

УДК 618.25:618.39:618.46-07

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD60946>

«Релаксин-зависимый» путь реализации спонтанных преждевременных родов при многоплодии: вклад плацентарного релаксина-2

© О.В. Пачулия, О.Н. Беспалова, М.Г. Бутенко, Ю.П. Милютина, Т.Г. Траль, Г.Х. Толибова

Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург, Россия

Актуальность. Несмотря на многочисленные исследования, этиопатогенез преждевременных родов при многоплодии остается недостаточно ясным, что обуславливает низкую эффективность превентивных и терапевтических мероприятий, направленных на сохранение многоплодной беременности. В связи с этим очевидна необходимость изучения возможных путей реализации преждевременных родов при многоплодии и поиска новых биомаркеров их патогенетических звеньев. В экспериментальных и клинических исследованиях были продемонстрированы вклад плейотропного гормона релаксина в регуляцию широкого спектра физиологических процессов и его роль в реализации патогенетических механизмов осложнений беременности, в первую очередь преждевременных родов. Доказанный аутокринный/паракринный механизм действия плацентарного релаксина, реализующего важные локальные эффекты, определяет перспективность изучения вклада его дерегуляции в реализацию спонтанных преждевременных родов при многоплодии.

Материалы и методы. Проведено морфологическое исследование 92 плацент от 46 беременностей дихориальной диамниотической двойней: из них 24 завершились спонтанными преждевременными родами, 22 — спонтанными срочными родами. Выполнены гистологическое исследование плацент, иммуногистохимическая верификация экспрессии релаксина-2 в ворсинчатом хорионе плацент дихориальных двоен.

Результаты. При гистологическом исследовании плацент детей от дихориальной многоплодной беременности было установлено, что плаценты детей при спонтанных преждевременных родах характеризуются большей частотой хронической плацентарной недостаточности со сниженными компенсаторно-приспособительными механизмами, более выраженными циркуляторными нарушениями в циркуляторном русле виллезного дерева в сравнении с плацентами при спонтанных срочных родах. Проведенная впервые верификация экспрессии релаксина-2 в ворсинах хориона плацент дихориальных двоен показала его роль в инициации спонтанных преждевременных родов. Относительная площадь экспрессии релаксина-2 при спонтанных преждевременных родах была достоверно выше ($p < 0,05$) по сравнению с данным показателем при спонтанных срочных родах.

Заключение. Полученные данные подтверждают гипотезу о вкладе плацентарного релаксина в патогенез спонтанных преждевременных родов при многоплодии. Авторы впервые дали определение «релаксин-зависимого» пути реализации спонтанных преждевременных родов, представили перспективы дальнейших исследований степени вклада, значимости релаксина в реализации патогенетических процессов, приводящих к спонтанным преждевременным родам при многоплодии, для разработки новых превентивных стратегий.

Ключевые слова: дихориальная двойня; многоплодная беременность; плацента; преждевременные роды; релаксин.

Как цитировать:

Пачулия О.В., Беспалова О.Н., Бутенко М.Г., Милютина Ю.П., Траль Т.Г., Толибова Г.Х. «Релаксин-зависимый» путь реализации спонтанных преждевременных родов при многоплодии: вклад плацентарного релаксина-2 // Журнал акушерства и женских болезней. 2021. Т. 70. № 2. С. 27–36. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD60946>

DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD60946>

“Relaxin-dependent” way of implementing spontaneous preterm labor in multiple pregnancies: The involvement of placental relaxin 2

© Olga V. Pachuliya, Olesya N. Bessalova, Mariya G. Butenko, Yulia P. Milyutina, Tatyana G. Tral, Gulrukhsor Kh. Tolibova

The Research Institute of Obstetrics, Gynecology, and Reproductology named after D.O. Ott, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Despite numerous studies, the etiopathogenesis of preterm birth in multiple pregnancy remains unclear, which determines the low effectiveness of measures for the prevention of preterm birth. This fact makes it necessary to study possible ways of implementing preterm birth in multiple pregnancies and to search for new biomarkers of their pathogenetic links. Experimental and clinical studies have demonstrated the contribution of the pleiotropic hormone relaxin to the regulation of a wide range of physiological processes and its role in the implementation of the pathogenetic mechanisms of pregnancy complications, primarily premature birth. The proven autocrine / paracrine mechanism of placental relaxin action, which implements important local effects, determines the prospects for studying the contribution of its dysregulation to the implementation of spontaneous preterm labor in multiple pregnancies.

MATERIALS AND METHODS: A morphological examination of 92 placentas from 46 deliveries of dichorionic diamniotic twins was performed: 24 of them were spontaneous premature births and 22 spontaneous term births. Histological examination of placentas along with immunohistochemical verification of relaxin 2 expression in the chorionic villus of the dichorial twins' placentas were carried out.

RESULTS: Histological examination of the dichorionic twins' placentas revealed that those from spontaneous preterm birth were characterized by a higher frequency of chronic placental insufficiency with reduced compensatory and adaptive mechanisms and more pronounced circulatory disorders in the circulatory bed of the villous tree, when compared to placentas from spontaneous term labor. The first verification of relaxin 2 expression in the chorionic villi of the dichorionic twins' placenta showed the role of the peptide in the initiation of spontaneous preterm birth. The relative area of relaxin 2 expression in spontaneous preterm labor was significantly higher ($p < 0.05$) compared to that in spontaneous term labor.

CONCLUSIONS: The data obtained confirm the hypothesis put forward about the involvement of placental relaxin in the pathogenesis of spontaneous preterm labor in multiple pregnancies. The authors were the first to propose the definition of a “relaxin-dependent” way of implementing spontaneous preterm labor. To help define new preventive strategies, the prospects for further studies of the role and significance of relaxin in the implementation of pathogenic processes involved in spontaneous preterm birth in multiple pregnancies have been outlined.

Keywords: dichorionic twins; multiple pregnancy; placenta; premature birth; relaxin.

