На правах рукописи

Пекарева Евгения Олеговна

КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПОСЛЕ АБДОМИНАЛЬНОГО РОДОРАЗРЕШЕНИЯ

3.1.4.Акушерство и гинекология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2023 год

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской федерации и Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И.Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Баранов Игорь Иванович**

Официальные оппоненты:

Беженарь Виталий Федорович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой акушерства, гинекологии и неонатологии;

Цхай Виталий Борисович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой перинатологии, акушерства и гинекологии лечебного факультета.

Баринов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии №2;

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____2023 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 72.1.010.01 при Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области (101000, Москва, ул. Покровка, д.22А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте (http://moniiag.ru) Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии» Министерства здравоохранения Московской области.

Автореферат разослан «___» _____2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор Щукина Наталья Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Переживая эпидемию роста частоты кесарева сечения, приходится признать, что практически все рычаги ее сдерживания исчерпаны. Разработка новых шовных материалов, биоматериалов, стимулирующих процессы неоангиогенеза и миогенеза, обоснование стандартов антибиотикопрофилактики и терапии, и, наконец, внедрение методик метропластики для хирургической коррекции неполноценного рубца, не привели к существенным изменениям в оперативном акушерстве. Вместе с тем в начале XXI века наметилась смена парадигмы повторного абдоминального родоразрешения у пациенток с рубцом на матке.

В современном акушерстве рубец на матке после кесарева сечения, безусловно, является патологическим состоянием, которое осложняет течение беременности, родов и послеродового периода (Курцер М.А., 2022; Савельева Г.М., 2021; ACOG Practice Bulletin No. 205, 2019; Pekarev O.G., 2021; Ziętek M., 2021). Попытка самопроизвольных родов, согласно Клиническим рекомендациям РОАГ «Послеоперационный рубец на матке, требующий предоставления медицинской помощи матери во время беременности, родов и в послеродовом периоде» (2021) может быть рекомендована пациенткам с рубцом на матке после одного истмического КС при наличии одноплодной беременности в головном предлежании, без разрыва матки в анамнезе, при нормальной локализации плаценты вне рубца и при отсутствии неравномерного критического истончения зоны рубца с признаками деформации и явлений болезненности при надавливании влагалищным датчиком, т.е. полноценном рубце (Айламазян Э.К., 2015; Краснопольский В.И., 2018, Курцер М.А., 2022; Радзинский В.Е., 2017; Серов В.Н., 2017; Стрижаков А.Н., 2017; Савельева Г.М., 2021).

Поэтому во всем мире продолжается активный поиск методов улучшения репаративных свойств миометрия после перенесенного абдоминального родоразрешения, чтобы обеспечить пациентке в будущем безопасную возможность

самопроизвольных родов в условиях рубца на матке (Новикова В.А., 2022; Савина Л.В., 2022). Конечно, очень важна профилактика первого кесарева сечения, когда пациентка избегает риска возникновения рубца на матке и, соответственно, тех проблем, которые неминуемо возникают при этом патологическом состоянии (Вученович Ю.Д., 2022; Гус А.И., 2022; Сидорова Т.А., 2022). Но если по каким-то причинам роды завершились абдоминальным путем, необходимо обратить внимание на возможности клеточных технологий, которые сегодня приобретают особую значимость в клинической практике, поскольку наличие рубца на матке представляет не только медицинскую, но и серьезную социально-демографическую проблему (Сухих Г.Т., 2022).

Дискуссия о перспективах мезенхимальных стромальных клеток и продуктах их секретома – экстрацеллюлярных микровезикул и экзосом, начатая в начале XXI века, показала уникальность механизмов действия стволовых клеток, включающих способность взаимодействия и обмена, как белковым, так и генетическим материалом посредством секреции микровезикул. Экзосомы мезенхимальных стромальных клеток, являясь межклеточными коммуникаторами, показали свои преимущества в плане улучшения репарации тканей (Silachev D.N., 2019; Yamazaki K., 2021; Wang M.Y., 2021; Gao M., 2022). В этой связи есть все основания полагать, что использование экзосом мезенхимальных стромальных клеток, лишенных чужеродного генетического и клеточного материала, а значит и потенциального риска канцерогенности, улучшит течение послеоперационного периода и повысит шансы для последующего самопроизвольного родоразрешения пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения. (Pekarev O.G., 2021; Sukhikh G.T., 2020).

В настоящее время нет данных о клиническом использовании экзосом для оптимизации течения послеродового периода и профилактики инфекционно-воспалительных осложнений после абдоминального родоразрешения, поэтому понимание механизма их действия для улучшения процессов репарации альтерированного миометрия представляется крайне важным.

Степень разработанности темы диссертации. Внеклеточные экзосомы мезенхимальных стромальных клеток играют важную роль и выполняют функцию межклеточных коммуникаторов. Они содержат целый спектр биологических субстанций, включая мРНК, miR и ДНК. Экзосомы мезенхимальных стромальных клеток (ЭМСК) могут перепрограммировать поврежденную клетку-реципиент и саногенетически изменить ее функции. Внеклеточные везикулы, включая экзосомы, уже обнаружены в эндо- и миометрии различных млекопитающих, где они инициируют купирование воспалительной реакции, потенцируют подготовку эндометрия к имплантации и даже индукцию родов. Вместе с этим до сих пор нет доказанных данных о длительности нахождения введенных в матку экзосомах мезенхимальных стромальных клеток, а также их влияния на регенерацию миометрия после абдоминального родоразрешения как в эксперименте, так и в реальной клинической практике. Дискуссия о преимуществах мезенхимальных стромальных клеток и продуктах их секретома – экстрацеллюлярных микровезикул и экзосом, начатая в начале XXI века, показала уникальность механизмов действия стволовых клеток, включающую способность взаимодействия и обмена как белковым, так и генетическим материалом посредством секреции микровезикул. Внеклеточные везикулы, в том числе экзосомы мезенхимальных стромальных клеток, являясь межклеточными коммуникаторами, показали свою перспективность в плане улучшения репарации тканей.

Цель исследования: снижение частоты повторного кесарева сечения у женщин с рубцом на матке после абдоминального родоразрешения и профилактика инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде за счет экспериментального обоснования и клинического применения клеточных технологий.

Задачи исследования.

1. Разработать экспериментальную модель абдоминального родоразрешения с введением экзосом мезенхимальных стромальных клеток у лабораторных

крыс и проследить миграцию введенных экзосом в миометрии экспериментальных животных на основании применения методов световой микроскопии.

2. Оценить эффективность применения экзосом мезенхимальных стромальных клеток после абдоминального родоразрешения в эксперименте.

3. Провести ретроспективный анализ течения послеродового периода, подготовки и течения следующей беременности и повторного родоразрешения у пациенток с рубцом на матке после первого кесарева сечения в условиях традиционного его ведения.

4. Внедрить в клиническую акушерскую практику интраоперационное введение экзосом мезенхимальных стромальных клеток.

5. Проанализировать течение послеродового периода, частоту инфекционно-воспалительных осложнений у родильниц с интраоперационным введением экзосом мезенхимальных стромальных клеток и без экзосомной поддержки.

6. Определить возможность и обосновать целесообразность ведения родов через естественные родовые пути у женщин, которым в ходе предшествующего абдоминального родоразрешения проводилось введение экзосом мезенхимальных стромальных клеток.

7. Предложить алгоритм применения клеточных технологий в акушерской клинике и на основании этого снизить частоту повторных операций у женщин с рубцом на матке после кесарева сечения.

Научная новизна результатов исследования

В эксперименте впервые создана модель кесарева сечения на фоне многоплодной беременности у мелких экспериментальных животных, позволяющая не только изучить особенности течения беременности и родов, но и доказать возможность вагинального родоразрешения у крыс с рубцом на матке в условиях применения клеточных технологий.

В эксперименте впервые подтверждено, что введенные в маточные рога

как интактных, так и крыс после абдоминального родоразрешения, экзосомы мезенхимальных стромальных клеток визуализируются при световой люминесцентной микроскопии и присутствуют в месте введения не менее 8 суток.

В клинике впервые в акушерской практике проведено интраоперационное введение экзосом мезенхимальных стромальных клеток в область разреза нижнего сегмента для улучшения репарации тканей и профилактики инфекционно-воспалительных послеродовых осложнений. Получены морфологические данные о формировании полноценного рубца миометрия после кесарева сечения в условиях применения клеточных технологий.

Обоснована целесообразность применения экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения в ходе первого кесарева сечения для последующего самопроизвольного родоразрешения и снижения частоты повторного кесарева сечения.

Теоретическое и практическое значение работы

Показана эффективность методики интраоперационного введения экзосом мезенхимальных стромальных клеток как для профилактики инфекционно-воспалительных послеродовых осложнений, так и формирования полноценного рубца в эксперименте и в клинике.

Определена стратегия и тактика применения клеточных технологий, включающая интраоперационное ведение 500 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения в область шва нижнего сегмента матки. Определены группы беременных и рожениц с рубцом на матке после кесарева сечения для повышения вероятности самопроизвольного родоразрешения, улучшения перинатальных исходов и снижения частоты послеродовых инфекционно-воспалительных заболеваний.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Экзосомы мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения, введенные в область швов маточных рогов после смоделированного аб-

доминального родоразрешения, присутствуют там не менее 8 суток, способствуют выживаемости лабораторных крыс, формированию полноценного рубца и приводят к снижению мертворождаемости и летальности при последующем самопроизвольном родоразрешении экспериментальных животных.

2. Родоразрешение женщин путем операции кесарева сечения увеличивает риск развития послеродовых инфекционно-воспалительных осложнений, а также формирования неполноценного рубца на матке и патологической плацентации при последующей беременности. Частота самопроизвольных родов у женщин с рубцом на матке не превышает 9%.

3. Данные комплексных клинических, инструментальных и морфологических исследований указывают на более благоприятное течение послеродового периода, отсутствие осложнений, подтверждают формирование полноценного рубца на матке после операции кесарева сечения с введением экзосом мезенхимальных стромальных клеток. Частота повторного самопроизвольного родоразрешения у этой группы женщин достигает 71,4%.

4. Применение клеточных технологий в акушерской практике эффективно и безопасно при выполнении операции кесарева сечения первородящим, планирующим повторную реализацию репродуктивной функции. Кроме того, интраоперационное введение экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения целесообразно при абдоминальном родоразрешении для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений.

Степень достоверности результатов исследования. Первичная документация по теме диссертации оформлена в хронологической последовательности. Достоверность и обоснованность результатов исследования обеспечена достаточным объемом выборки, системностью исследовательских процедур и применением современного комплекса методов исследования и способов статистической обработки.

Апробация материалов диссертации. Результаты проведенного исследования доложены и обсуждены на II Национальном конгрессе по регенеративной

медицине с международным участием (Москва, 2015), X – XII и XIV международных конгрессах по репродуктивной медицине (Москва, 2016-2018, 2020), XXVII- XXVIII Всероссийских конгрессах с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» (Москва, 2021-2022), XXII-XXIII Всероссийских научно-образовательных форумах «МАТЬ И ДИТЯ» (Москва, 2021-2022).

Апробация диссертации проведена на заседании проблемной комиссии «Охрана здоровья женщины» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» 30.11.2022 года.

Внедрение результатов исследования в практику. Разработанный на основании экспериментальных и клинических данных алгоритм абдоминального родоразрешения внедрен в научно-прикладную деятельность лаборатории клеточных технологий ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова» Минздрава России, а интраоперационное введение экзосом мезенхимальных стромальных клеток, позволившее добиться самопроизвольного родоразрешения у пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения в 71,4% случаев, - в клиническую деятельность ГБУЗ НСО «Новосибирский городской клинический перинатальный центр». Полученные результаты используются в учебной и научно-исследовательской работе на кафедре акушерства и гинекологии лечебного факультета Новосибирского государственного медицинского университета.

