

*На правах рукописи*

**АКАТЪЕВА**  
**Альбина Салаватовна**

**КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ТЯЖЕЛОЙ ПРЕЭКЛАМПСИИ**

14.01.01- акушерство и гинекология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва - 2015

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Ходжаева Зульфия Сагдуллаевна

доктор медицинских наук, профессор

Коган Евгения Алтаровна

Официальные оппоненты:

Шалина Раиса Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии, профессор

Милованов Андрей Петрович - доктор медицинских наук, профессор, Научно-исследовательский институт морфологии человека, лаборатория патологии женской репродуктивной системы, руководитель

Ведущая организация: Московский областной научно- исследовательский институт акушерства и гинекологии

Защита состоится «16» июня 2015 года в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.125.01 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» по адресу 117997, г. Москва, ул. академика Опарина, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте [http://sciense.ncagp.ru/upfiles/pdf/AkatjevaAS\\_diss1.pdf](http://sciense.ncagp.ru/upfiles/pdf/AkatjevaAS_diss1.pdf) федерального государственного бюджетного учреждения «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Калинина Елена Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность проблемы

Преэклампсия (ПЭ) возникает в 2-8 % беременностей и продолжает оставаться одной из ведущих причин материнской и перинатальной смертности и заболеваемости [L. Ghulmiyyah, 2012]. Несмотря на пристальное внимание к данной проблеме, до настоящего времени не решены вопросы патогенеза, прогнозирования, поиска ранних достоверных диагностических маркеров, а, следовательно, и патогенетически обоснованного лечения. О сложности проблемы ПЭ свидетельствует и отсутствие до настоящего времени единой классификации, этиопатогенетических механизмов развития, которые могли бы объяснить мультисистемные осложнения во время беременности, риск развития эклампсии в послеродовом периоде и последствия на протяжении последующей жизни женщины.

В литературе последних десятилетий приводятся доказательства в поддержку существования двух клинических фенотипов ПЭ в зависимости от дебюта заболевания: с ранним началом (до 34 недель) и поздним началом (после 34 недель) [A. Karahasanovic, 2013; J.C. Peracoli, 2013].

Установлено, что ПЭ ассоциируется с системным воспалительным ответом, эндотелиальной дисфункцией, дисбалансом ангиогенных и антиангиогенных факторов и метаболическими нарушениями. Пусковым моментом этих патологических процессов считается неполноценная инвазия трофобласта [G. Eastabrook, 2011; S.E. Maynard, 2011; A.A. Shamshirsaz, 2012].

В настоящее время очевидно, что ПЭ, наряду с преждевременными родами, задержкой роста плода, антенатальной гибелью плода и другими состояниями периода беременности, ассоциируется с патологической плацентацией, что может быть связано с различной степенью нарушения ремоделирования и обструктивными повреждениями спиральных артерий. При этом определяющую роль играет плацентарная площадка (ПП).

Однако большинство исследований было направлено на изучение плаценты [L. Zhang, 2012; A.S. Staff, 2013], в то время как ткани ПП были посвящены единичные работы [I. Brosens 2011, S.C. Kim, 2012, 2014], причем авторы изучали ПП при ПЭ в целом. Вместе с тем, логично было бы предположить вовлеченность различных патогенетических механизмов в зависимости от сроков клинической манифестации ПЭ: ранней и поздней, а также их ассоциации с СЗРП. Подобных данных в доступной литературе нами не выявлено.

В этой связи несомненный научно-исследовательский интерес представляет изучение клинико-anamнестической характеристики пациенток с РПЭ и ППЭ, особенностей течения и исходов беременности при РПЭ и ППЭ, их связи с СЗРП, а также морфологические и иммуногистохимические исследования ткани ПП.

#### Цель исследования

Выявление клинико-патогенетических особенностей ранней и поздней тяжелой ПЭ на основании клинико-anamнестических, морфологических и иммуногистохимических методов исследования.

#### Задачи исследования

1. Представить клинико-anamнестическую характеристику беременных женщин с различными клиническими вариантами тяжелой ПЭ.
2. Провести клинико-лабораторное обследование беременных с тяжелой ПЭ и проанализировать особенности течения беременности при РПЭ и ППЭ.
3. Изучить особенности исходов родов у обследованных и течения раннего неонатального периода у их детей.
4. Сравнить клинико-anamнестическую характеристику, течение беременности, исходы родов в группах обследованных пациенток с РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП.

5. Провести морфологическое и иммуногистохимическое исследование, определить экспрессию микро-РНК-34а в ткани ПП у пациенток с различными вариантами тяжелой ПЭ, а также сравнить полученные результаты обследованных с РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП.

6. На основании полученных данных представить клинко-патогенетические особенности РПЭ и ППЭ.

#### Научная новизна

Определены клинко-анамнестические и патогенетические особенности РПЭ и ППЭ. Детально изучены морфологические и иммуногистохимические особенности строения ПП у пациенток с различными вариантами тяжелой ПЭ, в том числе осложненной и неосложненной СЗРП. Получены данные об особенностях экспрессии биологически активных веществ и микро РНК 34а в ткани ПП, влияющих на инвазию цитотрофобласта и ремоделирование спиральных артерий.

При РПЭ выявлены выраженные нарушения процесса инвазии вневорсинчатого трофобласта в спиральные артерии матки, недостаточность первой и второй волны цитотрофобластической инвазии, отсутствие гестационной перестройки маточно-плацентарных артерий, отсутствие компенсаторных механизмов в ответ на хроническую гипоксию, резкое снижение маркеров ангиогенеза, необратимость морфологических изменений, что лежит в основе гипотрофических изменений не только плаценты, но, нередко, и плода.