To cite this article:

Pachuliya OV, Bessalova ON, Butenko MG, Milyutina YuP, Tral TG, Tolibova GK. “Relaxin-dependent” way of implementing spontaneous preterm labor in multiple pregnancies: The involvement of placental relaxin 2. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(2):27–36. DOI: <https://doi.org/10.17816/JOWD60946>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отмечается неуклонный рост частоты многоплодия, что связано с широким применением вспомогательных репродуктивных технологий. Патологическая многоплодная беременность на всех этапах гестации сопряжена со значительным увеличением частоты акушерских осложнений, оперативного родоразрешения, высоким уровнем перинатальных потерь [1]. Преждевременные роды (ПР) в свою очередь наиболее часто осложняют многоплодную беременность. При этом около 40 % из них приходится на индуцированные ПР (по медицинским показаниям со стороны матери и плодов) и 60 % — на спонтанные.

Хорошо известно, что спонтанные ПР являются «большим акушерским синдромом». Причинами их развития могут быть материнские, отцовские, фетальные, средовые факторы. На сегодняшний день выделяют четыре основные группы причин ПР: инфекционно-воспалительные (около 40 %), активация материнско-плодовой гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (около 30 %), кровотечения (около 20 %), перерастяжение матки (около 10 %) [1, 2].

Тем не менее большинство авторов указывают на то, что этиопатогенез ПР при многоплодии недостаточно ясен. Это в значительной степени обуславливает низкую эффективность превентивных и терапевтических мероприятий, направленных на сохранение многоплодной беременности. Таким образом, очевидна необходимость изучения возможных путей реализации ПР при многоплодии и поиска новых биомаркеров их патогенетических звеньев.

Внимание к изучению релаксина в качестве биомаркера вызвано плейотропным действием циркулирующих в крови матери форм данного полипептидного гормона, продемонстрированным в экспериментальных и клинических исследованиях. Доступно большое число сведений об их эндокринном действии и участии в регуляции

широкого спектра физиологических процессов при беременности [3].

На ранних сроках беременности релаксин стимулирует биохимические изменения в клетках стромы эндометрия, играя важную роль в его децидуализации, модулирует активность матриксных металлопротеиназ, повышает локальную концентрацию иммунокомпетентных клеток, усиливает ангиогенез и тем самым благоприятствует имплантации эмбриона [5–7]. На поздних этапах гестации релаксин влияет на созревание шейки матки путем регуляции последовательных процессов деградации и ремоделирования коллагена, вызывает расслабление связок лонного сочленения тазовых костей, что способствует оптимальной подготовке материнского организма к физиологическим родам [6–9].

В то же время согласно литературным источникам как недостаток, так и избыток релаксина в крови может иметь негативные последствия для беременности [9]. Были продемонстрированы отрицательное влияние гипорелаксинемии на метаболизм углеводов, наличие связи между гиперрелаксинемией и риском спонтанных ПР [10–13].

В результате изучения плацентарных релаксинов не было выявлено их значимых концентраций в материнской крови, что позволило сделать вывод о преимущественно аутокринном/паракринном механизме их действия, посредством которого реализуются важные локальные эффекты [14–17]. Обнаружение экспрессии рецепторов релаксина в эндотелиальных клетках сосудов плаценты послужило основанием для предположения, что релаксины участвуют в контроле перфузии плаценты и поэтому играют роль важных регуляторов адекватного функционирования системы мать – плацента – плод [17–19] (рис. 1).

Вклад дерегуляции плацентарных релаксинов в патогенез осложнений беременности, в первую очередь ПР, не изучен как при одноплодной беременности, так и при многоплодии. В исследованиях при одноплодной

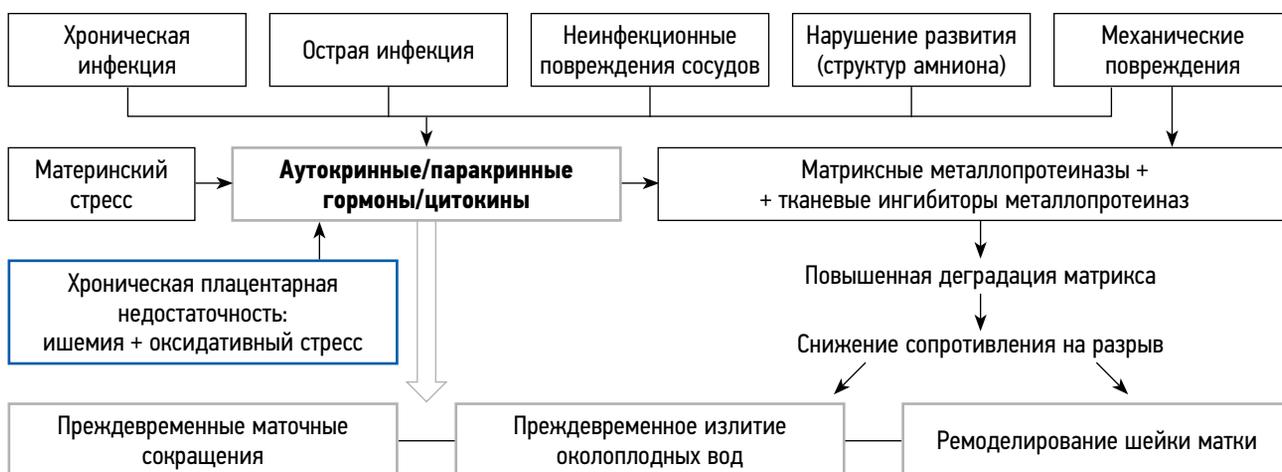


Рис. 1. Патологические процессы, потенциально реализующиеся при преждевременных родах путем влияния на аутокринную/паракринную гормональную регуляцию ([21], с изм.)

беременности получены фрагментарные данные о влиянии релаксинов на реализацию ПР посредством коллагенолитического действия на структуры плодных оболочек с дальнейшим уменьшением их прочности и разрывом [16, 20]. Описана способность релаксинов повышать сократительную активность матки путем стимулирующего влияния на экспрессию мРНК и уровень белков циклооксигеназ-1 и -2, участвующих в выработке сократительных простагландинов E_2 , и таким образом при условно асептических состояниях воспроизводить каскад реакций воспалительного ответа [16, 17, 20–22].

На сегодняшний день исследователи обсуждают роль «релаксиновой системы» при реализации спонтанных ПР: в нарушении адекватной пролиферации плодных оболочек, важных для приспособления оболочек плода к росту плода и плаценты, в острой инфекции и в асептической воспалительной реакции, ведущей к началу родов [19–22]. Таким образом, изучение плацентарного релаксина в реализации спонтанных ПР при многоплодной беременности представляется перспективным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено морфологическое исследование 92 плацент (m) от 46 беременностей (n) дихориальной диамниотической двойней. Основная группа — спонтанные ПР ($n = 24, m = 48$) при сроке беременности 28–36 нед., контрольная группа — спонтанные срочные роды ($n = 22, m = 44$) при сроке беременности ≥ 37 нед.

