностики та прогнозування перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності.
2. **Установа розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56. *Розробила: Ластовецька Оксана Богданівна*
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія.* – 2020. - №3(53). – С.55-60.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** ТОВ «Клініка професора С.Хміля у Тернополі»
5. **Результати застосування пропозиції та термін впровадження:** Матеріали використовуються у роботі ТОВ «Клініка професора С.Хміля у Тернополі»; вересень 2020 р. – травень 2021 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів наукового дослідження щодо визначення значення поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, як предиктора розвитку акушерської патології у жінок із звичним невиношуванням.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

Медичний директор

Н.Я.Чудійович

## Додаток А6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Директор ТОВ «Клініка професора

С.Хміля у Тернополі»


проф. С.В.Хміль

09 20 19 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Профілактичне використання препаратів що містять активний метаболіт фолієвої кислоти для попередження перинатальної патології у жінок із попередніми втратами вагітності.
2. **Установа розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56. *Розробила: Ластовецька Оксана Богданівна*
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** ТОВ «Клініка професора С.Хміля у Тернополі»
5. **Результати застосування пропозиції та термін впровадження:** Матеріали використовуються у робочому процесі ТОВ «Клініка професора С.Хміля у Тернополі»; вересень 2020 р. – травень 2021 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів наукового дослідження у лікувальному процесі дозволяє попередити перинатальні втрати у жінок із поліморфізмом ензимів генів фолатного циклу.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

Медичний директор


 Н.Я.Чудійович



## Додаток А7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Директор ТОВ «Клініка професора  
С. Хмілья у Тернополі»

проф. С.В.Хміль

20 10 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Використання препаратів фолієвої кислоти та активних метаболітів фолатів для профілактики ранніх втрат вагітності у жінок при звичному невиношуванні».
2. **Установа розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56. *Розробила: Ластовецька Оксана Богданівна*
3. **Джерела інформації:** Сучасні клінічні аспекти ефективної профілактики гестаційної та фетальної патології / Д. Г. Коньков, В. В. Кливак, О. А. Таран, О. Б. Ластовецька // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. – № 5(55). – С. 29–37; Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFRС677Т та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булашенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:** ТОВ «Клініка професора С.Хмілья у Тернополі».
5. **Результати застосування пропозиції та термін впровадження:** ТОВ «Клініка професора С.Хмілья у Тернополі»; вересень 2020 р. – травень 2021 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3):** результати наукового дослідження дозволяють впроваджувати їх в лікувальний процес Клініки з метою профілактики звичних втрат невиношування.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

Медичний директор

Н.Я.Чудійович

## Додаток А8

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Проректор з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету ім.  
І.Я.Горбачевського МОЗ України



" 10 " \_\_\_\_\_ 20 20 р

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Пропозиції для впровадження:** Використання препаратів фолієвої кислоти та активних метаболітів фолатів для профілактики ранніх втрат вагітності у жінок при звичному невиношуванні».
2. **Установа розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.  
*Розробила: Ластовецька Оксана Богданівна*
3. **Джерела інформації:** Сучасні клінічні аспекти ефективної профілактики гестаційної та фетальної патології / Д. Г. Коньков, В. В. Кливак, О. А. Таран, О. Б. Ластовецька // *Репродуктивна ендокринологія.* – 2020. – № 5(55). – С. 29–37; Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія.* – 2020. - №3(53). – С.55-60.
4. **Базова установа яка проводить впровадження:**  
*Тернопільський медичний університет, кафедра акушерства і гінекології* ..... медичний університет, кафедра акушерства і гінекології ..... *документу на вивчення медико-освітні*
5. **Результати застосування пропозиції та термін впровадження:** Матеріали використовуються у навчальному процесі кафедри акушерства і гінекології .....; вересень 2020 р. – травень 2021 р.
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями, викладеними в джерелі інформації (п.3):** Використання результатів наукового дослідження у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо профілактичного призначення фолатів для попередження перинатальної патології у жінок із звичним невиношуванням.
7. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.
8. **Затверджено** на засіданні кафедри *10*.08.2020 р

Завідувач кафедри акушерства  
та гінекології факультету післядипломної освіти  
Тернопільського національного медичного університету  
Ім.. І.Я.Горбачевського МОЗ України

Д.мед.н. професор А.В.Бойчук

1. Узагальнені акти, впровадження затверджує зам. завідувачого відділом охорони здоров'я
2. Заповнюється розробником
3. Тільки по пропозиції, включених до республіканського плану впровадження
4. Заповнюється установою, яка проводила впровадження
5. До акту заносяться тільки ті показники, на які впливає впроваджувана розробка.