При ППЭ нарушения процессов инвазии цитотрофобласта носят очаговый характер и заключаются в нарушенном ремоделировании части спиральных артерий, с сохранением компенсаторных механизмов и ангиогенеза, что коррелирует с нормальными размерами плаценты.

Данные проведенного исследования подтверждают целесообразность разделения тяжелой ПЭ на раннюю и позднюю формы вследствие различных патогенетических особенностей формирования, следовательно, и

возможностей лечебного воздействия, прогнозирования риска развития ПЭ на этапе планирования и в ранние сроки беременности.

### Практическая значимость

На основании результатов проспективного исследования представлена клиническая характеристика женщин, особенности течения беременности, исходы родов и течение раннего неонатального периода у пациенток с РПЭ и ППЭ, в том числе в сочетании с СЗРП.

Выявлена частота развития СЗРП при РПЭ и ППЭ, представлены морфологические, иммуногистохимические особенности и различия, а также экспрессия микроРНК 34а в ткани ПП у пациенток с данной патологией.

Проведены факторный и сравнительный анализы клинико-анамнестических данных, особенностей течения беременности, исхода родов, морфологических, иммуногистохимических различий, экспрессии микроРНК 34а ткани ПП у пациенток с РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП.

Полученные результаты обосновывают целесообразность дальнейшего разделения тяжелой ПЭ на раннюю и позднюю в зависимости от сроков манифестации клинических проявлений.

### Положения, выносимые на защиту

1. Преэклампсия - это гетерогенное мультисистемное осложнение беременности с двумя клиническими фенотипами. РПЭ ( $\geq 20$ -  $\leq 34$  нед беременности), ассоциируется с более молодым возрастом женщины, наступлением первой беременности в течение 4-6 месяцев супружеской жизни, повторной ПЭ, наследственной отягощенностью по сердечно-сосудистым заболеваниям. ППЭ ( $\geq 34$  нед беременности) ассоциируется с метаболическими нарушениями и повышенным индексом массы тела, а также с заболеваниями почек и сердечно-сосудистой системы, в т.ч. у ближайших родственников.

2. РПЭ ассоциируется с повышенной частотой угрозы прерывания, более ранним началом значимой гипертензии и выраженной протеинурии, более высокой частотой задержки роста плода [OR 5,78 (95% CI 2,4-13,9)], развитием HELLP-синдрома, меньшей продолжительностью пролонгирования беременности и экстренным родоразрешением до 34 нед беременности в связи с нарастанием тяжести ПЭ и выраженными нарушениями состояния плода (76%).

ППЭ ассоциируется с более длительным периодом пролонгирования беременности, экстренным родоразрешением в связи с нарастанием тяжести ПЭ (90%), благоприятными исходами беременности и рождением детей с нормальными массо-ростовыми показателями.

3. РПЭ характеризуется высокой степенью нарушения процесса инвазии вневорсинчатого трофобласта в спиральные артерии матки, недостаточностью первой и второй волн цитотрофобластической инвазии, отсутствием компенсаторных механизмов в ответ на хроническую гипоксию, резким снижением маркеров ангиогенеза, необратимостью морфологических изменений, что лежит в основе гипотрофических изменений не только плаценты, но и плода. Для ППЭ характерны частичные нарушения процессов инвазии, недостаточное ремоделирование спиральных артерий, возможность компенсации и обратимость морфологических изменений, средние значения маркеров ангиогенеза, что коррелирует с нормальными размерами плаценты.

4. Ранняя и поздняя ПЭ - это два клинических варианта данного осложнения беременности с различной клинико-анамнестической картиной, исходами беременности, разными патогенетическими механизмами формирования: инвазией цитотрофобласта, гестационной перестройкой спиральных артерий, компенсаторными механизмами и различной степенью обратимости нарушений.

### Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке цели и задач исследования, обобщении, анализе, статистической обработке полученных результатов; осуществлял отбор женщин в исследуемые группы, клинические обследования, принимал участие в лечении и оперативном родоразрешении беременных, курировал пациенток в послеоперационном периоде, анализировал полученные данные. Совместно с руководителем 1-го патологоанатомического отделения профессором Е.А. Коган выполнял морфологические и иммуногистохимические исследования.

### Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.01 – «акушерство и гинекология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1 и 4 паспорта акушерства и гинекологии.

### Апробация результатов

Основные положения диссертации и результаты работы представлены и доложены на Международных конгрессах по репродуктивной медицине (Москва, 2012-15); II всероссийском междисциплинарном образовательном конгрессе «Осложненная беременность и преждевременные роды» (Москва, 2013); на Международных конгрессах по изучению гипертензивных состояний во время беременности (2012 - 2014), на Всероссийских форумах «Мать и Дитя» (2012-2014), на XI Всемирном конгрессе по перинатальной медицине (WCPM) (Москва, 2013), на 18 Конгрессе по противоречиям в акушерстве, гинекологии и бесплодии (COGI) (Вена, 2013), XVIII и XIX Международных конгрессах по изучению гипертензивных состояний во время беременности (ISSHP) (Женева, 2012; Новый Орлеан, 2014) .

Работа обсуждена на конференции 1-го отделения акушерского патологии беременности (20.11.2014) и заседании апробационной комиссии



ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (29.12.2014, протокол № 18).

### Внедрение результатов исследования в практику

Результаты проведенного исследования внедрены в практическую деятельность акушерских отделений ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России .

По теме диссертации опубликовано 9 научных трудов, из них 3 статьи - в рецензируемых научных журналах.

### Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 167 страницах компьютерного текста и состоит из оглавления, введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и списка использованной литературы, приложения. Библиографический указатель включает 151 источник, из них 8 отечественных и 143 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 39 таблицами и 27 рисунками.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Набор и обследование пациенток, включенных в исследование, выполнялись на базе отделения 1-го отделения акушерского патологии беременности ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России в период с 01.10.2011 по 10.02. 2014 гг.