Гистологический метод

Забор образцов, подготовка материала для исследования, приготовление гистологических препаратов выполняли согласно приказу Министерства здравоохранения РФ от 24 марта 2016 г. № 179н «О Правилах проведения патологоанатомических исследований». Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине (рН 7,2), осуществляли проводку согласно стандартному протоколу. Из полученных блоков готовили срезы толщиной 3–5 мкм. Для обзорной окраски использовали гематоксилин и эозин. Исследование проводили на микроскопе Olympus CX31 (Япония) при увеличении $\times 100, \times 400$.

Иммуногистохимический метод

Исследование выполняли на парафиновых срезах толщиной 5 мкм, которые помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma, Япония). Для проведения иммуногистохимической реакции использовали стандартный одноэтапный протокол с демаскировкой антигена (высокотемпературной обработкой ткани) в 0,01 М цитратном буфере рН 6,0. В качестве системы визуализации применяли abcAm Mouse and Rabbit Specific HRP Plus (ABC) Detection IHC Kit (RTU) [ab93697] (Abcam, Великобритания).

Иммуногистохимический метод исследования включал количественную и качественную оценку экспрессии релаксина-2 (RLN2) с использованием первичных моноклональных кроличьих антител Anti-Relaxin 2/RLN2 [клон EPR 14205] ab183505 Abcam (Великобритания) в стандартном разведении 1 : 1500.

Цифровая микроскопия и морфометрия

Количественную оценку результатов иммуногистохимического исследования осуществляли на микрофотографиях, полученных с помощью системы фиксации микроскопических изображений, состоящей из микроскопа Olympus BX46 и программного обеспечения CellSens 47 Entry. Из фотосъемки исключали поля зрения, содержащие дефекты ткани, дефекты окрашивания и артефакты. Фотосъемку производили при увеличении $\times 400$ (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$) в режиме Photo, время экспозиции — 1/38 с, чувствительность камеры — максимальная, размер изображения — 2080×1544 пикселей, графический формат изображения — JPEG (normal). Долю занимаемой экспрессии изучаемого маркера рассчитывали с помощью программы ВидеоТест-Морфология 5.2 (ВИДЕОТЕСТ, Россия).

В каждом срезе в пяти полях зрения оценивали:

- оптическую плотность экспрессии — вычисляли автоматически в соответствии с законом Бугера – Ламберта – Бера; использование показателя так называемой оптической плотности экспрессии, являющегося базовым параметром программы ВидеоТест-Морфология 5.2, для анализа оптических параметров микрофотографий приемлемо, поскольку измерения осуществляются по аналогии со спектрофотометрическим анализом;
- относительную площадь экспрессии — вычисляли отношение площади иммунопозитивных клеток к общей площади препарата: $S (\%) = (S_{\text{позитив}} / S_{\text{общая}}) \cdot 100$, после чего рассчитывали средние величины исследуемых показателей.

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили при помощи программ Statistica 10 (StatSoft, Inc.), MS Excel. Для проверки нормальности распределения применяли критерий Шапиро – Уилка (W -критерий). Для сравнения исследуемых параметров использовали непараметрический критерий Манна – Уитни (U -критерий) и критерий Краскела – Уоллиса (H -критерий).

Взаимосвязи между исследуемыми показателями оценивали при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена r_s . Силу связи определяли согласно следующим значениям: очень слабая (0–0,3), слабая (0,3–0,5), средняя (0,5–0,7), высокая (0,7–0,9), очень высокая (0,9–1).

При попарном сравнении в группах был применен однофакторный дисперсионный анализ, который

включал post-hoc-анализ по методу Бонферрони, а также сравнение разностей средних по методу Тьюки.

Для всех видов анализа за статистически достоверные были приняты значения $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Клинико-anamnestическая характеристика групп.

Беременные с дихориальной диамниотической двойней в исследуемых группах были сопоставимы по возрасту ($p > 0,05$). У женщин в исследуемых группах с наибольшей частотой были выявлены такие гестационные осложнения, как истмико-цервикальная недостаточность, гестационный сахарный диабет, гипертензивные состояния (артериальная гипертензия беременных, преэклампсия), хроническая плацентарная недостаточность (ХПН). Тем не менее достоверные различия между группами были выявлены только по частоте гестационного сахарного диабета, который при спонтанных ПР встречался достоверно чаще ($p < 0,05$) в сравнении с основной группой [37,5 % (9) и 19,1 % (4)].

В исследуемых группах были оценены такие специфические осложнения многоплодной беременности дихориальной диамниотической двойней, как диссоциация развития плодов [вес одного из плодов менее 10-го перцентиля и дискордантность предполагаемой массы плодов более 25 % (по результатам УЗИ)] [121], антенатальная гибель одного плода из двойни. Только в одном случае в группе спонтанных ПР разница между предполагаемой массой плодов была пограничной и составила 23 %. При данной беременности произошли спонтанные ПР в 28 недель гестации. Случаев антенатальной гибели одного из плодов в исследуемых группах не было.

Гистологическое исследование плацент дихориальных двоен. Гистологическое исследование плацент включало оценку массы плацент, плацентарно-плодового индекса (ППИ), соответствия гестационному сроку, циркуляторных нарушений, компенсаторно-приспособительных изменений, формы и степени выраженности ХПН, экссудативных и гематогенных воспалительных изменений, аномалии развития плацент. Различия в показателях определяли как по группам, так и по плацентам плодов в близнецовых парах.

Масса плацент. Масса плацент дихориальных диамниотических двоен варьировала от 170 до 860 г. Средняя масса плацент первого и второго плодов не различалась по близнецовым парам во всех исследуемых группах ($p < 0,05$).

При оценке массы плацент по обоим плодам при ранних ($463,4 \pm 177,3$ г) и поздних ($349,3 \pm 102,8$ г) спонтанных ПР значимых различий выявлено не было ($p > 0,05$). При спонтанных ПР масса плацент слабо положительно коррелировала с массой ($r = 0,29$) и ростом детей из двоен при рождении ($r = 0,38$). При срочных родах между

массой плаценты и массой детей корреляционная связь была умеренной положительной ($r = 0,60$).