## Додаток А9

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор КНП

«ВОКЛ ім.М.І.Пирогова ВОР»

О.Б.Жупанов

“ 12 ” 01 20 21 р.



про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження

**Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання 5-метилтетрагідрофолату для профілактики ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*».

**Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.

**Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..

**Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес центру планування сім'ї, репродукції людини та медико-генетичного консультування при КНП «ВОКЛ ім.М.І.Пирогова ВОР» на етапі планування вагітності.

**Термін впровадження:** Травень 2020 р. – Лютий 2021 р.

**Форма впровадження:** впроваджено для попередження ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Ефективність впровадження:** Зниження випадків ембріональних втрат вагітності на 24,2 %, ВВР плоду на 28,0%, випадків кров'яних виділень у першому триместрі вагітності на 32,4% у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 12 ” 01 2021 р.

Відповідальний за впровадження

Керівник обласного перинатального центру  
к.мед.н.

І.Л.Кукуруза

## Додаток А10



“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Директор

КНП «ВОКЛ ім.М.І.Пирогова ВОР»

О.Б.Жупанов

“ 12 ” 01 20 21 р.

## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання препарату що містить 5-метилтетрагідрофолат для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності».
2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2, 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..
4. **Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес Центру планування сім'ї, репродукції людини і медико-генетичного консультування КНП «ВОКЛ ім.М.І.Пирогова ВОР» на прегравідарному етапі.
5. **Термін впровадження:** Жовтень 2020 р. – Січень 2021 р.
6. **Форма впровадження:** впроваджено для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
7. **Ефективність впровадження:** Зниження випадків ранніх втрат вагітності на 20,8 %, вад розвитку плоду на 24,5%, випадків ЗВУР на 21,8 % у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 12 ” 01 2021 р.

Відповідальний за впровадження

Керівник обласного перинатального центру

к.мед.н.

І.Л.Кукуруза



## Додаток А12

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Головний лікар/Директор  
 КНП «Калинівська ЦРЛ» КМР  
 Головащенко В.С.  
 ” \_\_\_\_\_ 2020р.

**АКТ**

про впровадження в практику охорони здоров'я  
 матеріалів наукового дослідження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання препарату що містить 5-метилтетрагідрофолат для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності».
2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..
4. **Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес жіночої консультації КНП «Калинівської ЦРЛ» КМР на прегравідарному етапі.
5. **Термін впровадження:** Жовтень 2020 р. – Січень 2021 р.
6. **Форма впровадження:** впроваджено для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
7. **Ефективність впровадження:** Зниження випадків ранніх втрат вагітності на 20,8 %, вад розвитку плоду на 24,5%, випадків ЗВУР на 21,8 % у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 8 ” \_\_\_\_\_ 11 \_\_\_\_\_ 2020р.

Відповідальний за впровадження

## Додаток А13

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Головний лікар/Директор  
 КНП «Калинівська ЦРЛ» КМР  
 Головащенко В.С.  
 “ 3 ” 11 20 20 р.

## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
 матеріалів наукового дослідження

**Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання 5-метилтетрагідрофолату для профілактики ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*».

**Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.

**Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..

**Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес центру планування сім'ї при КНП «Калинівської ЦРЛ» КМР на етапі планування вагітності.

**Термін впровадження:** Травень 2020 р. – Лютий 2021 р.

**Форма впровадження:** впроваджено для попередження ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Ефективність впровадження:** Зниження випадків ембріональних втрат вагітності на 24,2 %, ВВР плоду на 28,0%, випадків кров'яних виділень у першому триместрі вагітності на 32,4% у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 3 ” 11 2020 р.