Личный вклад автора. Автором проведены планирование и разработка дизайна диссертационного исследования, на основании этого сформулированы цель, задачи работы и выполнен анализ отечественной и иностранной литературы, отражающей современное состояние исследований по данной проблеме. Автором самостоятельно определен методологический подход, позволяющий наиболее полно решить поставленные в исследовании задачи. Автором самостоятельно выполнен весь комплекс запланированных методов, включая разработку модели абдоминального родоразрешения лабораторных крыс линии Wag. В кли-

нической практике автором проведена оценка течения беременности и родов, материнских и перинатальных исходов, выполнение УЗИ и гистероскопии, статистическая обработка данных, интерпретация и публикация основных результатов диссертационного исследования.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 27 печатных работ, в том числе 12 статей – в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов исследования, рекомендованных ВАК РФ, и 3 - в международных изданиях, включенных в систему Web of Science или Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 191 странице машинописного текста и состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и списка иллюстративного материала. Список литературы представлен 241 источником, из которых 170 в зарубежных изданиях. Работа иллюстрирована 21 таблицей, 59 рисунками и микрофотографиями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование проведено в рамках соглашения о сотрудничестве между Федеральным государственным бюджетным учреждением «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России (ФГБУ НМИЦ АГП, директор Г.Т. Сухих) и Федеральным государственным бюджетным учреждением науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (ФГБУН ИХБФМ СО РАН, директор Д.В. Пышный) от 7 июня 2019 года. Клинический фрагмент выполнен в Государственном бюджетном учреждении здравоохранения Новосибирской области Новосибирском городском клиническом перинатальном центре (ГБУЗ НСО «НГКПЦ», главный врач И.М. Поздняков) на основании решения локального этического комитета от 14 ноября 2019 года. Выполнение диссертационной работы включало в себя проведение четырех этапов (рисунок 1).

Рисунок 1. Дизайн исследования.

I этап заключался в разработке и проведении комплекса экспериментальных исследований. Была создана модель кесарева сечения у 342 мелких 6 месячных лабораторных крыс линии Wag весом 180 – 200 г. Они были разделены на 2 группы: 153 с введением экзосом при родоразрешении (12 были выведены на 2 и 8 сутки для поиска экзосом в оперированных рогах) и 189 без экзосомной поддержки (9 погибли на 12-16 сутки). Все манипуляции проводились в условиях общей ингаляционной эфирной анестезии в операционной с соблюдением правил асептики и антисептики в соответствии с ГОСТ 33215-2014. На II этапе был выполнен 5-летний ретроспективный анализ течения беременности, родов и послеродового периода у 600 женщин, а также повторного родоразрешения 240 беременных и рожениц с рубцом на матке после кесарева сечения, прооперированных с 2014 по 2018 г.г. в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре. В то время у пациенток не было выраженной мотивации на пробные самопроизвольные роды. На III этапе в ходе выполнения проспективного исследования проанализировано течение беременности и послеродового периода у 160 пациенток. Основную группу составили 60 первородящих беременных и рожениц, которым в процессе истмического кесарева сечения в область шва вводилось 500 мкл экзосом МСК. В группу сравнения вошли 100 беременных и рожениц с абдоминальным родоразрешением без экзосомной поддержки. Всем 160 пациенткам разрез на матке зашивался однорядным непрерывным викриловым швом и все они имели желание через 2-3 года рожать повторно и самопроизвольно. На заключительном IV этапе была проведена проспективная предгравидарная оценка состояния рубца на матке после предшествующего кесарева сечения у 60 пациенток основной группы и 100 женщин из группы сравнения; оценка состояния рубца на матке у 21 беременной с предшествующим использованием клеточных технологий и у 20 пациенток без экзосомной поддержки во время беременности.

Кроме того, проведена интранатальная оценка состояния рубца у 60 рожениц, в том числе у 19 из основной группы, 11 - из группы сравнения, и состояния

нижнего сегмента у 30 женщин без рубца на матке после кесарева сечения из контрольной группы, которым проводилось УЗИ.

Экзосомы МСК получали в стерильных условиях в лаборатории клеточных технологий ФГБУ НМИЦ АГП имени академика В.И. Кулакова из ткани пуповины человека. Материал пуповины человека был получен после родов здоровых женщин в возрасте от 25 до 30 лет (n = 6), которые родили здоровых доношенных детей в результате кесарева сечения в ФГБУ НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова. Пуповины, полученные после рождения, промывали в фосфатно-буферном физиологическом растворе (ФСБ) (Paneco) несколько раз. После удаления кровеносных сосудов ткань пуповины измельчали на фрагменты размером 1–2 мм^3. Клетки выращивали в полной питательной среде, состоящей из культуральной среды DMEM / F12 (Paneco) (1 : 1), 7 % фетальной бычьей сыворотки (Биосера, Nuaille) с добавлением пенициллина (100 ЕД/мл), стрептомицина (100 мкг/мл) (Gibco) и 2 мМ L-глутамина (Paneco), и инкубировали во влажной атмосфере с 5% CO2 при 37 °C. Питательную среду заменяли раз в 3-4 дня. Рост и морфологию клеток контролировали ежедневно под инвертированным световым микроскопом. По достижении 80 % конфлюэнтности, клетки трипсинизировали, центрифугировали (1600 g в течение 3 мин), ресуспензировали и пересаживали на новые культуральные флаконы. Для получения экзосом МСК использовали клетки третьего пассажа, с положительными маркерами МСК (CD73, CD90, CD105) и не имеющие антигенов гемопоэтических клеток (CD14, CD20, CD45, CD34). Кондиционную среду от культур МСК собирали на 3-м пассаже при 80-90% конфлюэнтности через 24 часа после добавления полной питательной среды, предварительно прошедшей все этапы центрифугирования с целью очищения от экстрацеллюлярных микровезикул, содержащихся в фетальной бычьей сыворотке. Для выделения экстрацеллюлярных микровезикул из кондиционированной среды использовали дифференциальное центрифугирование.

Кондиционированную среду (50 мл) из культур МСК собирали и подвергали последовательному центрифугированию для удаления мёртвых клеток и дебриса

(400g, 10 мин; 10 000g, 4°C, 30 мин). Полученный супернатант использовали для выделения экстрацеллюлярных микровезикул с помощью ультрацентрифугирования при 108 000g, 4°C в течение 1,5 ч на высокоскоростной центрифуге Avanti JXN-30 с последующей промывкой осадка экстрацеллюлярных микровезикул в ФСБ и повторным центрифугированием в аналогичных условиях. Окончательный осадок экстрацеллюлярных микровезикул ресуспензировали в 30 мкл ФСБ. Образцы везикул хранили при -80°C. Полученные суспензии экстрацеллюлярных микровезикул размораживали, объединяли образцы и проводили окрашивание PKH26. Общий объём суспензии микровезикул доводили до 2 мл коммерческим растворителем и добавляли 8 мкл красителя PKH26 с последующей инкубацией при комнатной температуре в темноте в течение 5 мин. Для отмывки от не связавшегося красителя суспензию центрифугировали (108 000g, 1.5 ч, 4°C). Полученный осадок ресуспензировали в 2.4 мл ФСБ и использовали для введения.

На экспериментальном этапе исследования была создана модель кесарева сечения у крыс инбредной линии Wag, на основании которой проведен морфологический анализ тканей матки после ушивания как на фоне визуально контролируемого введения экзосом МСК, так и интактным животным. После окончания абдоминального родоразрешения лабораторным животным в каждый шов вводилось 50 мкл экзосом МСК. Передняя брюшная стенка ушивалась послойно наглухо. Животных из 1 группы выводили из эксперимента через 2 и 8 сут после введения экзосом МСК, на точку эксперимента использовали 6 крыс. Гибели животных от хирургического вмешательства и послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений на фоне экзосом МСК не отмечено. Для исследования эффективности инъекции экзосом МСК после абдоминального родоразрешения брали фрагменты маточных рогов длиной примерно 1 см в дистальном и проксимальном направлении от каждого шва. Образцы фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере (pH 7.4) не менее 24 ч, обезвоживали,

просветляли в растворе изопреп («Биовитрум»), заключали в гистопласт и пропускали в условиях воздействия УФ-светом через фильтр Alexa Fluor 488 для получения зелёной фоновой аутофлюоресценции. Это позволяло получить хорошее контрастирование объектов с люминесценцией при установке фильтра для родамина (красный цвет и его оттенки хорошо видны на зелёном фоне) и представление о структуре исследуемых тканей и местоположении светящихся красным цветом структур в той или иной ткани.

Клиническую часть исследования составили 790 беременных и рожениц, родоразрешенных в 2014-2022 г.г. в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре. Ретроспективный анализ проведен у 600 пациенток, не мотивированных на повторные самопроизвольные роды, родоразрешенных путем кесарева сечения с зашиванием разреза на матке однорядным непрерывным викриловым швом без экзосомной поддержки. 160 беременных и рожениц, включенных согласно дизайна исследования в проспективный этап, были разделены на 2 группы:

1 группа (основная) – 60 первородящих женщин, мотивированных на повторные самопроизвольные роды, которым интраоперационно в ходе абдоминального родоразрешения и ушивания разреза на матке однорядным непрерывным викриловым швом проводилось введение 500 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения.

2 группа (сравнения) – 100 женщин, мотивированных на повторные самопроизвольные роды, родоразрешенных путем кесарева сечения с зашиванием разреза на матке однорядным непрерывным викриловым швом без экзосомной поддержки.

Кроме того, 30 рожениц без рубца на матке после кесарева сечения, которым проводилась интранатальная ультразвуковая оценка нижнего сегмента, были включены в группу контроля. По возрасту (20–36 лет), по соматическому, гинекологическому статусу и социальному положению пациентки клинических групп существенно не отличались друг от друга.

На предгравидарном этапе 110 женщинам с рубцом на матке после предшествующего кесарева сечения через 6-12 месяцев после абдоминального родоразрешения проведена магнитно-резонансная томография. МРТ органов малого таза проводилось с целью оценки толщины и структуры миометрия в области послеоперационного шва по стандартной методике в сагиттальной плоскости на аппарате GE SIGNA Voyager 1,5 Т. Данный объективный метод визуальной диагностики проводился 50 пациенткам с экзосомной поддержкой в анамнезе и 60 женщинам без таковой.

Также на этапе планирования будущей беременности проведена офисная гистероскопия 115 женщинам с рубцом на матке после предыдущего абдоминального родоразрешения (45 пациенток с экзосомной поддержкой и 70 – без использования клеточных технологий). Применяли традиционную жидкостную методику, описанную в Атласе и руководстве по гистероскопии [Савельева, Г. М., 2018].

Проанализированы результаты 1165 ультразвуковых исследований у 240 пациенток из группы ретроспективного анализа, у 50 женщин из основной и 60 из группы сравнения для изучения структуры и толщины миометрия в проекции послеоперационного рубца через 6-12 месяцев после кесарева сечения и во время последующей беременности. В том числе в процессе родов для анализа динамики толщины нижнего сегмента матки у 30 рожениц с интактной маткой (группа контроля), у 19 из I группы, 11 из 2 группы и у 26 рожениц, которые анализировались ретроспективно, проводилось УЗИ в I периоде родов при открытии шейки матки на 2, 4, 6 и 8 см, соответственно. Использовали надлонное расположение объемного конвексного датчика RAB6-D частотой 2-8 МГц и внутриполостной датчик IC5-9-D частотой 4-9 МГц аппарата «GE Voluson E8».

Для статистической обработки данных использовали электронные таблицы «Microsoft Excel» и пакет программ «Graph Pad Prism 6» (Graph Pad Software). При описании количественных данных, имеющих нормальное распределение, использовали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (SD). При

анализе параметрических данных рассчитывали среднее значение и среднеквадратичное отклонение. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ МИКРОВЕЗИКУЛ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ

Создание модели рассечения рогов матки и результаты родоразрешения лабораторных животных. На основании поставленной задачи экспериментальные крысы были разделены на 2 группы: 153 с введением экзосом МСК (по 6 животных было выведено на 2 и 8 сутки соответственно для поиска экзосом МСК в оперированных рогах) и 189 без экзосомной поддержки (9 животных погибло на 12-16 сутки). По завершении основного этапа абдоминального родоразрешения вводили экзосомы МСК в каждый шов - 50 мкл (~5 мкг) на один рог матки, разделив 100 мкл на количество швов, чтобы доза на животное была одинакова. Для чистоты эксперимента экзосомы МСК вводили и в интактный рог.

Динамика распределения ЭМСК у интактных животных. При введении ЭМСК в интактные ткани матки крыс, через 2 сут в проксимальном, медиальном и дистальном отделах маточных рогов были обнаружены единичные, очень мелкие пылевидные объекты, светящиеся красным цветом, что связано с преимущественной люминесценцией на фоне применения фильтра Rhod (рисунок 2, а). Такие объекты были расположены в основном свободно в тканях органа, но иногда отмечался чёткий красный оттенок включений в крупных клеточных элементах, скорее всего, в макрофагах (рисунок 2, б, в).

Через 8 суток количество окрашенных PKH26 объектов значительно уменьшалось во всех исследованных отделах матки (рисунок 3).