Плацентарно-плодовый индекс. При спонтанных ПР и спонтанных срочных родах значимые отличия по ППИ отсутствовали ($0,16 \pm 0,01$ и $0,15 \pm 0,01$, $p > 0,05$). При ранних ПР был отмечен достоверно ($p < 0,05$) более высокий ППИ по сравнению с поздними ПР ($0,19 \pm 0,05$ и $0,15 \pm 0,03$) и ростом детей ($r = -0,51$). При срочных родах существовала положительная взаимосвязь массы плаценты и ППИ ($r = 0,64$).

Хроническая плацентарная недостаточность. Оценены различия по частоте выявления ХПН (компенсаторно-приспособительные изменения, циркуляторные нарушения различной степени выраженности), степени компенсации ХПН (компенсированная, субкомпенсированная, декомпенсированная) в группах исследования.

Несоответствие плацент гестационному сроку (ХПН). По частоте несоответствия плацент гестационному сроку отличий между группами обнаружено не было ($p > 0,05$). В то же время при оценке внутригрупповых различий между показателями плацент первого и второго плодов было определено, что в группе спонтанных родов плаценты вторых плодов значимо отличались от первых большей частотой несоответствия гестационному сроку: при ПР — 62,5 % (15) и 58,3 % (14) ($p < 0,01$), при срочных родах — 68,2 % (15) и 50 % (11) ($p < 0,05$).

Степень компенсации ХПН. Частота компенсированной ХПН была сопоставима во всех группах. В группе спонтанных ПР субкомпенсированная плацентарная недостаточность среди первых встречалась достоверно ($p = 0,01$) более часто в сравнении со спонтанными срочными родами [29,2 % (7) и 4,5 % (1)]. При этом среди плацент вторых плодов достоверных различий по частоте субкомпенсированной ХПН выявлено не было [29,2 % (7) и 22,7 % (5), $p > 0,05$].

Анализ частоты субкомпенсированной ХПН в плацентах первого и второго плодов показал тенденцию к большей ее частоте среди вторых плодов ($p = 0,092$). При исследовании плацент обоих плодов субкомпенсированная ХПН была выявлена достоверно чаще ($p = 0,012$) в группе ранних ПР в сравнении с поздними ПР [60,0 % (6) и 16,7 % (6)].

ХПН с признаками декомпенсации в плацентах исследуемых групп обнаружена не была.

Циркуляторные нарушения. Выраженные циркуляторные нарушения достоверно ($p = 0,04$) чаще встречались в группе спонтанных ПР в сравнении со спонтанными срочными как среди плацент первых плодов [50 % (12) и 27,3 % (6)], так и среди плацент вторых [54,2 % (13) и 31,8 % (7)] плодов.

Компенсаторно-приспособительные изменения. По степени выраженности компенсаторно-приспособительных изменений не было выявлено достоверных различий как при сравнении по плацентам обоих плодов, так и при сравнении близнецовых пар.

Таблица. Гистологическая характеристика плацент дихориальных двоен в исследуемых группах

Тип родов	Спонтанные преждевременные роды (<i>n</i> = 24, <i>m</i> = 48)	Спонтанные срочные роды (<i>n</i> = 22, <i>m</i> = 44)	<i>p</i> -value
	% (абс.)		
ХПН			
Несоответствие гестационному сроку	60,4 (29)	59,1 (26)	<0,05
Форма ХПН			
Гипопластическая	6,9 (2)	11,5 (3)	<0,05
Диссоциированная	86,2 (25)	84,6 (22)	<0,05
Гиперпластическая	6,9 (2)	3,9 (1)	<0,05
Степень компенсации ХПН			
Компенсированная	51,7 (15)	76,9 (20)	<0,05
Субкомпенсированная	48,3 (14)	23,1 (6)	0,01
Декомпенсированная	0	0	–
Компенсаторно-приспособительные изменения			
Слабые	0	2,3 (1)	<0,05
Умеренные	95,8 (46)	93,2 (41)	<0,05
Выраженные	4,2 (2)	4,5 (2)	<0,05
Циркуляторные нарушения			
Слабые	8,3 (4)	18,2 (8)	<0,05
Умеренные	39,6 (19)	43,2 (19)	<0,05
Выраженные	50,0 (25)	29,6 (13)	0,03
Инфекционно-воспалительные изменения			
<i>Экссудативное воспаление</i>			
Мембранит	6,25 (3)	0	0,09
Хориоамнионит	8,4 (4)	2,3 (1)	<0,05
Фуникулит	4,2 (2)	2,3 (1)	<0,05
<i>Гематогенное инфицирование</i>			
Виллузит	8,4 (4)	4,6 (2)	<0,05
Децидуит	4,2 (2)	4,6 (2)	<0,05

Примечание. ХПН — хроническая плацентарная недостаточность.

Воспалительные изменения в плацентах. С учетом небольшого числа плацент с признаками воспалительных изменений их оценивали по обоим плодам в каждой группе. Частота инфекционно-воспалительных процессов в плацентах была в 2 раза ниже, указываемой в литературных источниках, и составила 22,8 %.

Тем не менее в группе спонтанных ПР наблюдалась тенденция ($p = 0,09$) к большей частоте воспалительных изменений в сравнении с группой спонтанных срочных родов. В основной группе мембранит отмечался в 6,25 % (3) случаев, в группе контроля отсутствовал. Хориоамнионит в первой группе диагностирован в 8,4 % (4) случаев, во второй — в 2,3 % (1), фуникулит — в 4,2 % (2) и 2,3 % (1) соответственно, но различия не были статистически значимыми ($p > 0,05$). В группе ранних ПР число хориоамнионитов составило 20 % (2), что было достоверно больше ($p > 0,05$) в сравнении

с поздними ПР (в этих группах хориоамнионит выявлен не был).

При оценке инфекционных поражений плацент, обусловленных гематогенной инфекцией, доля виллузитов в основной группе составила 8,4 % (4) и была несколько больше в сравнении с контрольной группой — 4,6 % (2), но различия не были статистически значимы ($p > 0,05$). Виллузиты были выявлены только при ранних ПР 20 % (2). Число децидуитов было сопоставимо в группе преждевременных и срочных родов: 4,2 % (2) и 4,6 % (2) ($p > 0,05$).