Відповідальний за впровадження

## Додаток А14

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”**  
 Головний лікар/Директор  
 КНП «Калинівська ЦРЛ» КМР  
 Головащенко В.С.  
 “ 3 ” 11 20 20

## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
 матеріалів наукового дослідження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Дослідження поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, як предиктор розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку».
2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Джерела інформації:** Ластовецькая О.Б. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов *MTHFR* и *MTR* у женщин с эмбриональными потерями. *Austria-science*. 2020;37(1):3-7.
4. **Де впроваджено:** КНП «Калинівської ЦРЛ» КМР м. Калинівка для доклінічної діагностики патології вагітності.
5. **Термін впровадження:** Серпень 2020 р. – Лютий 2021 р.
6. **Форма впровадження:** впроваджено для предикції розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
7. **Ефективність впровадження:** Виявлення мінорного генотипу *TT rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* із подальшим персоналізованим призначення профілактичної терапії дозволило зменшити на 31,4% випадків замерлої вагітності та на 36,8% випадків плацентарної дисфункції у жінок із попередніми ембріональними втратами.
8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 3 ” 11 20 20

Відповідальний за впровадження



## Додаток А15

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор

КП Козятинська ЦРЛ



## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження

**Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання 5-метилтетрагідрофолату для профілактики ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*».

**Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.

**Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булашенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..

**Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес центру планування сім'ї при КП \_\_Козятинська ЦРЛ\_\_ на етапі планування вагітності.

**Термін впровадження:** Травень 2020 р. – Лютий 2021 р.

**Форма впровадження:** впроваджено для попередження ембріональних втрат у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Ефективність впровадження:** Зниження випадків ембріональних втрат вагітності на 24,2 %, ВВР плоду на 28,0%, випадків кров'яних виділень у першому триместрі вагітності на 32,4% у жінок пізнього репродуктивного віку із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*.

**Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“23” 09 2020 р.

Відповідальний за впровадження

Шлапак Т.Й.

## Додаток А16



## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я

матеріалів наукового дослідження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Дослідження поліморфізму *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR*, як предиктор розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку».

2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2, 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.

3. **Джерела інформації:** Ластовецькая О.Б. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов *MTHFR* и *MTR* у женщин с эмбриональными потерями. *Austria-science*. 2020;37(1):3-7.

4. **Де впроваджено:** КП Козятинська ЦРЛ м. \_Козятин\_ для доклінічної діагностики патології вагітності.

5. **Термін впровадження:** Серпень 2020 р. – Лютий 2021 р.

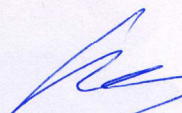
6. **Форма впровадження:** впроваджено для предикції розвитку перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.

7. **Ефективність впровадження:** Виявлення мінорного генотипу *TT rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* із подальшим персоналізованим призначення профілактичної терапії дозволило зменшити на 31,4% випадків завмерлої вагітності та на 36,8% випадків плацентарної дисфункції у жінок із попередніми ембріональними втратами.

8. **Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

23 09 20 р.

Відповідальний за впровадження

 Шлапак Т.Й.

## Додаток А17



## АКТ

про впровадження в практику охорони здоров'я  
матеріалів наукового дослідження


1. **Найменування пропозиції для впровадження:** «Використання препарату що містить 5-метилтетрагідрофолат для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними ранніми втратами вагітності».
2. **Ким запропоновано:** Ластовецька О.Б., Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра акушерства та гінекології №2. 21018, Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Джерела інформації:** Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом MTHFR C677T та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60..
4. **Де впроваджено:** Впроваджено у лікувальний процес жіночої консультації КП \_Козятинська ЦРЛ\_ на прегравідарному етапі.
5. **Термін впровадження:** Жовтень 2020 р. – Січень 2021 р.
6. **Форма впровадження:** впроваджено для профілактики перинатальної патології у жінок пізнього репродуктивного віку із попередніми ембріональними втратами.
7. **Ефективність впровадження:** Зниження випадків ранніх втрат вагітності на 20,8 %, вад розвитку плоду на 24,5%, випадків ЗВУР на

21,8 % у жінок пізнього репродуктивного віку із анамнестичними  
ранніми втратами вагітності.