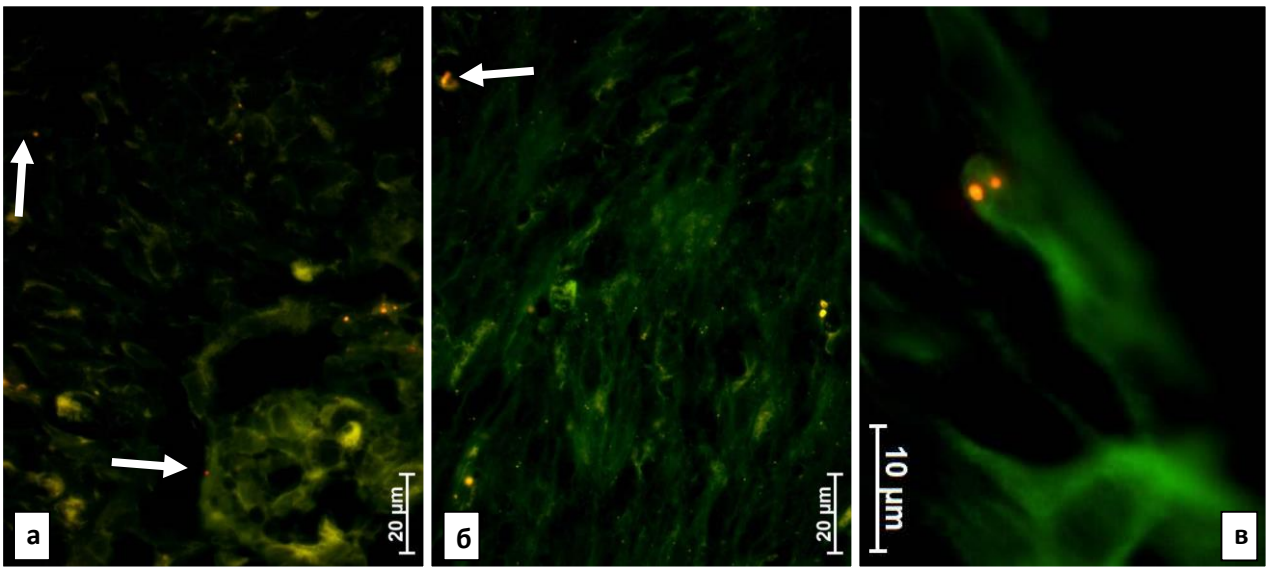

Рисунок 2 (а,б,в). Ткани различных отделов маточных рогов крыс на 2 сутки после инъекции ЭМВ. Совмещение изображений, полученных в люминесцентном режиме микроскопа с фильтрами Alexa 488 и Rhod. а - преимущественное свечение с фильтром Rhod единичных очень мелких объектов (стрелки). б - в крупной клетке цитоплазма флюоресцирует с сильным красным оттенком (стрелка). в - преобладание свечения с фильтром Rhod включений в клеточной цитоплазме.

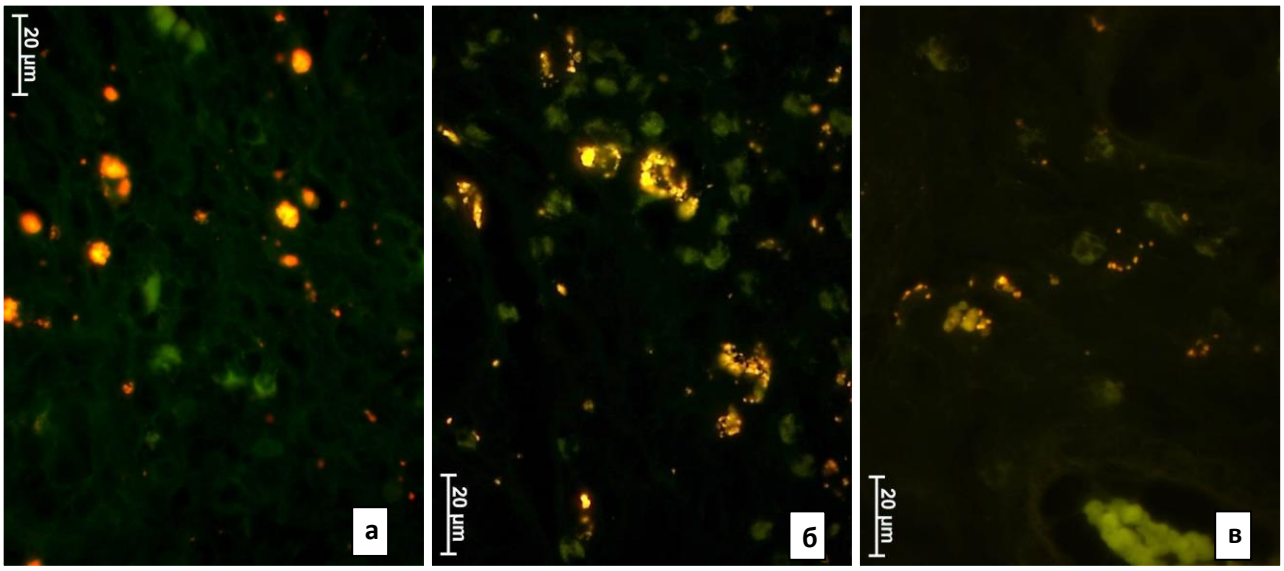

Рисунок 3 (а,б,в). Ткани различных отделов маточных рогов крыс на 8 сутки после инъекции ЭМВ. Совмещение изображений, полученных в люминесцентном режиме микроскопа с фильтрами Alexa 488 и Rhod, а - преобладание равномерного свечения с фильтром Rhod крупных овальных объектов, б, в - в больших клетках включения в цитоплазме флюоресцируют с сильным красным оттенком.

Были обнаружены более интенсивно светящиеся при использовании фильтра Rhod структуры, которые являлись или клеточными элементами с отчасти

равномерной и очень яркой флюоресценцией цитоплазмы (рисунок 3, а), или чётко очерченными овальными включениями в макрофагах (рисунок 3, б, в).

Динамика распределения ЭМСК после абдоминального родоразрешения. На 2 сутки после инъекции ЭМСК в область швов на матке только в отдалении от самого шовного материала можно было обнаружить меченые объекты разных размеров, расположенные, как правило, поодиночке (рисунок 4, а, б), в количестве иногда даже большем, чем при введении ЭМВ в медиальную треть рога интактной матки. Ближе к месту хирургического вмешательства структуры, похожие на ЭМВ, не выявлялись. Однако, следует отметить скопления макрофагов, расположенных вблизи повреждённых при разрезе матки тканей. В таких клетках иногда регистрировали довольно яркое красное свечение при использовании фильтра Rhod (рисунок 4, в).

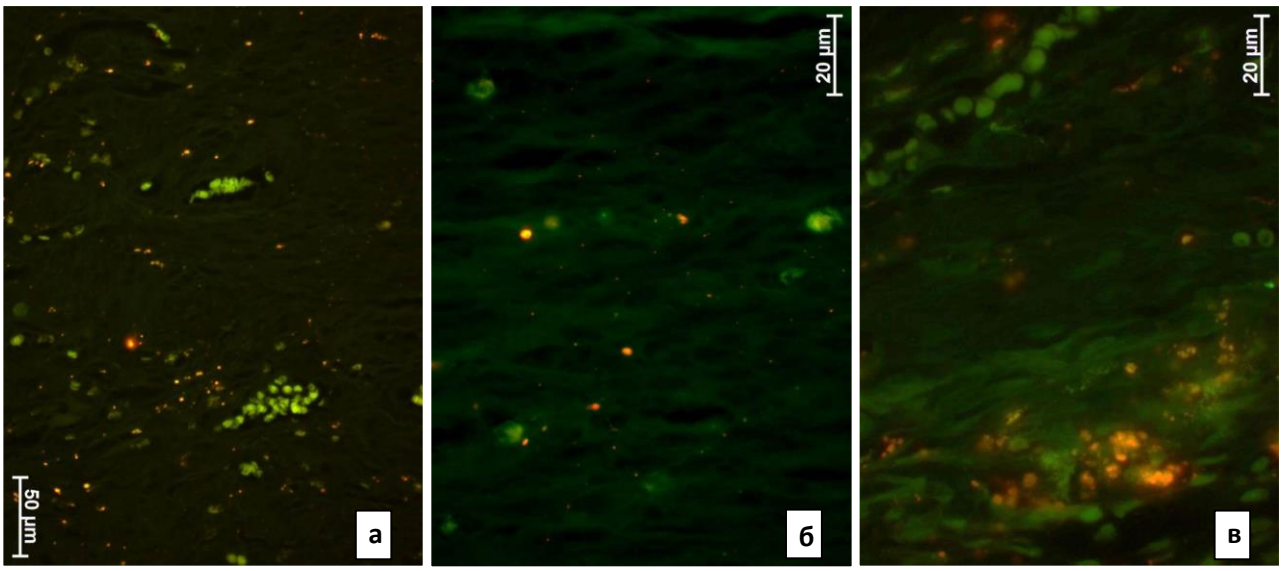

Рисунок 4 (а,б,в). Маточные рога крыс после абдоминального родоразрешения и инъекции ЭМВ. Совмещение изображений, полученных в люминесцентном режиме микроскопа с фильтрами Alexa 488 и Rhod, а - в - 2 сутки после операции, а - множество мелких объектов с преимущественным свечением с фильтром Rhod, б - одиночные объекты с преобладанием флюоресценции с фильтром Rhod, в - в крупных клетках включения в цитоплазме светятся с сильным красным оттенком.

К 8 суткам количество объектов с интенсивной флюоресценцией уменьшалось, но, по-прежнему, мелкие пылевидные структуры с ярким красным свечением присутствовали, в основном поодиночке, в разных отделах маточных рогов (рисунок 4, г, д, е). ЭМСК по специфической метке были зарегистрированы в

миометрии (рисунок 4, г) и в сосудах (рисунок 4, д) вдали от места операции, а также непосредственно в месте хирургического вмешательства - рядом с шовным материалом (рисунок 4, е). Обнаружение минимального количества экзосом мезенхимальных стромальных клеток в проксимальной трети рога интактной матки и максимального в медиальном отделе свидетельствует о том, что инъекция была сделана непосредственно в ткани матки, а не в её полость (просвет маточного рога), откуда введённые экзосомы мезенхимальных стромальных клеток быстро элиминировали бы наружу и не оказались в стенке органа.

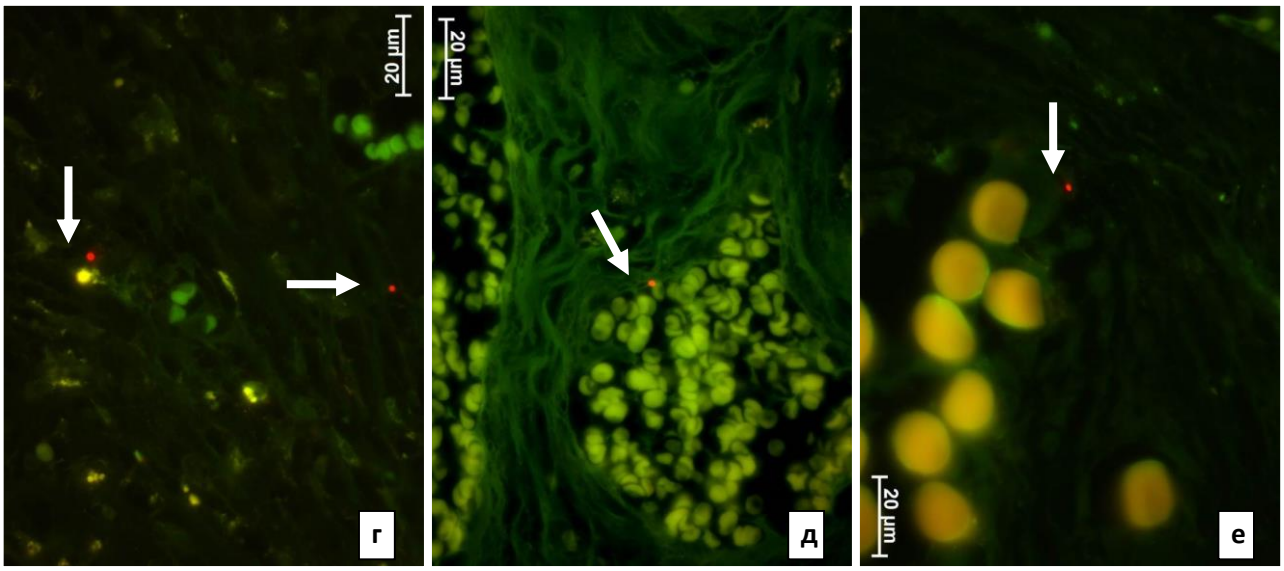

Рисунок 4 (г,д,е). Маточные рога крыс после абдоминального родоразрешения и инъекции ЭМВ. Совмещение изображений, полученных в люминесцентном режиме микроскопа с фильтрами Alexa 488 и Rhod. г - е - 8 сутки после операции. г - единичные очень мелкие объекты ярко флюоресцируют в миометрии (стрелки) с фильтром Rhod. д - объект в просвете сосуда светится красным цветом (стрелка). е - рядом с филаментами шовного материала, ярко флюоресцирующий с фильтром Rhod объект (стрелка).