Сравнительная гистологическая характеристика плацент дихориальных двоен в исследуемых группах продемонстрирована в таблице. Данные представлены по плацентам обоих плодов в близнецовых парах.

Иммуногистохимическое исследование. Проведена иммуногистохимическая верификация экспрессии RLN2 в ворсинчатом хорионе плацент. Распределение

экспрессии RLN2 было равномерным в синцитиотрофобласте, цитотрофобласте и строме ворсинчатого хориона плацент дихориальных диамниотических двоен в исследуемых группах.

Относительная площадь экспрессии RLN2 в плацентах первых плодов составила $26,6 \pm 1,4$ %, вторых — $28,2 \pm 1,3$ %. При сравнении показателей экспрессии RLN2 в плацентах первых и вторых плодов при спонтанных ПР достоверных отличий выявлено не было ($p > 0,05$).

В группе спонтанных срочных родов относительная площадь экспрессии RLN2 в плацентах первых плодов была достоверно ниже ($p = 0,02$) по сравнению с плацентами вторых плодов ($23,1 \pm 1,4$ и $26,1 \pm 1,5$ %).

По оптической плотности экспрессии RLN2 плаценты плодов в исследуемых группах не отличались между собой ($p > 0,05$).

Связь показателей экспрессии RLN2 в ворсинчатом хорионе плацент первого и второго плодов. С целью оценки взаимосвязи выраженности экспрессии RLN2 в плацентах первых и вторых плодов в исследуемых группах проведен корреляционный и регрессионный анализ. Согласно корреляционному анализу линейная связь между параметрами экспрессии RLN2 ($r = 0,25$) в ворсинчатом хорионе плацент первых и вторых плодов отсутствовала. Регрессионный анализ также показал низкие коэффициенты детерминации по относительной площади экспрессии RLN2 ($R^2 = 0,09$).

Экспрессия RLN2 в ворсинах плацент в зависимости от типа и срока родов. Среднее значение относительной площади экспрессии RLN2 при спонтанных ПР составило $27,4 \pm 1,0$ %, а при срочных родах этот показатель был достоверно ниже — $24,6 \pm 1,0$ % ($p = 0,03$). Данные представлены на рис. 2. При оценке оптической плотности экспрессии RLN2 основная и контрольная группы не отличались ($0,10 \pm 0,002$ и $0,11 \pm 0,002$, $p > 0,05$).

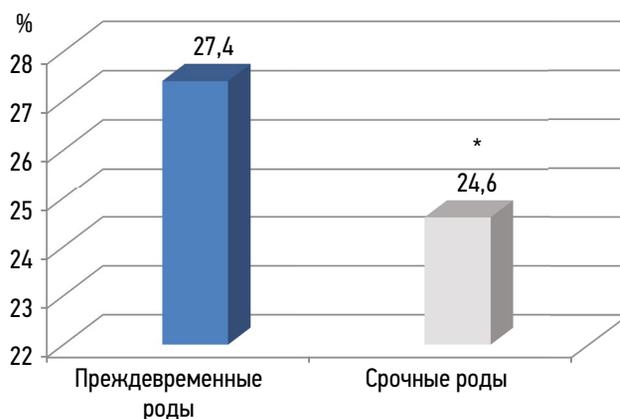


Рис. 2. Площадь экспрессии релаксина-2. * $p < 0,05$

На рис. 3 представлена экспрессия RLN2 в ворсинчатом хорионе плацент дихориальных двоен в сравниваемых группах.

При дисперсионном анализе показателей экспрессии RLN2 в случае ранних и поздних ПР не выявлено значимых различий как при сравнении в зависимости от гестационного срока, так и гистологических показателей ($p > 0,05$).

Экспрессия релаксина в ворсинчатом хорионе плацент в зависимости от варианта начала родов. По варианту развития родовой деятельности (начало со схваток/преждевременного излития околоплодных вод) группа спонтанных ПР отличалась высокой частотой начала родовой деятельности с преждевременного излития околоплодных вод ($70,8$ % — 17). При срочных родах развитие родовой деятельности начиналось несколько чаще со схваток — $54,5$ % (12), чем с преждевременного излития околоплодных вод — $45,5$ % (10).

При преждевременном излитии околоплодных вод в группе спонтанных ПР относительная площадь экспрессии RLN2 составила $26,7 \pm 2,7$ %, при начале родов с маточных напряжений — $27,3 \pm 2,6$ %. Различия не были достоверно значимы ($p > 0,05$).

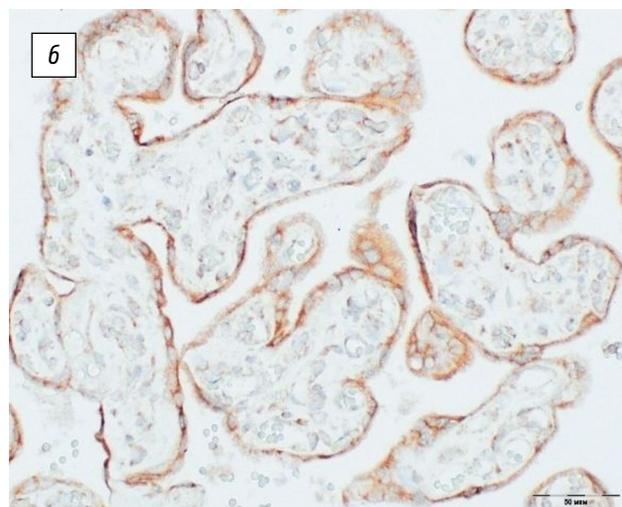
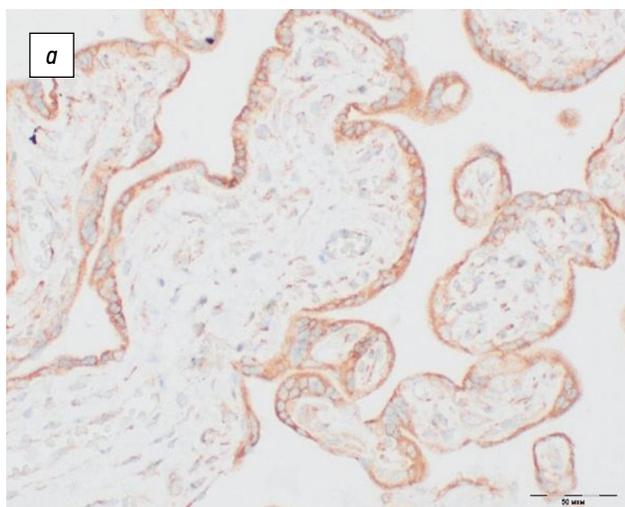