В соответствии с поставленными целью и задачами исследования было проведено обследование 150 беременных в сроке от 26 до 40 недель. I группу составили 50 пациенток с РПЭ, развившейся до 34 недель, II группу - 50 пациенток с ППЭ, развившейся после 34 недель; III группу (контрольную) составили - 50 соматически здоровых пациенток с неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и физиологическим течением

данной беременности. Для верификации диагноза тяжелой преэклампсии, нами были использованы критерии ВОЗ [WHO Recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia, 2011].

Критериями включения в I и II группы являлись: одноплодная, самопроизвольно наступившая беременность, осложнившаяся развитием тяжелой ПЭ; родоразрешение путем кесарева сечения; согласие женщины на участие в исследовании и разрешение локального этического комитета. Критериями включения в III группу (контроля) были: одноплодная, самопроизвольно наступившая и физиологически протекавшая беременность; родоразрешение путем кесарева сечения; согласие женщины на участие в исследовании и разрешение локального этического комитета.

Критерии исключения: многоплодная беременность, беременность, наступившая в результате ВРТ, наличие ВПР плода, тяжелая соматическая патология.

У всех женщин в сравнительном аспекте были подробно изучены особенности семейного и собственного анамнеза с акцентом на наличие сердечно-сосудистых заболеваний, тромботических состояний, заболеваний почек, ожирения, сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы, наличие ПЭ в анамнезе у повторнородящих. Также были изучены клиническая характеристика, акушерско-гинекологический анамнез, особенности течения и исход беременности. Кроме того был проведен сравнительный анализ полученных результатов у женщин с РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП. В полученных образцах ткани ПП с помощью иммунопероксидазной реакции (ИПР) были изучены экспрессия следующих маркеров: CKW+, SMA, Vimentin, CD 34+, VEGF, VEGFR, IGF, IGFR, HIF-1 (DAKO). Детекция микроРНК 34a производилась методом хромогенной гибридизации (ХГ) с использованием метки DAB.

В работе были применены следующие методы обработки данных: критерий Шапиро-Уилка для проверки на нормальность распределений, критерий  $\chi^2$  для таблиц сопряженности признаков 2\*2 и 2\*3, в том числе с

поправкой Бонферрони, сравнительный анализ переменных (параметрический Т-критерий Стьюдента или непараметрический критерий Манна-Уитни для несвязанных совокупностей), расчет отношения шансов (при анализе бинарных признаков), факторный анализ с использованием процедуры нормализованного варимакса. Для автоматизации статистической обработки использовали статистический пакет Statistica8 for Windows 8.0.

### Результаты собственных исследований и их обсуждение

Первая беременность, возраст  $\leq 20$  лет и малый временной интервал (4-6 месяцев) от начала половой жизни до наступления беременности с данным партнером наиболее часто ассоциировались с РПЭ ( $p < 0,05$ ). Также статистически значимыми факторами, ассоциированными с РПЭ, явились: повышенная частота повторной ПЭ в анамнезе (в 2 раза), наследственная отягощенность по сердечно-сосудистым заболеваниям ( $p < 0,05$ ).

ПЭ в анамнезе у матери и сестры вдвое чаще отмечалась при ППЭ ( $p < 0,05$ ). Заболевания ССС и почек статистически значимо чаще были ассоциированы с ППЭ ( $p < 0,01$ ;  $p < 0,05$ ). Нарушения жирового обмена отмечены у каждой третьей пациентки с ППЭ.

Течение беременности при РПЭ статистически значимо чаще ассоциировалось с повышенной частотой угрозы прерывания и образованием ретрохориальных гематом в I триместре, активацией внутрисосудистого тромбогенеза, снижением уровня тромбоцитов (менее 100 тыс.), повышением печеночных трансаминаз ( $p < 0,05$ ), резким повышением АД и ранним появлением значимой протеинурии во II триместре, нарушениями ФПК и МПК по данным УЗ-доплерометрии ( $p < 0,01$ ). Относительный риск развития СЗРП также оказался достоверно выше при РПЭ. Во II триместре он составил 42% (Odds ratio 8,33, 95% CI 2,6-26,7), в III триместре - 68% (Odds ratio 5,78, 95% CI 2,4-13,9), а также развитием HELLP-синдрома у 2 пациенток (4%).

Следует отметить, что во II триместре в связи с манифестной картиной тяжелой ПЭ и ухудшением состояния плода было родоразрешено 5(10%) беременных с РПЭ.

ППЭ характеризовалась более поздними сроками нарастания повышения АД, появлением ПУ, статистически более низкой частотой СЗРП (22 %). Нами определены статистически значимые различия в сроках повышения АД при ранней ( $25,4 \pm 3,5$  нед.) и поздней ( $34,1 \pm 3,3$ ,  $p < 0,05$ ) ПЭ. Сроки регистрации значимой протеинурии также статистически были более ранними при РПЭ и составили  $30,11 \pm 4,9$  нед., а при ППЭ -  $35,7 \pm 2,2$  нед; значения ПУ в разовой порции мочи различались в обследованных группах и составили, соответственно,  $2,57 \pm 0,77$  и  $2,15 \pm 0,97$  г/л.