Проведенные исследования показали, что введенные экзосомы в матку лабораторных животных, как интактных, так и после абдоминального родоразрещения, остаются там в течение минимум 8 суток. Причём на фоне моделирования кесарева сечения экзосомы мезенхимальных стромальных клеток в некоторых случаях присутствуют в матке в большем количестве, чем после введения в интактный орган, что может быть связано с блокадой микроциркуляции крови и лимфотока при воспалении, сопровождающем хирургическое вмешательство.

Постепенно количество экзосом в тканях матки уменьшается вследствие фагоцитоза макрофагами и, возможно, миграции в сосудистое русло. После инъекции экзосом мезенхимальных стромальных клеток их можно обнаружить в тканях методами световой микроскопии при соответствующем окрашивании.

В 1 группе прооперированных животных с экзосомной поддержкой не было отмечено ни одного случая летальности, в то время как во 2 группе погибала практически каждая двадцатая крыса 9/189 (4,8%). При повторных родах частота мертворождений у животных, которым в ходе предшествующего абдоминального родоразрешения интраоперационно в область шва вводились экзосомы мезенхимальных стромальных клеток была в 1,5 меньше (таблица 1).

Таблица 1 - Особенности повторного самопроизвольного родоразрешения у лабораторных крыс.

ПОКАЗАТЕЛИ	Группы животных			
	После введения экзосом (n = 141)		Без введения экзосом (n = 180)	
	n	%	n	%
Мертворожденность	9	6,3	18	9,5
Среднее число помета	5,7 ±2,06		3,9 ±2,13	
Мах число помета	10		9	

Таким образом, получены убедительное экспериментальное подтверждение возможности использования экзосом МСК в клинической практике.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Ретроспективный анализ течения послеоперационного периода у пациенток после абдоминального родоразрешения. В ходе ретроспективного анализа историй родов 600 пациенток, родоразрешенных в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре в 2014 – 2018 г.г., было установлено, что первое предшествующее абдоминальное родоразрешение в плановом по-

рядке было произведено 267/600 (44,5%) беременным. В структуре плановых кесаревых сечений преобладали пациентки с полным (смешанным) ягодичным предлежанием – 246/600 (41%). При этом 12/600 (2%) пациенток с полным ягодичным предлежанием были прооперированы в экстренном порядке, учитывая поступление в акушерский стационар в активной фазе родов.

Среди 333/600 (55,5%) рожениц, прооперированных в экстренном порядке, 132/600 (22%) были родоразрешены путем кесарева сечения по поводу слабости родовой деятельности, не поддающейся медикаментозной коррекции, 21/600 (3,5%) роженица - из-за выпадения петель пуповины и 168/600 (28%) были прооперированы по поводу острого дистресса плода.

При этом только у 5/600 (0,83%) новорожденных неонатологами фиксировались признаки асфиксии легкой степени - оценка по Апгар 6/7 баллов, что потребовало их двухдневного пребывания в отделении реанимации и интенсивной терапии. Анализ родоразрешения у женщин группы ретроспективного наблюдения представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Показатели родоразрешения у женщин группы ретроспективного анализа

Показатели	Группа ретроспективного анализа, n=600	
	M	SD
Время операции (мин.)	35,3	2,62
Общая кровопотеря (мл)	593,7	55,4
Время I периода*, ** (в часах)	9,16	2,28
Безводный промежуток*** (в часах)	8,67	2,32
Послеоперационный койко-день	5,41	1,11
Число лейкоцитов (10^9 /л) при выписке	13,2	1,3
Расширение нижней $^1/_3$ полости матки по УЗИ (мм)	18,3	1,71
Примечание: * - для экстренных кесаревых сечений, ** = 333, *** = 32		

У 56/600 (9,3%) родильниц в послеоперационном периоде зарегистрированы инфекционно-воспалительные осложнения. Так у 33/600 (5,5%) диагностировался эндометрит и у 23/600 (3,8%) – лохиометра. Поскольку женщины, которым проводился ретроспективный анализ родоразрешения и течения послеоперационного периода, планировали повторные беременности, у 60 пациенток проведено МРТ и УЗИ через 6 месяцев после предыдущего кесарева сечения (таблица 3).

Таблица 3 - МРТ и УЗИ значения толщины рубца миометрия после предшествующего кесарева сечения

Визуальные методы контроля	M ± m	SD
МРТ (в мм)	6,76± 0,33	1,07
УЗИ (в мм)	6,73± 0,17	0,46

Толщина миометрия в области рубца по данным МРТ составила 6,76 (1,07) мм. При этом у 11/60 (18,3%) пациенток имело место истончение послеоперационного рубца менее 2 мм с формированием «ниши» на протяжении 4-6 мм (все они перенесли послеродовый метроэндометрит) (рисунок 5). По данным УЗИ - толщина миометрия в области рубца составила 6,73 (0,46) мм. При этом практически у каждой четвертой пациентки - 10/40 (25%) - визуализировались признаки неполноценности (рисунок 6).

Для объективизации состояния послеоперационного рубца на матке 40 пациенткам, планирующим беременность, проведена офисная гистероскопия через 6-12 месяцев после предшествующего кесарева сечения. При гистероскопическом исследовании у 9/40 (22,5%) были визуализированы признаки неполноценности: выпрямление рубца, образование углов и асимметрии, наличие углублений и выбуханий, вдавление по ходу части или всего рубца и изменение окраски над рубцом, вплоть до белого цвета.

Рисунок 5. МРТ миометрия в области рубца

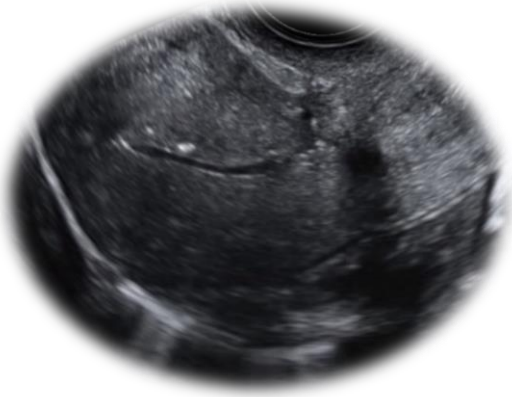

Рисунок 6. УЗИ миометрия в области рубца

Таким образом, предгравидарная оценка рубца на матке выявила признаки его неполноценности у некоторых женщин, которые проявлялись в виде ниши по данным МРТ у 18,3%, по данным УЗИ и гистероскопии у 25% и 22,5% пациенток, соответственно. Полученные результаты исключают возможность самопроизвольного родоразрешения в будущем у этих женщин, которые планируют повторно реализовать свой репродуктивный потенциал.

Проспективный анализ течения послеоперационного периода у пациенток после абдоминального родоразрешения. 160 пациенток были родоразрешены в 2018-2022 г.г. в Новосибирском городском клиническом перинатальном центре и разделены на две группы.

1 группа (основная) – 60 первородящих женщин, мотивированных на повторные самопроизвольные роды, которым интраоперационно в ходе абдоминального родоразрешения и ушивания разреза на матке однорядным непрерывным викриловым швом проводилось введение 500 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения.

2 группа (сравнения) – 100 женщин, мотивированных на повторные самопроизвольные роды, родоразрешенных путем кесарева сечения с зашиванием разреза на матке однорядным непрерывным викриловым швом без экзосомной поддержки.

В основной группе первое абдоминальное родоразрешение в плановом порядке было произведено 26/60 (43,3%) беременным (таблица 4).

Таблица 4 - Структура показаний для первого кесарева сечения в группах проспективного исследования.

Показания	1 (основная) (n = 60)				2 (сравнения) (n = 100)			
	План.		Экстр.		План.		Экстр.	
	N	%	n	%	N	%	n	%
Смешанное ягодичное предлежание	21	35	-	-	43	43	-	-
Острый дистресс плода	-	-	18	30	-	-	33	33
Слабость родовой деятельности, неподдающаяся медикаментозной коррекции	-	-	14	23,3	-	-	20	20
Краевое предлежание плаценты	5	8,3	-	-	4	4	-	-
Выпадение петель пуповины	-	-	2	3,3	-	-	-	-
Всего	26	43.3	34	56,7	47	47	53	53

В структуре плановых кесаревых сечений преобладали пациентки с полным (смешанным) ягодичным предлежанием: в основной группе - 21/60 (35%), в группе сравнения - 43/100 (43%). Так же первое плановое кесарево сечение пациенткам с экзосомной поддержкой было произведено у 5/60 (8,3%) с краевым предлежанием плаценты, которые в анамнезе имели 1-3 артифициальных аборта. В группе сравнения - это показание фиксировалось у 4/100 (4%). У 34/60 (56,7%) рожениц основной группы было родоразрешение в экстренном порядке и им в ходе кесарева сечения было интраоперационно введено 500 мкл экзосом МСК пуповинного происхождения.

Среди пациенток с экзосомной поддержкой и родильниц, которым интраоперационно не вводились экзосомы МСК, не выявлено значимых различий ни по времени оперативного вмешательства (1 группа - 34,6 (4,66) мин., 2 группа - 34,8 (3,76) мин., $P_{1-2} = 0,77$), ни по объему интраоперационной кровопотери – 610,0 (87,7) мл и 587 (77,6) мл, соответственно – $P_{1-2}= 0,08$ (таблица 5).

Таблица 5 - Показатели предшествующего родоразрешения у беременных и рожениц в группах проспективного исследования.

Показатели	1 группа n=60		2 группа n=100		P
	M	SD	M	SD	
Время операции (мин.)	34,6	4,66	34,8	3,76	$P_{1-2} = 0,77$
Общая кровопотеря (мл)	610	87,7	587	77,6	$P_{1-2} = 0,08$
Продолжительность I периода*, **(в часах)	9,29	2,55	9,01	1,43	$P_{1-2} = 0,52$
Безводный промежуток*** (в часах)	8,75	1,82	7,87	1,45	$P_{1-2} = 0,02$
Послеоперационный койко-день	4,35	0,51	5,15	1,64	$P_{1-2} = 0,03$
Число лейкоцитов (10^9/л) при выписке	10,9	1,79	13,1	1,19	$P_{1-2} = 0,03$
С-реактивный белок (мг/л) при выписке	3,4	1,44	4,38	3,05	$P_{1-2} = 0,021$
Расширение нижней $^1/_3$ полости матки по УЗИ (мм)	15,6	1,51	19,2	2,3	$P_{1-2} = 0,006$
Примечание: * - для экстренных кесаревых сечений, ** - n1 = 34, n2 = 53, *** - n1 = 29, n2 = 48.					

В то же время были выявлены различия в продолжительности безводного промежутка, который является фактором риска реализации послеродовых инфекционно-воспалительных осложнений. В основной группе этот показатель составил 8,75 (1,82) часов, что было значимо выше, чем в группе сравнения – 7,87 (1,45) - $P_{1-2} = 0,02$ (рисунок 7).

У пациенток 1 группы (основной), несмотря на достоверно больший безводный промежуток, не было зафиксировано послеродовых инфекционно-воспалительных осложнений, тогда как у родильниц 2 группы (сравнения) было зафиксировано осложненное течение послеоперационного периода: в 6 /100 (6%) случаях был зарегистрирован эндометрит и в 2/100 (2%) случаях - лохиометра.

Достоверные различия в меньшей продолжительности пребывания родильниц основной группы в акушерском стационаре 4,35 (0,51), P_{1-2} = 0,03 (рисунок 8) были связаны с более низким уровнем СРБ в сыворотке крови - 3,4 (1,44) мг/л, P_{1-2} = 0,021 (рисунок 9), содержанием лейкоцитов в периферической крови на момент выписки - 10,9 (1,79) х 10^9 /л, P_{1-2} = 0,03 (рисунок 10) и с ускоренной инволюцией матки (рисунок 11).