Рис. 3. Экспрессия релаксина-2 в ворсинчатом хорионе плацент дихориальных двоен: а — при спонтанных преждевременных родах; б — при срочных родах. Иммуногистохимическое окрашивание, $\times 400$

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании проведена гистологическая оценка плацент детей от дихориальной многоплодной беременности, рожденных на различных сроках гестации при спонтанных родах. ХПН со сниженной компенсаторной способностью (субкомпенсированная ХПН), выраженными циркуляторными нарушениями диагностировали с большей частотой при ПР в сравнении с плацентами детей от срочных родов. Плаценты при ранних ПР характеризовались более низким «плацентарным резервом» по сравнению с плацентами от поздних ПР.

При дихориальной многоплодной беременности, несмотря на общность внутриутробного существования, каждый из плодов находится в разных условиях в связи с различными ресурсами и возможностями реализации компенсаторных механизмов каждой из плацент. Так, плаценты первых и вторых плодов в близнецовых парах достоверно различались между собой. В плацентах вторых плодов наблюдались более выраженные морфофункциональные изменения по сравнению с плацентами первых плодов, что, по всей вероятности, также определяет большую частоту неблагоприятных исходов среди вторых плодов, описываемую авторами, изучающими проблему перинатальных осложнений при многоплодии [23, 24].

Обращало на себя внимание низкое общее число инфекционно-воспалительных процессов в плацентах дихориальных двоен, несмотря значимую роль инфекционно-воспалительных процессов в плацентах согласно данным литературы. Тем не менее воспалительные изменения в плацентах, как экссудативные (восходящие), так и гематогенные (нисходящие), выявлены в 20 % случаев при ранних ПР. При поздних родах они отсутствовали. Таким образом, полученные результаты, с одной стороны, свидетельствуют о весомом вкладе воспаления в многофакторный процесс ПР, в первую очередь ранних ПР, с другой — о других механизмах реализации ПР при многоплодии.

Как продемонстрировало настоящее исследование, одним из таких механизмов реализации ПР может быть **«релаксин-зависимый»** патогенетический путь. Проведенная впервые верификация экспрессии

RLN2 в плацентах дихориальных двоен показала его вероятностную роль в инициации спонтанных ПР. Различий в уровне экспрессии релаксина при начале ПР с преждевременного излития околоплодных вод или со схваток выявлено не было, что, вероятно, подтверждает роль релаксина в обоих патогенетических вариантах их развития.

В плацентах недоношенных детей экспрессия RLN2 была достоверно выше в сравнении с плацентами доношенных детей из дихориальных двоен. Тем не менее оценка взаимосвязи показателей экспрессии RLN2 в ворсинчатом хорионе плацент первого и второго плодов показала отсутствие линейной связи между уровнем экспрессии релаксина в плацентах близнецовых пар. По всей видимости, уровень экспрессии не зависит от внешних причин, влияющих на оба плода, а обусловлен синтезом плацентарного релаксина в соответствии с функциональными особенностями плацент каждого из плодов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее исследование позволило охарактеризовать морфологический субстрат дискордантности плодов по ряду параметров. Было установлено, что морфологическое строение плаценты различается у каждого плода из двойни, в свою очередь это определяет различие в ее функциональной состоятельности и эффективности проявления дисфункциональных состояний, реализации компенсаторных механизмов.

При гистологическом изучении плацент детей от дихориальной многоплодной беременности было выявлено, что плаценты детей от спонтанных ПР характеризуются большей частотой ХПН со сниженной компенсаторной способностью, более выраженными циркуляторными нарушениями в циркуляторном русле виллезного дерева в сравнении с плацентами от срочных родов.

Получены данные, подтверждающие гипотезу о вкладе плацентарного RLN2 в патогенез спонтанных ПР при многоплодии. Эти сведения представляют интерес как для более углубленного понимания механизмов реализации ПР, так и для поиска новых возможностей патогенетически обоснованного воздействия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Romero R., Conde-Agudelo A., El-Refaie W. et al. Vaginal progesterone decreases preterm birth and neonatal morbidity and mortality in women with a twin gestation and a short cervix: an updated meta-analysis of individual patient data // *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 2017. Vol. 49. No. 3. P. 303–314.
2. Di Renzo G.C., Tosto V., Giardina I. The biological basis and prevention of preterm birth // *Best. Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2018. Vol. 52. P. 13–22. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.01.022
3. Napso T., Yong H.E.J., Lopez-Tello J., Sferruzzi-Perri A.N. The role of placental hormones in mediating maternal adaptations

to support pregnancy and lactation // *Front. Physiol.* 2018. Vol. 9. P. 1091. DOI: 10.3389/fphys.2018.01091

4. Bell R.J., Sutton B., Eddie L.W., Healy D.L., Johnston P.D., Tregear G.W. Relaxin levels in antenatal patients following *in vitro* fertilization // *Fertil. Steril.* 1989. Vol. 52. No. 1. P. 85–87. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)60794-x

5. Marshall S.A., Senadheera S.N., Parry L.J., Girling J.E. The Role of relaxin in normal and abnormal uterine function during the menstrual cycle and early pregnancy // *Reprod. Sci.* 2017. Vol. 24. No. 3. P. 342–354.