**8. Зауваження та пропозиції:** Не вносились.

“ 23 ” 09 2020 р.

Відповідальний за впровадження

 Шлапак Т.Й.

## Додаток Б

### Список публікацій здобувача за темою дисертації:

1. Ластовецька О.Б., Булавенко О.В. Оцінка ефективності використання 5-метилтетрагідрофолата за показниками гомоцистеїну, метіоніну та бетаїну у вагітних жінок із поліморфізмом *rs1801133 (677 C>T)* гена *MTHFR* / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко // *Вісник Вінницького Національного Медичного Університету*. - 2020. - №4(24). – С.618-623. DOI: [https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2020-24\(4\)-10](https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2020-24(4)-10) (*Фахове видання України*).
2. Сучасні клінічні аспекти ефективної профілактики гестаційної та фетальної патології / Д. Г. Коньков, В. В. Кливак, О. А. Таран, О. Б. Ластовецька // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. – № 5(55). – С. 29–37. DOI:<https://doi.org/10.18370/2309-4117.2020.55.29-37>(*Фахове видання України. Видання включено до бази даних Scopus*).
3. Ластовецкая О.Б. Молекулярно-генетическое исследование частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов *MTHFR* и *MTR* у женщин с эмбриональными потерями. *Austria-science*. 2020;37(1):3-7 (*Фахове видання Австрії*).
4. Ефективність профілактичного застосування фолієвої кислоти і комплексу з активними фолатами в жінок із генетичним поліморфізмом *MTHFR C677T* та ембріональними втратами в анамнезі / О.Б. Ластовецька, О.В. Булавенко, Д.Г. Коньков, В.В. Буран // *Репродуктивна ендокринологія*. – 2020. - №3(53). – С.55-60. DOI: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2020.53.55-60> (*Фахове видання України. Видання включено до бази даних Scopus*).
5. Булавенко О.В., Ластовецька О.Б. Сучасні аспекти перебігу вагітності у жінок пізнього репродуктивного віку. *Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини*: зб. тез доп. всеукраїнської міжнар. наук. -практ. конф. (м. Запоріжжя, 1 листопада 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 35-7.

6. Dmytro Konkov, Oksana Lastovetska. The features of fetoplacental angiogenesis in pregnant women with anamnestic embryonic losses. *The proceedings of the 19th World Congress of the Gynecological Endocrinology*, (Florence 2-5 of December 2020). Florence (Italy). 2020: P.174.

7. Piskun A., Konkov D., Lastovetska O. Patomorphological changes in placenta in women with early and late preeclampsia. *The proceedings of the 27th biannual European Congress of Obstetrics and Gynaecology EBCOG*, (Bergen, 14-16 of May 2020). – Bergen (Norway). – 2020. - ID 26495.

## Додаток В

### Відомості про апробацію результатів дисертаційного дослідження

1. Всеукраїнська міжнародна науково-практична конференція «Актуальні питання акушерства, гінекології і репродуктивної медицини (м. Запоріжжя, 1 листопада 2017 р.) (усна доповідь, публікація тез).
2. Міжнародний медичний конгрес «Сучасні аспекти збереження та відновлення здоров'я жінки» м.Вінниця 2019 р (усна доповідь).
3. Пленум Асоціації акушерів-гінекологів України та науково-практична конференція з міжнародною участю «Акушерство та гінекологія: актуальні та дискусійні питання» м. Київ, 2019 р. (усна доповідь).
4. XXVII Європейський конгрес з акушерства та гінекології EBCOG, (Берген, Норвегія, 14-16 травня 2020 р) (постерна доповідь, публікація тез).
5. XIX міжнародному конгресі з гінекологічної ендокринології, (Флоренція, Італія 2-5 грудня 2020 р) (постерна доповідь, публікація тез).