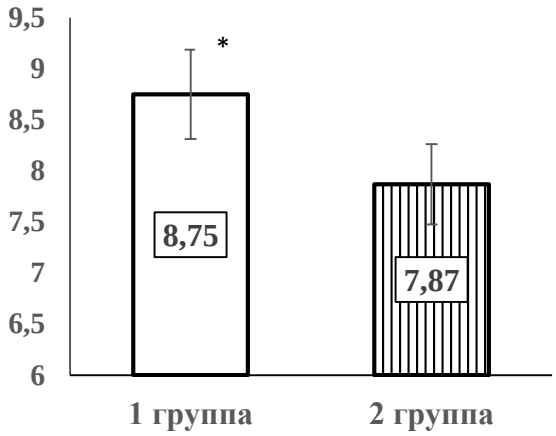

Рисунок 7. Продолжительность безводного промежутка (в часах). * - достоверность различий между 1 и 2 группами (P_{1-2} = 0,02).

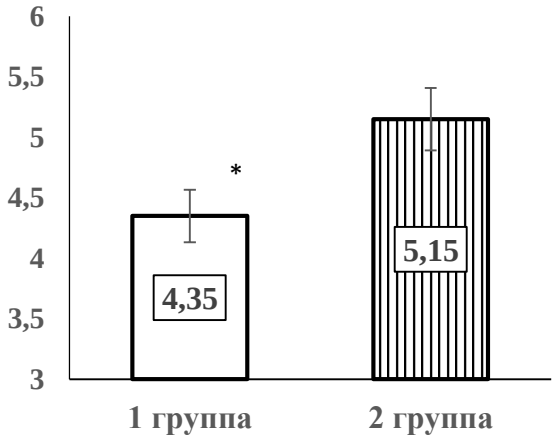

Рисунок 8. Продолжительность послеоперационного койко-дня (в днях). * - достоверность различий между 1 и 2 группами (P_{1-2} = 0,03).

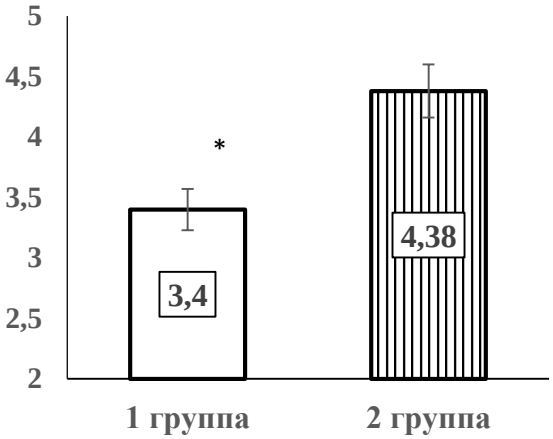

Рисунок 9. Показатели СРБ в сыворотке крови (мг/л). * - достоверность различий между 1 и 2 группами (P_{1-2} = 0,021).

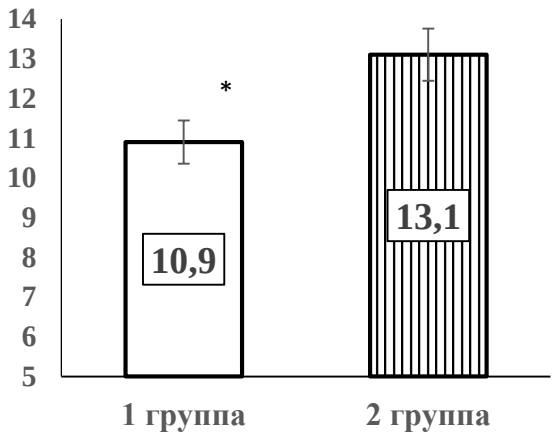

Рисунок 10. Число лейкоцитов в периферической крови (10^9 /л) при выписке. * - достоверность различий между 1 и 2 группами (P_{1-2} = 0,03).

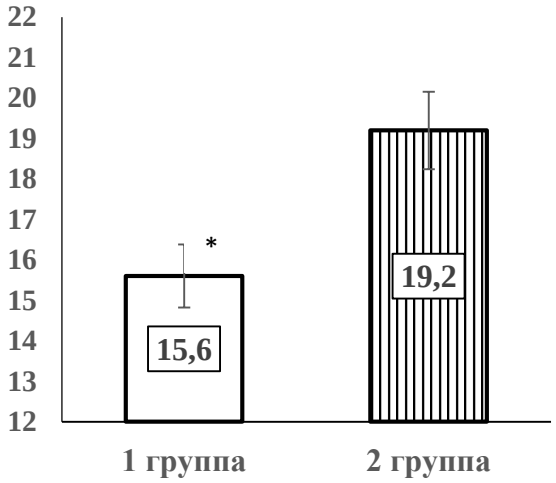

Рисунок 11. Расширение нижней $^1/_3$ полости матки по УЗИ (мм). * - достоверность различий между 1 и 2 группами (P_{1-2} = 0,006).

Расширение нижней $^1/_3$ полости матки по УЗИ у пациенток без экзосомной поддержки составила 19,2 (2,3) мм P_{1-2} = 0,006 (рисунок 11). У 50 пациенток основной группы с предшествующей экзосомной поддержкой и у 60 пациенток из группы сравнения, которым проводилось традиционное ведение послеродового периода, выполнено МРТ и УЗИ через 6 месяцев после предыдущего кесарева сечения (таблица 6).

Таблица 6 - МРТ и УЗИ значения толщины рубца миометрия после КС в группах проспективного исследования

Визуальные методы контроля	1 группа (основная)		2 группа (сравнения)		P
	M	SD	M	SD	
МРТ (в мм) *	8,14	1,04	6,7	2,09	P_{1-2} = 0,005
УЗИ (в мм) **	7,86	0,91	6,9	1,02	P_{1-2} = 0,006
Примечание: * n = 50, ** n = 60					

Данный диагностический поиск проводился с целью определения критериев полноценности рубца, поскольку пациентки планировали последующую беременность и были заинтересованы в самопроизвольном родоразрешении. У пациенток, которым в ходе первого кесарева сечения вводились экзосомы МСК – признаков неполноценности рубца и феномена «ниши» не обнаружено – толщина миометрия в области рубца по данным МРТ составила 8,14 (1,04) мм, тогда как во второй группе (сравнения) - 6,7 (2,09) мм, P_{1-2}= 0,005. В то же время у 6/60 (10%) женщин из 2 группы, которые перенесли послеродовый метроэндометрит,

имело место истончение послеоперационного рубца менее 2 мм с формированием «ниши» на протяжении 4-6 мм. Для оценки состояния рубца 50 и 60 пациенткам основной группы и группы сравнения, соответственно, которые были мотивированы на самопроизвольные роды, проведено УЗИ. Толщина миометрия в области рубца составила 7,86 (0,91) мм, тогда как во второй группе (сравнения) - 6,9 (1,01) мм, P_{1-2}= 0,006. По данным УЗИ абсолютно гомогенный миометрий, не имеющий плотных включений и по виду не отличающийся от остальных стенок матки, был выявлен у 39/50 (78%), т.е. у подавляющего большинства пациенток основной группы. С этой же целью 45 и 70 женщинам основной группы и группы сравнения в предгравидарном периоде проводилась офисная гистероскопия через 6-12 месяцев после предшествующего кесарева сечения.

При гистероскопическом исследовании в основной группе не было выявлено признаков внутриматочной патологии (рисунок 12).

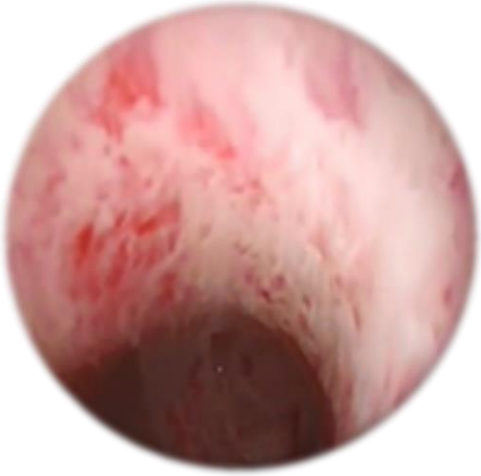

Рисунок 12. Гистероскопия через 6 месяцев после кесарева сечения в нижнем сегменте поперечным разрезом с интраоперационным введением 500 мкл экзосом МСК. Визуальные признаки полноценного рубца на матке.

Таким образом, проведенный проспективный анализ показал значительно более благоприятное течение послеродового периода у женщин, которым в ходе кесарева сечения проводилась экзосомная поддержка. Это проявлялось в значимо меньшей продолжительности послеоперационного койко-дня, расширения нижней трети полости матки, показателей воспалительной реакции (лейкоцитоза и С-реактивного белка), отсутствии инфекционно-воспалительных осложнений и формировании полноценного рубца через 6-12 месяцев по данным МРТ, УЗИ и гистероскопии.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РОДОРАЗРЕШЕНИЯ ПАЦИЕНТОК С РУБЦОМ НА МАТКЕ, КОТОРЫМ В ХОДЕ ПРЕДШЕСТВУЮЩЕГО КЕСАРЕВА СЕЧЕНИЯ ВВОДИЛИСЬ ЭКЗОСОМЫ МСКИ БЕЗ ЭКЗОСОМНОЙ ПОДДЕРЖКИ

Повторные беременности наступили у 240/600 (40%) ретроспективно проанализированных на II этапе женщин с рубцом на матке после кесарева сечения с традиционным ведением послеоперационного периода, у 21/60 (35%) женщин, которым в ходе абдоминального родоразрешения вводились экзосомы мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения (основная группа) и у каждой пятой пациентки 20/100 (20%) без экзосомной поддержки (группа сравнения).

В I периоде родов пациенткам после абдоминального родоразрешения для оценки полноценности рубца на матке, а также 30 роженицам с интактным миометрием (в исследование введена группа контроля) проводили динамическое ультразвуковое исследование как в латентной, так и в активной фазе родов (таблица 7).

Таблица 7 - УЗИ нижнего сегмента матки (мм)

Раскрытие шейки матки	Группы рожениц					
	Группа контроля (n = 30)		1 группа (основная) (n=19)		2 группа (сравнения) (n=11)	
	M ± m		M ± m		M ± m	
	M	M	M	m	M	m
2 см	8,66*	0,25	7,66	0,16	6,80**	0,17
4 см	7,20	0,17	6,86	0,13	5,93**	0,18
6 см	5,06*	0,20	3,93	0,18	3,06**	0,11
8 см	3,26	0,18	3,13	0,13	1,86**	0,13
Примечание: * $p < 0,05$ рожениц с экзосомной поддержкой от рожениц с интактной маткой; ** $p < 0,05$ рожениц без экзосомной поддержки от рожениц без рубца и от рожениц с экзосомной поддержкой.						

Анализ ультразвуковых исследований показал отсутствие значимых различий толщины нижнего сегмента между пациентками, которым применялись клеточные технологии и роженицами из группы контроля практически на протяжении всей активной фазы родов. Так при раскрытии шейки матки на 4 см у рожениц из группы контроля (пациентки без рубца на матке) толщина нижнего сегмента составила 7,2±0,17 мм, в то время как у рожениц основной группы 6,86±0,13 мм (p> 0,05). Подобная динамика прослеживалась и при открытии маточного зева 8 см –3,26±0,18 и 3,13±0,13 мм, соответственно, p> 0,05 (рисунок 13).

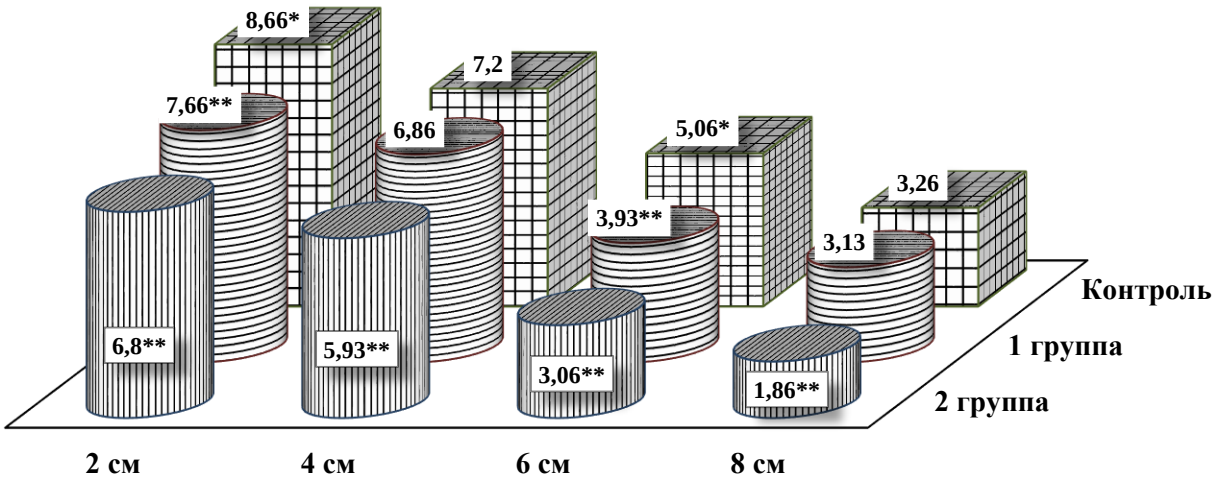

Рисунок 13. УЗИ - толщина интактного миометрия и рубца на матке после КС на протяжении I периода родов (в мм). * p < 0,05 рожениц с экзосомной поддержкой от рожениц с интактной маткой (контрольная группа); ** p <0,05 рожениц без экзосомной поддержки (2 группа) от рожениц без рубца и от рожениц с экзосомной поддержкой (1 группа).