6. Iams J.D., Goldsmith L.T., Weiss G. The preterm prediction study: maternal serum relaxin, sonographic cervical length, and spontaneous preterm birth in twins // *J. Soc. Gynecol. Investig.* 2001. Vol. 8. No. 1. P. 39–42.
7. Косякова О.В., Беспалова О.Н. Прогностические возможности релаксина как маркера преждевременных родов // *Журнал акушерства и женских болезней.* 2018. Т. 67. № 2. С. 16–25. DOI: 10.17816/JOWD67216-25
8. Bain E., Heatley E., Hsu K., Crowther C.A. Relaxin for preventing preterm birth // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2013. No. 8. P. CD010073. DOI: 10.1002/14651858.CD010073.pub2
9. Vrachnis N., Grigoriadis C., Siristatidis C. et al. The Janus face of maternal serum relaxin: a facilitator of birth, might it also induce preterm birth? // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2015. Vol. 28. No. 18. P. 2187–2191. DOI: 10.3109/14767058.2014.981804
10. Bell R.J., Eddie L.W., Lester A.R. et al. Antenatal serum levels of relaxin in patients having preterm labour // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 1988. Vol. 95. No. 12. P. 1264–1267. DOI: 10.1111/j.1471-0528.1988.tb06816.x
11. Vogel I., Salvig J.D., Secher N.J., Ulbjerg N. Association between raised serum relaxin levels during the eighteenth gestational week and very preterm delivery // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001. Vol. 184. No. 3. P. 390–393. DOI: 10.1067/mob.2001.109395
12. Vogel I., Goepfert A.R., Møller H.J. et al. Early mid-trimester serum relaxin, soluble CD163, and cervical length in women at high risk for preterm delivery // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2006. Vol. 195. No. 1. P. 208–214. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.12.009
13. Pantelis A., Sotiriadis A., Chatzistamatiou K. et al. Serum relaxin and cervical length for prediction of spontaneous preterm birth in second-trimester symptomatic women // *Ultrasound. Obstet. Gynecol.* 2018. Vol. 52. No. 6. P. 763–768. DOI: 10.1002/uog.18972
14. Шпаков А.О. Структурно-функциональная организация рецепторов полипептидных гормонов, содержащих LRR-повторы, и их взаимодействие с гетеротримерными G-белками // *Цитология.* 2009. Т. 51. № 8. С. 637–649.
15. Bigazzi M., Nardi E., Bruni P., Petrucci F. Relaxin in human decidua // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1980. Vol. 51. No. 4. P. 939–941. DOI: 10.1210/jcem-51-4-939
16. Lowndes K., Amano A., Yamamoto S.Y., Bryant-Greenwood G.D. The human relaxin receptor (LGR7): Expression in the fetal membranes and placenta // *Placenta.* 2006. Vol. 27. No. 6–7. P. 610–618. DOI: 10.1016/j.placenta.2005.07.011
17. Qin X., Garibay-Tupas J., Chua P.K. et al. An autocrine/paracrine role of human decidual relaxin. I. Interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-1) and tissue plasminogen activator // *Biol. Reprod.* 1997. Vol. 56. No. 4. P. 800–811. DOI: 10.1095/biolreprod56.4.800
18. Yamasato K., Tsai P.S., Davis J., Yamamoto S.Y., Bryant-Greenwood G.D. Human relaxins (RLNH1, RLNH2), their receptor (RXFP1) and fetoplacental growth // *Reproduction.* 2017. Vol. 154. No. 1. P. 67–77. DOI: 10.1530/REP-17-0039
19. Horton J.S., Yamamoto S.Y., Bryant-Greenwood G.D. Relaxin augments the inflammatory IL6 response in the choriodecidua // *Placenta.* 2012. Vol. 33. No. 5. P. 399–407. DOI: 10.1016/j.placenta.2012.02.002
20. Schmidt C.L., Sarosi P., Steinetz B.G. et al. Relaxin in human decidua and term placenta // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 1984. Vol. 17. No. 2–3. P. 171–182. DOI: 10.1016/0028-2243(84)90141-2
21. Bryant-Greenwood G.D., Yamamoto S.Y., Lowndes K.M. et al. Human decidual relaxin and preterm birth // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2005. Vol. 1041. P. 338–344. DOI: 10.1196/annals.1282.054
22. Bryant-Greenwood G.D., Kern A., Yamamoto S.Y., Sadowsky D.W., Novy M.J. Relaxin and the human fetal membranes // *Reprod. Sci.* 2007. Vol. 14. No. 8. Suppl. P. 42–45. DOI: 10.1177/1933719107310821
23. Rissanen A.S., Jernman R.M., Gissler M. et al. Perinatal outcomes in Finnish twins: a retrospective study // *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019. Vol. 20. No. 1. P. 2. Corrected and republished from: *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020. Vol. 20. No. 1. P. 438. DOI: 10.1186/s12884-019-2670-3
24. Bogner G., Wallner V., Fazelnia C. et al. Delivery of the second twin: influence of presentation on neonatal outcome, a case controlled study // *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018. Vol. 18. No. 1. P. 176. DOI: 10.1186/s12884-018-1815-0

REFERENCES

1. Romero R, Conde-Agudelo A, El-Refaie W, et al. Vaginal progesterone decreases preterm birth and neonatal morbidity and mortality in women with a twin gestation and a short cervix: an updated meta-analysis of individual patient data. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49(3):303–314. DOI: 10.1002/uog.17397
2. Di Renzo GC, Tosto V, Giardina I. The biological basis and prevention of preterm birth. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2018;52:13–22. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2018.01.022
3. Napso T, Yong HEJ, Lopez-Tello J, Sferruzzi-Perri AN. The role of placental hormones in mediating maternal adaptations to support pregnancy and lactation. *Front Physiol.* 2018;9:1091. DOI: 10.3389/fphys.2018.01091
4. Bell RJ, Sutton B, Eddie LW, et al. Relaxin levels in antenatal patients following in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1989;52(1):85–87. DOI: 10.1016/s0015-0282(16)60794-x
5. Marshall SA, Senadheera SN, Parry LJ, Girling JE. The Role of relaxin in normal and abnormal uterine function during the menstrual cycle and early pregnancy. *Reprod Sci.* 2017;24(3):342–354. DOI: 10.1177/1933719116657189
6. Iams JD, Goldsmith LT, Weiss G. The preterm prediction study: maternal serum relaxin, sonographic cervical length, and spontaneous preterm birth in twins. *J Soc Gynecol Investig.* 2001;8(1):39–42.
7. Kosyakova OV, Bepalova ON. Predictive possibilities of relaxin as a marker of preterm labor. *Journal of obstetrics and gynecological diseases.* 2018;67(2):16–25. (In Russ.). DOI: 10.17816/JOWD67216-25
8. Bain E, Heatley E, Hsu K, Crowther CA. Relaxin for preventing preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(8):CD010073. DOI: 10.1002/14651858.CD010073.pub2
9. Vrachnis N, Grigoriadis C, Siristatidis C, et al. The Janus face of maternal serum relaxin: a facilitator of birth, might it also induce preterm birth? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;28(18):2187–2191. DOI: 10.3109/14767058.2014.981804
10. Bell RJ, Eddie LW, Lester AR, et al. Antenatal serum levels of relaxin in patients having preterm labour. *Br J Obstet Gynaecol.* 1988;95(12):1264–1267. DOI: 10.1111/j.1471-0528.1988.tb06816.x
11. Vogel I, Salvig JD, Secher NJ, Ulbjerg N. Association between raised serum relaxin levels during the eighteenth gestational week

and very preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(3):390–393. DOI: 10.1067/mob.2001.109395