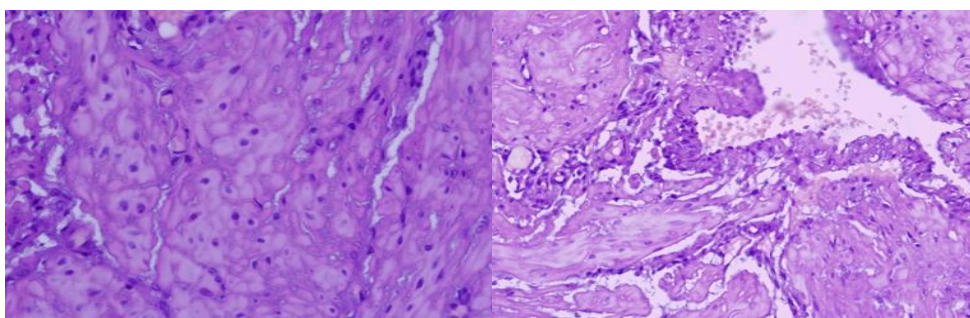
Средний срок родов при РПЭ составило  $33,1 \pm 2,3$  нед., при ППЭ -  $38,1 \pm 1,00$  нед. Ранние преждевременные роды в 22-27<sup>6</sup> нед и 28-33<sup>6</sup> нед были отмечены только при РПЭ в 10 и 74%, соответственно. Преждевременные роды в 34-36<sup>6</sup> нед. статистически значимо чаще имели место также при РПЭ (14 и 8%, соответственно,  $p < 0,05$ ). Своевременные роды статистически чаще встречались при ППЭ и контрольной группе по сравнению с РПЭ ( $p < 0,01$ ). Необходимость экстренного досрочного родоразрешения в группе с РПЭ, наряду с нарастанием тяжести, была обусловлена выраженными нарушениями состояния плода и составила 76% ( $n=38$ ), в то время как при ППЭ показаниями к родоразрешению в 90% ( $n=45$ ) случаев служило нарастание тяжести ПЭ. Длительность пролонгирования беременности при РПЭ составила 4-48 часов, а при ППЭ - от 48 часов до 7 дней. Выписка родильниц из стационара производилась на 8-10 сутки в 1-й и на 4-6 сутки - во 2-й группе, что было связано в основном с подбором антигипертензивной терапии.

Характеристика состояния здоровья новорожденных была затруднительной в связи с индуцированным родоразрешением в разные гестационные сроки. Масса тела новорожденных в группе с РПЭ составила  $1251,3 \pm 172,2$  гр. и  $3168 \pm 205,9$  гр. - в группе с ППЭ, ( $p < 0,01$ ). Оценка по

шкале Апгар на 1 мин при РПЭ составила  $6,9 \pm 0,8$  баллов, на 5 мин -  $7,8 \pm 0,65$  баллов, при ППЭ -  $7,8 \pm 0,37$  и  $8,8 \pm 0,38$  баллов, соответственно ( $p < 0,01$ ). Неонатальная смертность имела место только в группе пациенток с РПЭ и составила 2 (4%) случаев.

При определении сывороточной концентрации у матери PIGF и sFlt-1v и соотношения sFlt-1/ PIGF были выявлены более высокие показатели sFlt-1 и более низкие значения PIGF при РПЭ. Соотношение sFlt-1/ PIGF составило  $13,7 \pm 2,8$  (пг/мл) и  $10,8 \pm 2,4$  (пг/мл), соответственно ( $p < 0,05$ ).

При морфологическом исследовании биоптатов из зоны ПП при РПЭ отмечена поверхностная инвазия вневорсинчатого трофобласта, ограничивающаяся d.basalis ткани эндометрия, характеризующаяся наличием резко склерозированных и деформированных сосудов, децидуализацией и дистрофическими изменениями гладкомышечных клеток в миометрии (рис. 1а, 1б). Было отмечено полное отсутствие гестационной перестройки спиральных артерий. В большинстве артерий выявлено сохранение мышечного слоя, эндотелия и эластического каркаса. Все спиральные артерии характеризовались суженным просветом, толстой стенкой, представленной при окраске гладкомышечными клетками, эластическим каркасом и отсутствием фибриноидных превращений (рис. 2 а,б).



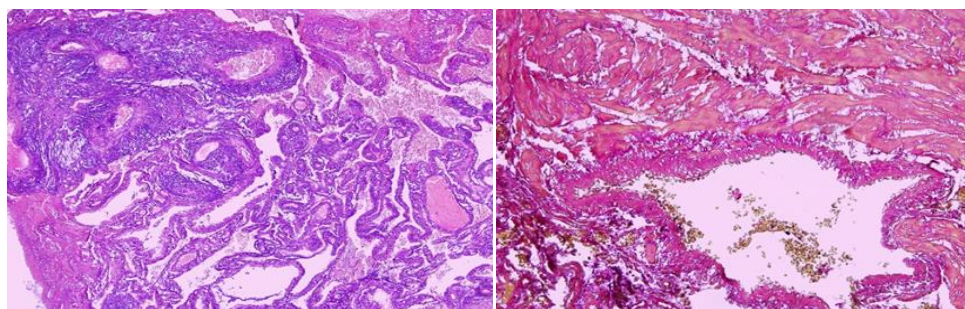
а

б

Рисунок 1. Поверхностная инвазия вневорсинчатого цитотрофобласта в эндометрии (а) и миометрии (б) при РПЭ, (окраска гематоксилином и эозином),  $\times 200$ .

При ППЭ инвазивный вневорсинчатый трофобласт обнаруживался как в эндометрии, так и в миометрии. Соотношение ремоделированных сохранных

и неремоделированных склерозированных сосудов составило 30 и 70 % соответственно.