При этом толщина миометрия в области нижнего сегмента у женщин с экзосомной поддержкой в латентной фазе (открытие шейки матки 2 см) была значимо ниже по сравнению с пациентками контрольной группы - 7,66±0,16 мм и 8,66±0,25, p < 0,05. Аналогичная ситуация была выявлена и при раскрытии маточного зева 6 см – 3,93±0,18 и 5,06±0,2 мм, p < 0,05, соответственно. В тоже время у пациенток, которым в ходе первого кесарева сечения не применялись

клеточные технологии, миометрий оставался достоверно тоньше на протяжении всего I периода родов как по сравнению с пациентками основной группы, так и женщинами из контрольной группы.

Таким образом, повторно родоразрешена 281 беременная и роженица с рубцом на матке: 21 из основной группы, 20 из группы сравнения и 240 из группы ретроспективного анализа. Длительность I и III периодов родов, а также продолжительность безводного промежутка как в группе с экзосомной поддержкой, так и в группах сравнения и ретроспективного анализа, т.е. без использования клеточных технологий, была практически одинаковой.

При этом следует обратить внимание, что 2/21 (9,5%) беременные из 1 (основной) группы, 5/20 (25%) из 2 группы (сравнения) и 80/240 (33,3%) из группы ретроспективного анализа были прооперированы в плановом порядке, поэтому анализ длительности родов и безводного промежутка проведен у 19, 15 и 160 рожениц 1, 2 и группы ретроспективного анализа, соответственно (таблица 8).

Таблица 8 - Продолжительность родов и безводного промежутка

ПОКАЗАТЕЛИ	1 группа (основная) (n=19)		2 группа (сравнения) (n=15)		Группа ретроспективного анализа (р) (n=160)		P
Периоды родов	M	SD	M	SD	M	SD	
I (в часах)	11,9	1,8	11,1	1,1	11,5	1,4	P_{1-2} = 0,17 P_{1-p} = 0,41 P_{2-p}= 0,37
II (в минутах)*	45,2	9,9	34,0	0,8	37,3	4,1	**P_{1-2} = 0,04** **P_{1-p}= 0,02** P_{2-p}= 0,12
III (в минутах)*	13,9	3,7	13,0	1,4	14,7	4,25	P_{1-2} = 0,63 P_{1-p} = 0,57 P_{2-p}= 0,44

Таблица 8 (продолжение)

ПОКАЗАТЕЛИ	1 группа (основная) (n=19)		2 группа (сравнения) (n=15)		Группа ретроспективного анализа (р) (n=160)		Р
Периоды родов	M	SD	M	SD	M	SD	
Безводный промежуток (в часах)	9,8	2,2	9,08	1,39	9,18	1,57	P_{1-2} = 0,29 P_{1-p}= 0,23 P_{2-p}= 0,84
Примечание: * - для 1 группы (основной) n = 15, для 2 группы (сравнения) n = 4, для группы ретроспективного анализа n = 21.							

У 15/21 (71,4±10,1%) пациенток основной группы, которым в ходе предшествующего абдоминального родоразрешения вводились экзосомы МСК пуповинного происхождения, роды благополучно завершились через естественные родовые пути. У пациенток группы сравнения этот показатель составил 4/20 (20,0±9,17%), а в группе ретроспективного анализа, которые не были строго мотивированы на самопроизвольные роды у 21/240 (8,75±1,82%) (рисунок 14).

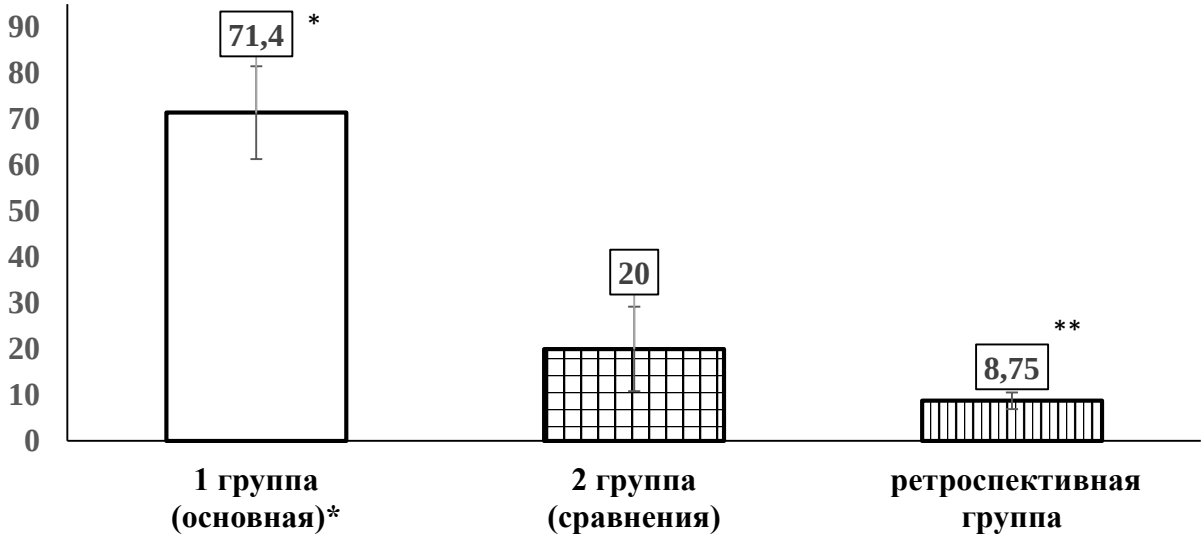

Рисунок 14. Частота самопроизвольного родоразрешения у пациенток с рубцом на матке после КС (в %). * - достоверность различий между 1 (основной) и ретроспективной группами и между 1 (основной) и 2(сравнения) группами. ** - достоверность различий между 2 группой (сравнения) и группой ретроспективного анализа.

В то же время 6/21 (28,5%) женщин 1 группы (основной), 16/20 (80%) беременных и рожениц 2 группы (сравнения) и 219/240 (91,2%) пациенток группы ретроспективного анализа были повторно прооперированы. Показания для абдоминального родоразрешения представлены в таблице 9.

Таблица 9 - Структура показаний для повторного кесарева сечения

Показания для повторной операции	Группы											
	1 (основная) (n = 6)				2 (сравнения) (n = 16)				ретроспективная (n = 219)			
	План.		Экстр.		План.		Экстр.		План.		Экстр.	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
Отсутствие биологической готовности шейки матки	2	33,3	-	-	5	31,2	-	-	79	36,1	-	-
Слабость родовой деятельности, неподдающаяся медикаментозной коррекции	-	-	2	33,3	-	-	4	25	-	-	48	21,9
Острый дистресс плода	-	-	2	33,3	-	-	2	12,5	-	-	53	24,2
Угрожающий разрыв матки	-	-	-	-	-	-	2	12,5	-	-	28	12,8
Сумма относительных показаний	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	4,6
Предлежание и **врастание** плаценты	-	-	-	-	-	-	3	18,7	**1**	**0,45**	-	-
ВСЕГО	2	33,3	4	66,7	5	31,2	11	68,8	80	36,5	139	63,5

При анализе структуры показаний для повторного кесарева сечения было

выявлено, что 2/6 (33,3%) беременные из 1 группы (основной) были абдоминально родоразрешены в виду отсутствия биологической готовности шейки матки при доношенном сроке беременности и 4/6 (66,7%) роженицы основной группы – по поводу слабости родовой деятельности, не поддающейся медикаментозной коррекции и острой внутриутробной гипоксии плода.

Только 2/6 (33,3%), 5/16 (31,2%), и 79/219 (36,1%) беременных 1, 2 и группы ретроспективного анализа, соответственно, были прооперированы в плановом порядке, поскольку у них отсутствовала биологическая готовность шейки матки. Еще 1/219 (0,45%) беременная из группы ретроспективного анализа была прооперирована в сроке 36 недель и 3 дня по поводу предлежания и врастания плаценты в рубец после предыдущего кесарева сечения. Остальные беременные, у которых родовая деятельность развилась спонтанно или на фоне преиндукции цервикальным баллоном, и которые после тщательного клинико-инструментального обследования и исключения признаков неполноценности рубца были включены в программу самопроизвольного родоразрешения, прооперированы в экстренном порядке. В структуре показаний для экстренного абдоминального родоразрешения преобладали слабость родовой деятельности, не поддающаяся медикаментозной коррекции – 2/6 (33,3%), 4/16 (25%) и 48/219 (21,9%) и острая внутриутробная гипоксия плода, подтвержденная данными КТГ, скальп-лактата при отсутствии условий для немедленных самопроизвольных родов у 2/6 (33,3%), 2/16 (12,5%) и 53/219 (24,2%) рожениц 1,2 и группы ретроспективного анализа, соответственно. Особо следует подчеркнуть, что у пациенток, которым в ходе предшествующего КС вводились экзосомы МСК, в структуре показаний для повторного абдоминального родоразрешения не было угрожающего разрыва матки по рубцу, тогда как у 2/16 (12,5%) женщин из 2 группы (сравнения) и 28/219 (12,8%) рожениц из группы ретроспективного анализа именно проявления угрожающего разрыва матки послужили основанием для повторного экстренного кесарева сечения.

Поскольку 6/21 (28,6%) пациенткам 1 группы (основной) и 16/20 (80%) второй группы (сравнения) не удалось избежать повторного абдоминального родоразрешения, всем этим родильницам после подписания информированного согласия на получение биопсионного материала проведено патоморфологическое исследование биоптатов иссеченных рубцов и участков нижнего сегмента матки.

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ РУБЦА МИОМЕТРИЯ У БЕРЕМЕННЫХ И РОЖЕНИЦ С ЭКЗОСОМНОЙ ПОДДЕРЖКОЙ, ИЗ ГРУППЫ СРАВНЕНИЯИ РЕТРОСПЕКТИВНОГО АНАЛИЗА

Структурная организация рубца миометрия после введения экзосом МСК. Миометрий у беременных и рожениц после предыдущей экзосомной поддержки характеризовался полнокровием. На некоторых его участках присутствовали небольшие кровоизлияния (рисунок 15). Имело место незначительное расширение лимфатических сосудов (рисунок 16). Содержание соединительной ткани в рубце миометрия было умеренным. Присутствовали небольшие ее включения по ходу сосудов. Количество тканевых лейкоцитов в миометрии у пациенток с экзосомной поддержкой также было умеренным.

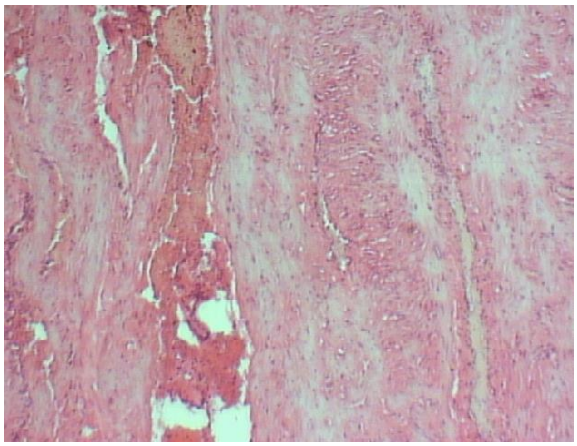

Рисунок 15. Рубец у пациенток с экзосомной поддержкой. Умеренные кровоизлияния. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение Х 75.