12. Vogel I, Goepfert AR, Møller HJ, et al. Early mid-trimester serum relaxin, soluble CD163, and cervical length in women at high risk for preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195(1):208–214. DOI: 10.1016/j.ajog.2005.12.009

13. Pantelis A, Sotiriadis A, Chatzistamatiou K, Pratilas G, Dinas K. Serum relaxin and cervical length for prediction of spontaneous preterm birth in second-trimester symptomatic women. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2018;52(6):763–768. DOI: 10.1002/uog.18972

14. Shpakov AO. Structural-functional organization of polypeptide hormones receptors containing LRR-repeats and their interaction with heterotrimeric G-proteins. *Citologija.* 2009;51(8):637–649. (In Russ.)

15. Bigazzi M, Nardi E, Bruni P, Petrucci F. Relaxin in human decidua. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980;51(4):939–941. DOI: 10.1210/jcem-51-4-939

16. Lowndes K, Amano A, Yamamoto SY, Bryant-Greenwood GD. The human relaxin receptor (LGR7): Expression in the fetal membranes and placenta. *Placenta.* 2006;27(6–7):610–618. DOI: 10.1016/j.placenta.2005.07.011

17. Qin X, Garibay-Tupas J, Chua PK, et al. An autocrine/paracrine role of human decidual relaxin. I. Interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-1) and tissue plasminogen activator. *Biol Reprod.* 1997;56(4):800–811. DOI: 10.1095/biolreprod56.4.800

18. Yamasato K, Tsai PS, Davis J, Yamamoto SY, Bryant-Greenwood GD. Human relaxins (RLNH1, RLNH2), their receptor (RXFP1) and fetoplacental growth. *Reproduction.* 2017;154(1):67–77. DOI: 10.1530/REP-17-0039

19. Horton JS, Yamamoto SY, Bryant-Greenwood GD. Relaxin augments the inflammatory IL6 response in the choriodecidua. *Placenta.* 2012;33(5):399–407. DOI: 10.1016/j.placenta.2012.02.002

20. Schmidt CL, Sarosi P, Steinetz BG, et al. Relaxin in human decidua and term placenta. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1984;17(2–3):171–182. DOI: 10.1016/0028-2243(84)90141-2

21. Bryant-Greenwood GD, Yamamoto SY, Lowndes KM, et al. Human decidual relaxin and preterm birth. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1041:338–344. DOI: 10.1196/annals.1282.054

22. Bryant-Greenwood GD, Kern A, Yamamoto SY, Sadowsky DW, Novy MJ. Relaxin and the human fetal membranes. *Reprod Sci.* 2007;14(8 Suppl):42–45. DOI: 10.1177/1933719107310821

23. Rissanen AS, Jernman RM, Gissler M, et al. Perinatal outcomes in Finnish twins: a retrospective study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;20(1):2. Corrected and republished from: *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020;20(1):438. DOI: 10.1186/s12884-019-2670-3

24. Bogner G, Wallner V, Fazelnia C, et al. Delivery of the second twin: influence of presentation on neonatal outcome, a case controlled study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2018;18(1):176. DOI: 10.1186/s12884-018-1815-0

ОБ АВТОРАХ

***Ольга Владимировна Пачулия;**

адрес: Россия, 199034, Санкт-Петербург,

Менделеевская линия, д. 3;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4116-0222>;

eLibrary SPIN: 1204-3160;

e-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com

Олеся Николаевна Беспалова, д-р мед. наук;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>;

e-mail: shiggerra@mail.ru

Мария Геннадьевна Бутенко;

<https://orcid.org/0000-0002-1404-371X>;

e-mail: butenkomariabutenko@gmail.com

Юлия Павловна Милютина, канд. биол. наук;

<https://orcid.org/0000-0003-1951-8312>;

e-mail: milyutina1010@mail.ru

Татьяна Георгиевна Траль, канд. мед. наук;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8948-4811>;

Scopus Author ID: 37666260400; eLibrary SPIN: 1244-9631;

e-mail: ttg.tral@yandex.ru

Гулрухсор Хайбуллоевна Толибова, д-р мед. наук;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6216-6220>;

Researcher ID: Y-6671-2018; Scopus Author ID: 23111355700;

eLibrary SPIN: 7544-4825; e-mail: gulyatolibova@yandex.ru

AUTHORS INFO

***Olga V. Pachuliya,** MD;

address: 3 Mendeleevskaya line,

Saint Petersburg, 199034, Russia;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4116-0222>;

eLibrary SPIN: 1204-3160;

e-mail: for.olga.kosyakova@gmail.com

Olesya N. Bepalova, MD, PhD, DSci (Medicine);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6542-5953>;

e-mail: shiggerra@mail.ru

Mariya G. Butenko, MD;

<https://orcid.org/0000-0002-1404-371X>;

e-mail: butenkomariabutenko@gmail.com

Yulia P. Milyutina, MD, PhD;

<https://orcid.org/0000-0003-1951-8312>;

e-mail: milyutina1010@mail.ru

Tatyana G. Tral, MD, PhD;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8948-4811>;

Scopus Author ID: 37666260400; eLibrary SPIN: 1244-9631;

e-mail: ttg.tral@yandex.ru

Gulrukhsor Kh. Tolibova, MD, PhD, DSci (Medicine);

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6216-6220>;

Researcher ID: Y-6671-2018; Scopus Author ID: 23111355700;

eLibrary SPIN: 7544-4825; e-mail: gulyatolibova@yandex.ru