а

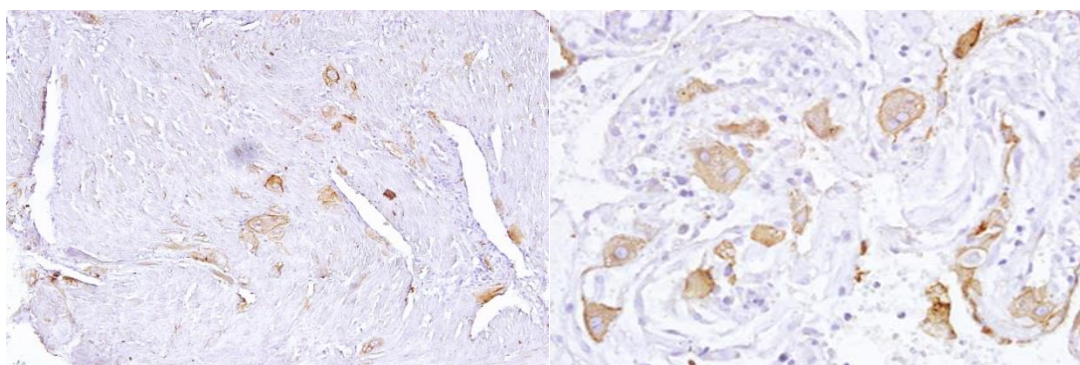
б

Рисунок 2. Нарушение ремоделирования и склероз спиральных артерий при РПЭ, а – окраска гематоксилином и эозином, б - окраска по Ван-Гизону, x100.

При РПЭ отмечалась тенденция к более высокому содержанию склерозированных сосудов (100% случаев), а при ППЭ - 70% склерозированных и 30% сохранных сосудов.

Иммуногистохимическое исследование проводилось с целью углубленной оценки обнаруженных морфологических изменений и попытки разработки концепции патогенеза различных вариантов тяжелой ПЭ.

Глубина инвазии трофобласта оценивалась по экспрессии им цитокератинов (СКW+) (рис. 3а, 3б).



а

б

Рисунок 3. СКW+ клетки трофобласта в ткани ПП при РПЭ (а) и ППЭ (б), ИПР x400.

Установлено достоверное снижение глубины инвазии и количества клеток трофобласта при РПЭ, которое составило в среднем 2 балла по сравнению с



данными, полученными при РПЭ (4 балла) и контрольной группе (6 баллов) ( $p < 0,05$ ).

Маркером гладкомышечных клеток кровеносных сосудов является SMA+(гладкомышечный актин). Их увеличение может вызывать патологические изменения, влияющие на плацентарный кровоток. Показано отсутствие экспрессии SMA+ в контрольной группе, что подтверждает адекватный процесс ремоделирования спиральных артерий, необходимый для физиологической беременности при I и II волнах инвазии цитотрофобласта, ( $p < 0,05$ ). При РПЭ обнаружена наибольшая экспрессия SMA+ в сосудах (6 баллов) (рис. 4а).

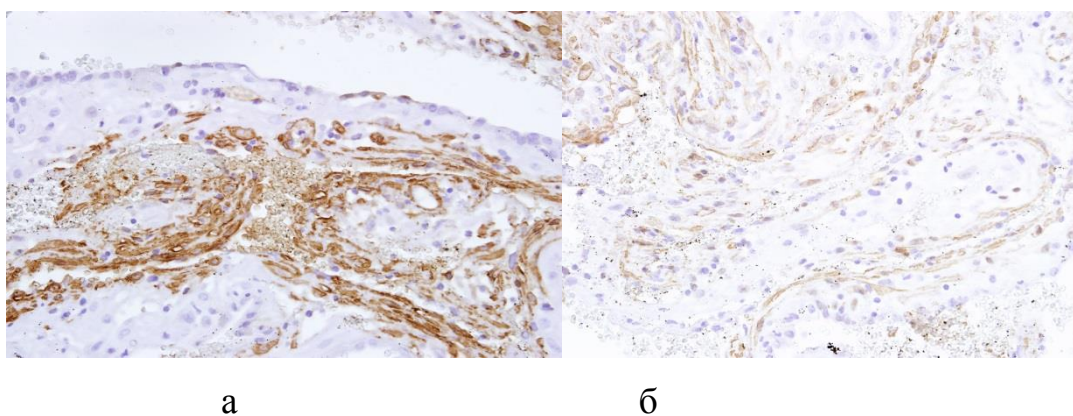


Рисунок 4. Экспрессия SMA в гладкомышечных клетках сосудов эндометрия ПП при РПЭ (а) при ППЭ (б), ИПР x400.

Особенности экспрессии SMA при ППЭ (4 балла) (рис. 4б) подтверждают данные морфологического исследования, при котором выявлены как ремоделированные, так и неремоделированные сосуды. Полученные данные свидетельствуют о нарушении II волны цитотрофобластической инвазии.

Для оценки сосудистого компонента в патогенезе развития ПЭ в стенках сосудов оценивался белок клеток мезенхимального происхождения - Vimentin+ фибробластические клетки, которые обнаруживались в стенках склерозированных неремоделированных сосудов. Их экспрессия была наиболее высокой при РПЭ (25 клеток) (рис. 5а), при ППЭ отмечена средняя экспрессия данных клеток (5 клеток) (рис. 5б), что подтверждает отсутствие

гестационной перестройки спиральных артерий и частичное нарушение сосудистого компонента при ППЭ ( $p < 0,05$ ).

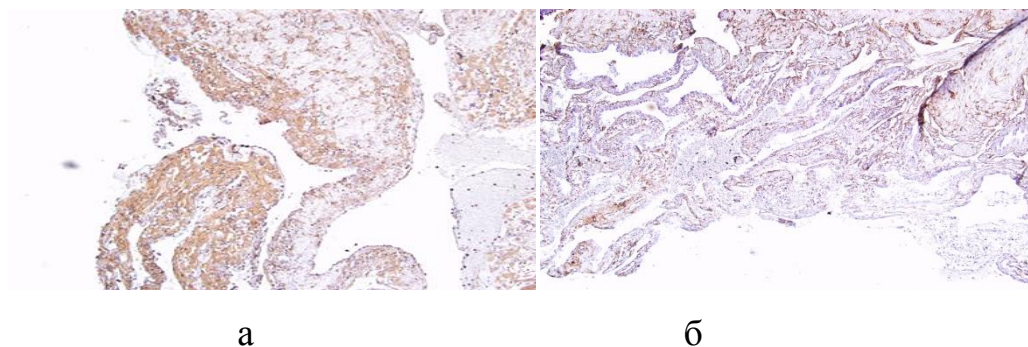


Рисунок 5. Vimentin+ клетки при РПЭ (а); при ППЭ (б), ИПР x100.