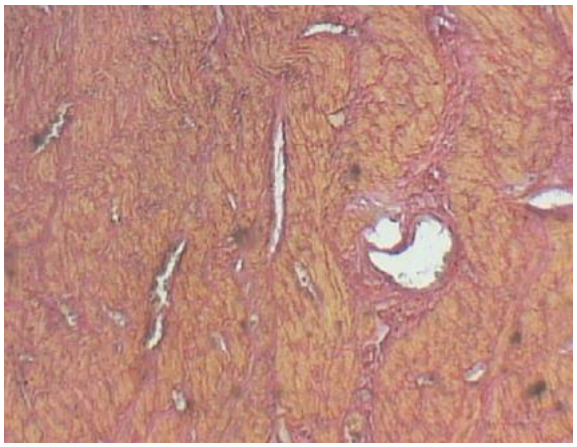

Рисунок 16. Рубец у пациенток с экзосомной поддержкой. Соединительно-тканные фрагменты по ходу расширенных сосудов. Окраска по Ван-Гизону. Увеличение Х 75.

Структурная организация границы между рубцом после кесарева сечения и миометрием на фоне предшествующего введения экзосом МСК.

По границе рубца проходит зона разграничения соединительной и мышечной ткани. В этой пограничной области, имеющей большое количество склерозированных сосудов, как правило, и происходят микроразрывы (рисунок 17). Кровоизлияния присутствовали у пациенток и из группы ретроспективного анализа, и во второй группе (сравнения), причем как на границе рубца и миометрия, так и в миометрии и в соединительной ткани самого рубца. При исследовании микроциркуляции и лимфотока на границе рубца передней стенки матки и окружающего его миометрия не было обнаружено значимых различий.

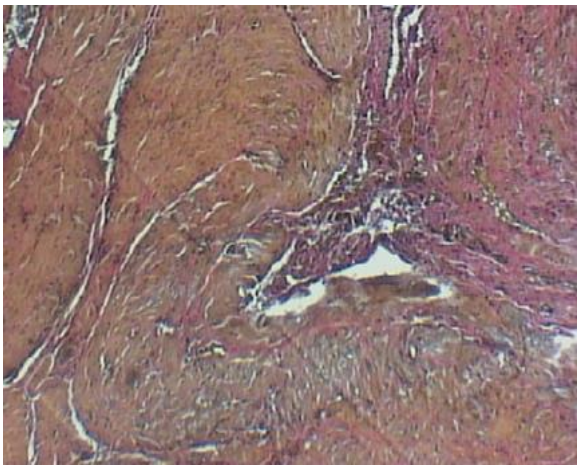

Рисунок 17. Граница рубца после кесарева сечения и миометрия после экзосомной поддержки. Окраска по Ван-Гизону. Увеличение Х 75.

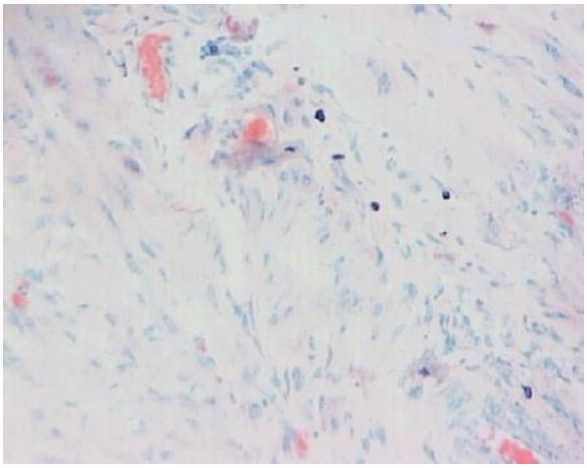

Рисунок 18. Граница рубца и миометрия после ЭМСК. Тучные клетки возле кровеносных сосудов. Окраска по Романовскому. Увеличение Х 380

Лейкоцитарные инфильтраты на границе рубца и миометрия не были выявлены у родильниц основной группы, но фиксировались у 4/16 (25%) пациенток без использования клеточных технологий. При этом в отличие от самого рубца, в клеточных инфильтратах приграничной к рубцу зоны у пациенток без экзосомной поддержки было найдено большое количество эритроцитов (таблица 10, рисунок 18).

Таблица 10 - Цитоморфологический анализ тканевых лейкоцитов на границе рубца и миометрия после абдоминального родоразрешения (M±m)

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ		Клинические группы			
		ЭМСК (n = 6)		Без ЭМСК (n = 16)	
		M ± m		M ± m.	
		M	M	M	M
		P_1		P_2	
Численная плотность лейкоцитов	N_A	34,9	7,98	37,1	7,63
Нейтрофилы	%	38,1	6,84	46,1	7,1
	N_A	**9,67**	**2,19**	**15,1****	**2,84**
Тучные клетки	**%**	**1,21**	**0,232**	**3,51****	**0,796**
	N_A	**0,286**	**0,06**	**1,12****	**0,249**
Дегенерирующие клетки	%	3,41	0,81	4,23	1,07
	N_A	**0,841***	**0,211**	**1,34**	**0,314**
Примечание: N_A - численная плотность клеток на 10^5 мкм^2 площади среза зоны; *$P_{1-2} < 0,05$; **$P_{2-1} < 0,05$					

Абсолютное число нейтрофилов и дегенерирующих клеток у пациенток без экзосомной поддержки было в 1,6 раза больше, в то время как тучных клеток у родильниц на фоне клеточных технологий было в 3,9 раза меньше. Данный клеточный ансамбль, с высокой долей вероятности, указывал на более полноценное заживление рубца на матке после первого абдоминального родоразрешения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные указывают на более высокую эффективность интраоперационного использования клеточных технологий – введения экзосом МСК по сравнению с традиционным ведением послеродового периода. На это указывают данные клинических, инструментальных и морфологических исследований. Показано отсутствие гнойно-септических осложнений, достоверное увеличение толщины рубца по данным МРТ и УЗИ. У пациенток с введенными в ходе первого кесарева сечения экзосомами МСК, частота самопроизвольного родоразрешения достигла 15/21 (71,4%), что в 8,16 раза больше по сравнению с женщинами из группы ретроспективного анализа – 21/240 (8,75%) и в 3,6 раза больше по сравнению с беременными и роженицами 2 группы (сравнения) – 4/20 (20%). Не выявлено ни одного случая аномальной плацентации, в то время как у 1/219 (0,45%) беременной из группы ретроспективного анализа было диагностировано предлежание и врастание плаценты в область послеоперационного рубца на матке, потребовавшее плановое родоразрешение в 36 недель 3 дня путем донного кесарева сечения и метропластики. При исследовании как самих рубцов миометрия после абдоминального родоразрешения, так и границы между рубцом и миометрием у пациенток с примененными клеточными технологиями была отмечена меньшая по сравнению с женщинами без экзосомной поддержки численная плотность нейтрофилов, тучных и дегенерирующих клеток. Данные изменения могли быть связаны с различной степенью морфологической полноценности и, как результат, с меньшей эластичностью и большей травматизацией рубца во время беременности и родов у пациенток, которым в ходе предыдущего кесарева сечения не вводились экзосомы МСК.

ВЫВОДЫ

I экспериментальный этап.

1. Созданная экспериментальная модель абдоминального родоразрешения при многоплодной беременности у лабораторных крыс линии Wag предусматривает разрезы маточных рогов в проекции плодовместилища, извлечение плода и последа (преимущественно в целом плодном пузыре), восстановление целостности миометрия однорядным узловым викриловым швом и введение 100 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток.

2. Интраоперационное введение 100 мкл ЭМСК в маточные рога как интактных животных, так и после экспериментальной модели кесарева сечения обеспечивает их нахождение в миометрии не менее 8 суток, что подтверждается данными люминесценции светового микроскопа (с фильтрами Alexa Fluor 488 нм или для родамина, диапазон возбуждения 540-552 нм, диапазон регистрации 575-640 нм).

3. Выявлена высокая эффективность и безопасность экзосом МСК. При их внутриматочном введении как интактным лабораторным животным, так и после кесарева сечения, не было отмечено ни одного случая интраоперационной гибели и послеродовых гнойно-воспалительных осложнений, а частота мертворождений при повторных самопроизвольных родах у экспериментальных крыс с экзосомной поддержкой была в 1,5 меньше. В группе без применения клеточных технологий после абдоминального родоразрешения погибала практически каждая двадцатая крыса 9/189 (4,8$\pm$1,56%).

II ретроспективный этап

4. Ретроспективный анализ показал осложненное течение послеродового периода у 56/600 (9,3%) пациенток. Из них в 33/600 (5,5%) случаях диагностировался метроэндометрит и в 23/600 (3,8%) лохиометра, подтвержденные данными УЗИ и гистероскопии.

5. Поскольку женщины, которым проводился ретроспективный анализ родоразрешения и течения послеоперационного периода, планировали повторные беременности - 60 пациенткам проведено МРТ, 40 женщинам УЗИ и гистероскопия через 6 месяцев после предыдущего кесарева сечения. Толщина миометрия в области рубца по данным МРТ составила 6,76 (1,07) мм. При этом у 11/60 (18,3%) пациенток, которые перенесли послеродовый метроэндометрит имело место истончение послеоперационного рубца менее 2 мм с формированием «ниши» на протяжении 4-6 мм. По данным УЗИ - толщина миометрия в области рубца составила 7,73 (0,46) мм. При этом практически у каждой четвертой пациентки 10/40 (25%) визуализировались признаки неполноценности. При гистероскопическом исследовании у 9/40 (22,5%) были визуализированы признаки неполноценности: выпрямление рубца, образование углов и асимметрии, наличие углублений и выбуханий, вдавление по ходу части или всего рубца и изменение окраски над рубцом, вплоть до белого цвета, что потребовало проведение лапароскопической метропластики.

III – IV проспективные этапы

6. Впервые в мировой акушерской практике проведена клиническая апробация с последующим внедрением технологии внутриматочного введения 500 мкл ЭМСК после абдоминального родоразрешения и зашивания разреза однорядным непрерывным викриловым швом.

7. У родильниц 1 группы (основной) с интраоперационным введением экзосом МСК не было отмечено ни одного случая осложненного течения послеродового периода, в том числе инфекционно-воспалительного характера, что позволило достоверно значимо сократить послеоперационный койко-день до 4,35 (0,51 по сравнению с пациентками из 2 группы (сравнения) 5,15 (1,65), $p = 0,03$.

8. В ходе предгравидарной подготовки у женщин 1 группы (основной) с экзосомной поддержкой на основании инструментальной оценки признаков неполноценности рубца и «ниши» не обнаружено. Толщина миометрия в области

рубца по данным МРТ составила 8,14 (1,04) мм, тогда как во второй группе (сравнения) - 6,7 (2,09) мм, P_{1-2}= 0,005. По данным УЗИ толщина миометрия в области рубца у них составила 7,86 (0,91) мм, что значимо больше показателей во второй группе (сравнения) – 6,9 (1,02), P_{1-2} = 0,0061. Во второй группе (сравнения) – у 8/60 (13,3%) женщин были визуализированы признаки неполноценности рубца.

9. На основании проведенного комплекса клинико-инструментального обследования определена возможность и обоснована целесообразность самопроизвольного родоразрешения у рожениц с рубцом миометрия после кесарева сечения в условиях предшествующей экзосомной поддержки. В данной когорте беременных не выявлено ни одного случая аномальной плацентации, в то время как у 1/240 (0,41%) беременной без введенных экзосом МСК было диагностировано предлежание и врастание плаценты в область послеоперационного рубца, повлекшее за собой плановое родоразрешение в 36 недель 3 дня путем донного кесарева сечения и метропластики.

10. Анализ интранатального УЗИ показал отсутствие значимых различий толщины нижнего сегмента между роженицами основной группы и пациентками с интактной маткой на 8 см открытия маточного зева – 3,26$\pm$0,13 мм и 3,13$\pm$0,13 мм, соответственно ($p > 0,05$). При этом толщина миометрия в области нижнего сегмента у женщин основной группы была значимо больше по сравнению с роженицами без экзосомной поддержки на протяжении всего I периода родов ($p < 0,05$). У пациенток с экзосомной поддержкой не было симптомов угрожающего разрыва матки по рубцу, тогда как у 2/16 (12,5%) пациенток группы сравнения именно проявления угрожающего разрыва матки послужили основанием для повторного экстренного кесарева сечения.

11. Целесообразность ведения родов per vias naturalis у женщин, которым в ходе предшествующего кесарева сечения проводилось введение экзосом МСК, по сравнению с беременными без экзосомной поддержки (группа сравнения), обоснована 3,57 кратным ростом частоты самопроизвольного родоразрешения 15/21 (71,4$\pm$10,1%) и 4/20 (20,0$\pm$9,17%), соответственно ($p < 0,05$). В то же время

у пациенток из группы ретроспективного анализа, не заинтересованных в вагинальных родах, она была в 8,16 раза ниже в сравнении с роженицами основной группы - 21/240 (8,75$\pm$1,82%), $p < 0,05$.