Для оценки факторов роста новообразованных сосудов и их рецепторов в нашем исследовании мы использовали следующие маркеры: VEGF, VEGFR, IGF, IGFR, CD 34+. Было выявлено резкое снижение ангиогенеза в клетках децидуальной оболочки, отсутствие их в эндотелиальных клетках при РПЭ (1 балл) по сравнению с ППЭ (4 балла), ( $p < 0,05$ ) (рис. 6а, 6б).

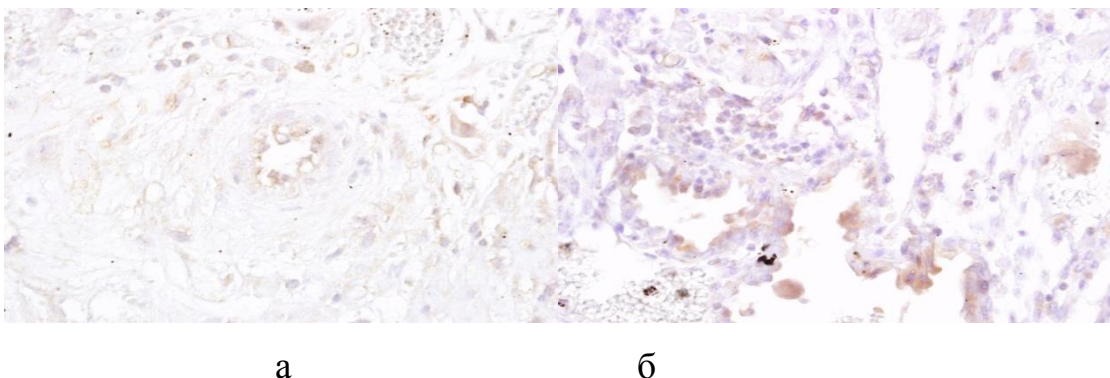


Рисунок 6. Экспрессия VEGF в эндометрии при РПЭ (а) и ППЭ (б), ИПР x400.

ИГХ исследование экспрессии HIF-1 $\alpha$  показало резкое нарушение компенсаторно-приспособительных механизмов, снижение ангиогенеза в зоне ПП. Изучение экспрессии HIF-1 $\alpha$  показало его отсутствие при РПЭ и повышение показателей при ППЭ (6 баллов) по сравнению с контрольной группой (2 балла) ( $p < 0,05$ ) (рис. 7а, 7 б).



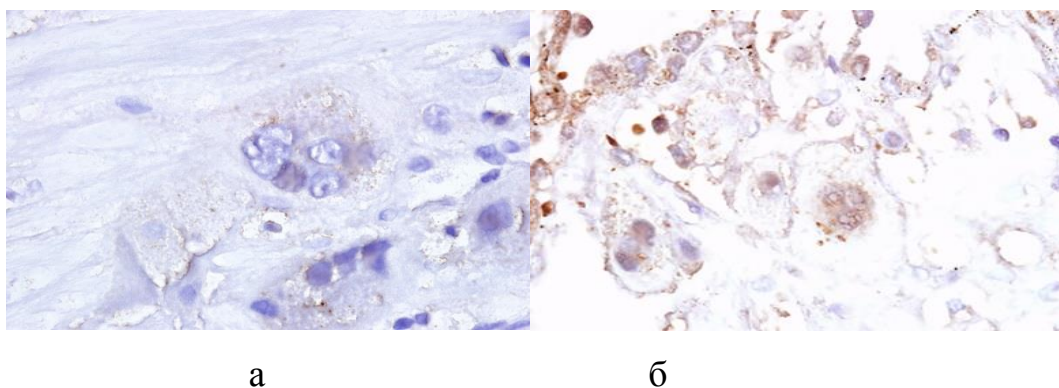


Рисунок 7. Экспрессия HIF-1 $\alpha$  при РПЭ (а); при ППЭ (б), ИИР x 400.

Выявленная нами высокая экспрессия микроРНК 34а в ядрах и цитоплазме вневорсинчатого цитотрофобласта (6 баллов) и эндотелии сосудов (6 баллов) свидетельствует в пользу нарушения инвазии и ангиогенеза в зоне ПП. При ППЭ и в контрольной группе отмечалась низкая экспрессия микроРНК 34а во вневорсинчатом цитотрофобласте (по 1 баллу, соответственно). При изучении экспрессии в эндотелии сосудов при ППЭ наблюдались умеренные значения (4 балла) и 2 балла - в контрольной группе, что подтверждает данные ИГХ об относительной сохранности инвазивных свойств цитотрофобласта и относительном снижении ангиогенеза при ППЭ, выраженном значительно слабее, чем при РПЭ ( $p < 0,05$ ) (рис. 8а, 8 б).

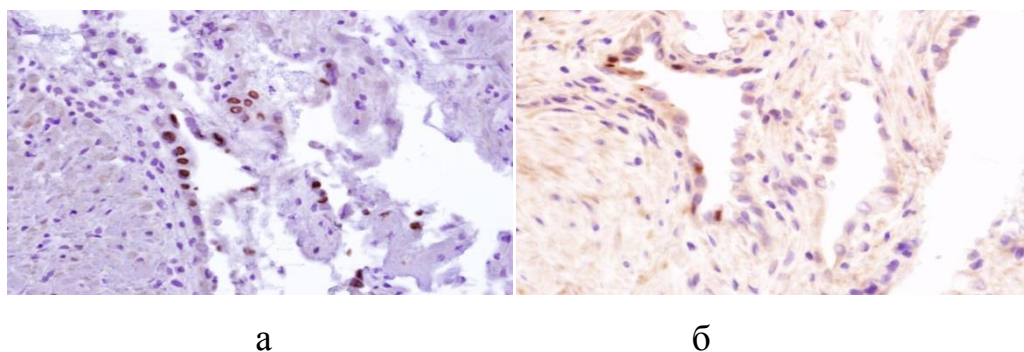


Рисунок 8. Микро РНК 34 а при РПЭ (а) и ППЭ (б), ХГ, x 250.

Таким образом, РПЭ и ППЭ, по данным морфологических и ИГХ исследований, могут рассматриваться как два фенотипа с разными патогенетическими особенностями формирования - инвазией

цитотрофобласта, гестационной перестройкой спиральных артерий и степенью компенсаторных механизмов.

Следующим этапом нашей работы была попытка выяснения механизмов формирования СЗРП при РПЭ и ППЭ.

Беременные с РПЭ и ППЭ были распределены на 4 подгруппы: Ia подгруппу составили 34 (68%) пациентки с РПЭ, беременность которых осложнилась развитием СЗРП; Ib подгруппу - 16 (32%) пациенток с РПЭ без СЗРП; IIa подгруппу - 11(22%) пациенток с ППЭ и СЗРП и IIb подгруппу – 39 (78%) пациенток с ППЭ без признаков СЗРП. Выявлено, что в подгруппе РПЭ и СЗРП, по сравнению с подгруппой РПЭ без СЗРП, статистически чаще отмечались гипертоническая болезнь среди родственников ( $p < 0,05$ ); возраст  $\leq 20$  лет, нормальный ИМТ, наступление беременности в течение 4-6 месяцев от начала половой жизни с данным партнером, более высокая частота повторной ПЭ.

Подгруппа пациенток с ППЭ без СЗРП чаще была представлена повторнобеременными повторнородящими с более высоким ИМТ. Вместе с тем ПЭ в собственном анамнезе, гипертоническая болезнь и заболевания щитовидной железы статистически значимо чаще встречались при сочетании ППЭ и СЗРП ( $p < 0,05$ ).

Сравнительный анализ особенностей течения беременности и исхода родов при РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП, показал, что в I триместре угроза прерывания беременности, ретрохориальные гематомы, чаще встречались в группе женщин с РПЭ с СЗРП по сравнению с остальными подгруппами ( $p < 0,01$  и  $p < 0,05$ , соответственно). При сравнительном анализе течения II триместра также статистически значимо чаще отмечались угроза прерывания беременности, СЗРП, активация внутрисосудистого свертывания крови, повышение печеночных трансаминаз. Сроки повышения АД и появления значимой ПУ не различались в подгруппах с РПЭ вне зависимости от СЗРП. Нарушение ФПК и МПК статистически чаще отмечены в подгруппах с РПЭ и СЗРП и с ППЭ и СЗРП

( $p < 0,05$ ). Досрочное родоразрешение во II триместре беременности одинаково часто отмечено в подгруппах с ранней ПЭ осложненной и неосложненной СЗРП (3 случая и 2 случая, соответственно). При сравнительном анализе течения III триместра у обследованных из подгруппы с РПЭ и СЗРП выявлено нарушение ФПК и МПК по данным УЗ-доплерометрии ( $p < 0,01$ ). Более раннее повышение АД и значимые уровни ПУ, более ранние сроки родоразрешения статистически чаще отмечено в подгруппе РПЭ и СЗРП. Показаниями для родоразрешения в группе с РПЭ и СЗРП явилось сочетание нарастания признаков тяжести ПЭ и выраженного нарушения состояния плода, в то время как при ППЭ без СЗРП в 95% случаев - нарастание тяжести ПЭ.

При анализе морфологических и иммуногистохимических особенностей строения ткани ПП при РПЭ и ППЭ, осложненной и неосложненной СЗРП, статистически значимых различий в обследованных подгруппах выявлено не было. Однако, при РПЭ и СЗРП отмечались наиболее высокие показатели микроРНК (7 баллов) по сравнению с остальными подгруппами ( $p < 0,05$ ) (рис.9а, 9б).

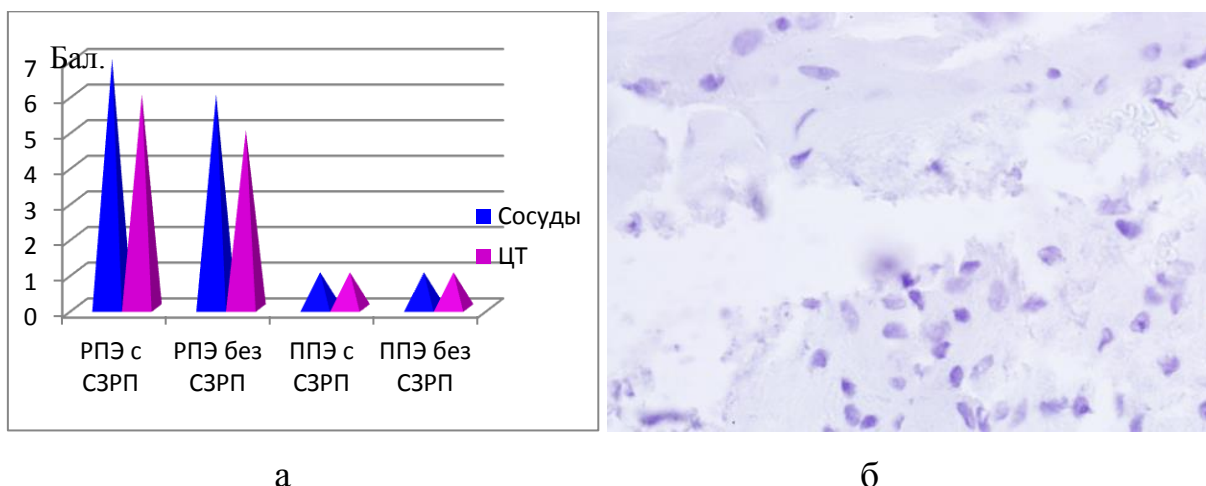


Рисунок 9. Исследование микроРНК 34 а при РПЭ и ППЭ осложненной и неосложненной СЗРП (а); микро РНК 34 а при ППЭ и СЗРП (б).