12. Морфологический анализ биоптатов рубца и пограничной зоны миометрия выявил, что в цитограмме лейкоцитов миометрия у пациенток без экзосом МСК было в 7,8 раза больше тучных клеток, в 3,3 раза больше дегенерирующих и в 2,9 раза больше нейтрофилов на 10^5 мкм^2 площади среза зоны, чем в рубцах у родильниц с экзосомами МСК, у которых не были визуализированы лейкоцитарные инфильтраты на границе рубца и миометрия. При этом данный клеточный ансамбль в приграничной зоне фиксировался у 4/16 (25,0$\pm$11,2%) пациенток без экзосом МСК, что указывало на различную степень гистологической полноценности, меньшую эластичность и большую травматизацию рубца во время беременности и родов у пациенток без применения клеточных технологий.

13. Предложенный алгоритм применения клеточных технологий в акушерской клинике, предусматривает интраоперационное введение 500 мкл экзосом МСК пуповинного происхождения всем пациенткам для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений, в том числе первородящим с отсутствием противопоказаний для самопроизвольных родов и мотивированных на повторную реализацию репродуктивной функции.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для профилактики инфекционно-воспалительных осложнений в ходе абдоминального родоразрешения и снижения частоты повторного кесарева сечения целесообразно использование экзосом МСК пуповинного происхождения, включающих клетки третьего пассажа, с положительными маркерами МСК (CD73, CD90, CD105), не имеющих антигенов гемопоэтических клеток (CD14, CD20, CD45, CD34) и полученных в условиях ультрацентрифугирования при 108 000 g.

2. Введение ЭМСК в ходе абдоминального родоразрешения безопасно, поскольку лишено антигенной нагрузки и клеточного чужеродного генетического материала и может быть рекомендовано беременным и роженицам, планирующим повторную реализацию репродуктивной функции.

3. Применение экзосом мезенхимальных стромальных клеток эффективно в плане профилактики инфекционно-воспалительных осложнений и может быть рекомендовано при проведении абдоминального родоразрешения.

4. Для исключения признаков неполноценности рубца на матке после кесарева сечения на этапе предгравидарной подготовки у женщин, планирующих беременность, необходимо проведение комплекса инструментального обследования, включающего МРТ, УЗИ и офисную гистероскопию через 6-12 месяцев после предшествующего абдоминального родоразрешения.

5. Проведение рутинного интранатального УЗИ роженицам с рубцом на матке после кесарева сечения и экзосомной поддержки не является обязательным, поскольку толщина нижнего сегмента у данной категории пациенток не отличается от женщин с интактной маткой.

6. Всем первородящим, планирующим повторную реализацию репродуктивной функции, которым предстоит кесарево сечение, следует рекомендовать интраоперационное введение 500 мкл экзосом мезенхимальных стромальных клеток пуповинного происхождения в область шва нижнего маточного сегмента для последующего самопроизвольного родоразрешения.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Pekarev O.G., **Pekareva E.O**. Primary prevention of cesarean section in women with a uterine scar after myomectomy //Giorn. It. Ost. Gin. – Vol. XXXVI – n.6 – 2015. - P.549.

2. Майбородин И.В., Пекарев О.Г., Якимова Н.В., **Пекарева Е.О**., Майбородина В.И., Перминова Е.И. Особенности строения матки после родов у крыс с рубцом миометрия. //**Морфология**. - 2015. - Т. 147. - № 2. - С. 49-53.

3. Пекарев О.Г., Поздняков И.М., **Пекарева Е.О**., Майбородин И.В., Оноприенко Н.В. Первичная профилактика кесарева сечения у женщин с рубцом на матке после миомэктомии //**Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** – №2. – 2015 . – С.13-20.

4. Пекарев О.Г., Поздняков И.М., Майбородин И.В., **Пекарева Е.О**. Прогноз и перспективы самопроизвольного родоразрешения у женщин с рубцом на матке после операции кесарева сечения //**Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** – №2. – 2015 . – С.21-28.

5. Оноприенко Н.В., Пекарев О.Г., **Пекарева Е.О**., Майбородин И.В. Перспективы применения клеточных технологий в коррекции рубца миометрия //Материалы II национального конгресса по регенеративной медицине с международным участием 3-5 декабря 2015. – Москва. – 2015. – С.139.

6. Оноприенко Н.В., Пекарев О.Г., **Пекарева Е.О**., Майбородин И.В. Перспективы применения клеточных технологий в коррекции рубца миометрия //Материалы X международного конгресса по репродуктивной медицине 19-22 января 2016. – Москва. – 2016. – С.115-116.

7. Пекарев О.Г., Майбородин И.В., Поздняков И.М., Оноприенко Н.В., **Пекарева Е.О**., Аникеев А.А. Экспериментальное обоснование применения клеточных технологий в коррекции рубца миометрия //**Акушерство гинекология.** 2016. - №8. – С.79-85.

8. Oleg Pekarev, Igor Mayborodin, **Eugenia Pekareva**, Natalya Onoprienko Perspectives of cell technologies in uterine scar correction //European Journal of

Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology, 2016. - Vol. 206, e174–e175

9. **Пекарева Е.О**., Пекарев О.Г., Майбородин И.В. Применение стволовых клеток для улучшения репарации рубца миометрия //Материалы XI международного конгресса по репродуктивной медицине 17-20 января 2017. – Москва. – 2017. – С.227-228.

10. Пекарев О.Г., Майбородин И.В., **Пекарева Е.О**., Поздняков И.М., Брега Е.С. Применение стволовых клеток для улучшения репаративных свойств рубца миометрия //**Доктор.Ру**. - 2017. - № 3 (132). - С. 20–25.

11. Пекарев О.Г., Майбородин И.В., **Пекарева Е.О**. Экспериментальное обоснование применения клеточных технологий в коррекции рубца миометрия //Материалы XII международного конгресса по репродуктивной медицине 16-19 января 2018. М., 2018. – С.511–512.

12. Пекарев О.Г., Майбородин И.В., **Пекарева Е.О**., Поздняков И.М. Самопроизвольное родоразрешение пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения. Реалии и перспективы. //**Женское здоровье и репродукция.** - 2018. - №9 (28). URL: https://whfordoctors.su/statyi/samoproizvolnoe-rodorazreshenie-pacientok-s-rubcom-na-matke-posle-kesareva-sechenija-realii-i-perspektivy/

13. Сухих Г.Т., Пекарев О.Г., Майбородин И.В., Силачев Д.Н., Шевцова Ю.А., Горюнов К.В., Поздняков И.М., Оноприенко Н.В., Галенок Р.Б., Новиков А.М., **Пекарева Е.О**. Экспериментальное обоснование применения микровезикул после абдоминального родоразрешения. Материалы конгресса «XIV Международный конгресс по репродуктивной медицине». - М., 2020. - С. 127-128.

14. Сухих Г.Т., Пекарев О.Г., Майбородин И.В., Силачев Д.Н., Шевцова Ю.А., Горюнов К.В., Оноприенко Н.В., Майбородина В.И., Галенок Р.Б., Новиков А.М., **Пекарева Е.О.** К вопросу о сохранности экстрацеллюлярных микровезикул мезенхимных стромальных клеток после абдоминального родоразрешения в эксперименте. //**Клеточные технологии в биологии и медицине**. - 2020. - № 1. - С. 3-11.

15. Sukhikh G.T., Pekarev O.G., Maiborodin I.V., Silachev D.N., Shevtsova Y.A., Goryunov K.V., Onoprienko N.V., Maiborodina V.I., Galenok R.V., Novikov A.V., **Pekareva E.O**. Preservation of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles after abdominal delivery in the experiment. //Bull ExpBiol Med. 2020;169(1):122-129. doi: 10.1007/s10517-020-04838-1.

16. Сухих Г.Т., Пекарев О.Г., **Пекарева Е.О**., Майбородин И.В., Силачев Д.Н., Баранов И.И., Поздняков И.М., Бушуева Н.С., Новиков А.М. Первые результаты клинического применения экстрацеллюлярных микровезикул мезенхимальных стромальных клеток после абдоминального родоразрешения. //**Акушерство и гинекология**. - 2021. - №1.- С. 52-60.

17. **Пекарева Е.О**., Баранов И.И., Пекарев О.Г., Силачев Д.Н., Поздняков И.М., Бушуева Н.С., Новиков А.В., Сухих Г.Т. Предварительные результаты интраоперационного использования экстрацеллюлярных микровезикул мезенхимальных стромальных клеток после кесарева сечения //Сборник тезисов XXVII Всероссийского конгресса с международным участием и специализированной выставочной экспозицией «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы» М., 2021 с.100 – 101.

18. **Пекарева Е.О**. Предварительные итоги экспериментального и клинического применения экстрацеллюлярных микровезикул мезенхимальных стромальных клеток после кесарева сечения //**Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** - 2021. - Т 9. - №4. - С.36-43.

19. Сухих Г.Т., **Пекарева Е.О**., Пекарев О.Г., Силачев Д.Н., Майбородин И.В., Баранов И.И., Поздняков И.М., Бушуева Н.С. Возможности родоразрешения пациенток, которым в ходе предшествующего кесарева сечения вводились экстрацеллюлярные микровезикулы мезенхимальных стромальных клеток. //**Акушерство и гинекология**. - 2022. - №4. - С.103-114.

20. **Пекарева Е.О.** Самопроизвольные роды у пациенток с рубцом на матке после предшествующей коррекции экстрацеллюлярными микровезикулами мезенхимальных стромальных клеток /**Е.О.Пекарева**, О.Г.Пекарев,

И.И.Баранов, И.М.Поздняков, Г.Т.Сухих//Сборник тезисов XXVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы». - М., 2022. - С. 98-99.

21. **Пекарева Е.О.** Морфологическая характеристика рубца на матке после кесарева сечения после предшествующей коррекции экстрацеллюлярными микровезикулами мезенхимальных стромальных клеток / **Е.О.Пекарева**, О.Г.Пекарев, И.И.Баранов, И.В. Майбородин, Г.Т. //Сборник тезисов XXVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая помощь в эпицентре женского здоровья от менархе до менопаузы». - М., 2022. - С. 100-101.

22. **Пекарева Е.О.** Исходы родоразрешения пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения (анализ применения экстрацеллюлярных микровезикул мезенхимальных стромальных клеток). / **Е.О.Пекарева**, И.И.Баранов, О.Г.Пекарев, И.М.Поздняков, Н.С.Бушуева, Г.Т.Сухих. //**Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение.** 2022. -Т. 10. - № 2. - С. 14-22.

23. **Пекарева Е.О.** Применение клеточных технологий в экспериментальной и клинической акушерской практике. / **Е.О.Пекарева**, И.И.Баранов, О.Г.Пекарев //**Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение**.– 2022. -№ 4. - С. 31-37.

24. **Пекарева Е.О**. Родоразрешение пациенток с рубцом на матке после кесарева сечения в условиях предшествующего интраоперационного использования экзосом мезенхимальных стромальных клеток / **Пекарева Е.О**., Баранов И.И., Пекарев О.Г., Силачев Д.Н., Поздняков И.М., Новиков А.М., Сухих Г.Т.//Сборник тезисов XXIII Всероссийского научно-образовательного Форума «МАТЬ И ДИТЯ - 2022».- М., 2022. -С. 71.

25. **Пекарева Е.О**. Экспериментальное обоснование применения клеточных технологий (мезенхимальных стромальных клеток) в коррекции рубца миометрия/ **Пекарева Е.О**., Баранов И.И., Пекарев О.Г., Силачев Д.Н.,

Майбородин И.В., Новиков А.М., Сухих Г.Т.//Сборник тезисов XXIII Всероссийского научно-образовательного Форума «МАТЬ И ДИТЯ - 2022». - М., 2022. -С. 70.

26. **Пекарева Е.О**. Тактика ведения пациенток после кесарева сечения в условиях интраоперационного использования экзосом мезенхимальных стромальных клеток / **Пекарева Е.О**., Баранов И.И., Пекарев О.Г., Силачев Д.Н., Поздняков И.М., Новиков А.М., Сухих Г.Т. //Сборник тезисов XXIII Всероссийского научно-образовательного Форума «МАТЬ И ДИТЯ - 2022».- М., 2022. -С. 72.

27. O.G. Pekarev, **E.O. Pekareva**, I.V. Mayborodin, D.N. Silachev, I.I. Baranov, I.M. Pozdnyakov, N.S. Bushueva, A.M. Novikov & G. T. Sukhikh The potential of extracellular microvesicles of mesenchymal stromal cells in obstetrics //The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine. Volume 35, 2022 - Issue 25. Pages 7523-7525.