Таким образом, результаты морфологического и ИГХ исследования ткани ПП явились доказательной теоретической базой наличия двух клинико-патогенетических фенотипов ПЭ.

В нашем исследовании был проведен факторный анализ, в результате которого выявлено 2 комбинированных фактора: I фактор достоверно связан со сроками повышения АД (0,909800), сроками появления значимых уровней ПУ (0,913413), сроками родоразрешения (0,853901), массой тела новорожденных (0,704600). II фактор достоверно связан с переменными репродуктивного анамнеза обследованных - числом первобеременных первородящих (0,805140). Факторный анализ показал правомерность выделения двух клинических фенотипов тяжелой ПЭ в зависимости от срока беременности.

Таким образом, результаты нашего исследования убедительно показали существование двух клинических фенотипов: ранней и поздней ПЭ, с различными патогенетическими механизмами развития, которые обуславливают различное по степени выраженности осложнений течение беременности и, соответственно, различные ее исходы. Вместе с тем полиорганный характер осложнений, обусловленных развитием ПЭ, свидетельствуют о том, что ее воздействие на организм женщины не ограничивается рамками гестационного процесса. Разделение двух клинических фенотипов ПЭ способствует более четкой акушерской тактике и направлено на улучшение акушерских и перинатальных исходов.

## ВЫВОДЫ

1. Преэклампсия - это гетерогенное мультисистемное осложнение беременности с двумя клиническими фенотипами. Ранняя ПЭ ( $\geq 20$ -  $\leq 34$  нед. беременности) ассоциируется с более молодым возрастом женщины, более частым (в 3,5 раза) наступлением первой беременности в течение 4-6 мес. супружеской жизни, повышенной частотой (в 2 раза) повторной ПЭ, наследственной отягощенностью по сердечно-сосудистым заболеваниям.

Поздняя ПЭ ( $\geq 34$  нед беременности) ассоциируется с метаболическими нарушениями, сердечно-сосудистыми заболеваниями, в т.ч. у ближайших родственников, повышенным индексом массы тела.

2. Течение беременности при ранней ПЭ характеризуется угрозой прерывания беременности в I триместре с образованием ретрохориальных гематом (28%), активацией внутрисосудистого тромбогенеза (28%), как правило, резким повышением АД (62%), более ранним появлением значимой ПУ(42%), нарушением ФПК и МПК по данным УЗ-доплерометрии, статистически значимо высокой частотой СЗРП – 68% [OR 5,78 (95% CI 2,4-13,9), развитием HELLP-синдрома (4%). Поздняя ПЭ характеризовалась более поздними сроками нарастания повышения АД, появления ПУ, статистически более низкой частотой СЗРП в III триместре (22%).

3. При ранней ПЭ имеет место экстренное родоразрешение до 34 нед беременности в связи с тяжестью состояния беременной и выраженными нарушениями состояния плода. Отмечается меньшая продолжительность пролонгирования беременности (до 48 часов). При поздней ПЭ имеют место высокая частота своевременных родов (92%), более длительный период пролонгирования беременности (до 7 суток) и рождение детей с нормальными массо-ростовыми показателями (78%). Показаниями к родоразрешению при поздней ПЭ является нарастание тяжести ПЭ.

4. При сочетании РПЭ и СЗРП, статистически чаще отмечается возраст моложе 20 лет, нормальный ИМТ, беременность, наступившая в течение 4-6 месяцев от начала половой жизни с данным партнером, отягощенный собственный и семейный анамнез по ПЭ и гипертензивным нарушениям, упорная угроза прерывания беременности в I триместре. ( $p < 0,05$ ).

5. Для ранней ПЭ характерна поверхностная инвазия вневорсинчатого трофобласта, ограничивающаяся эндометрием и не достигающая миометрия, наличие и преобладание неремоделированных склерозированных сосудов спиральных артерий без признаков гестационной

перестройки, что отражает патологию I и II волн инвазии трофобласта. Поздняя ПЭ характеризуется частичным нарушением инвазии вневорсинчатого трофобласта с преобладанием ремоделированных сосудов.

6. Ранняя ПЭ характеризуется низкой экспрессией СКW+ клеток в эндометрии и полным их отсутствием в миометрии, сохранением высокого уровня микроРНК 34а в ткани эндотелия сосудов особенно при сочетании РПЭ и СЗРП; высокой экспрессией SMA+ и появлением незрелых фибробластических Vimentin+ клеток, низким количеством CD34+ в сосудах и факторов ангиогенеза (VEGF, VEGFR, IGF, IGFR, HIF-1) ( $p < 0,05$ ). Поздняя ПЭ характеризуется более высокой экспрессией СКW+ клеток в эндометрии и миометрии, частичной потерей микро РНК 34а, SMA+ и Vimentin+ клеток, сопровождается средними значениями экспрессии ангиогенных факторов VEGF, VEGFR, IGF, IGFR, HIF-1 ( $p < 0,05$ ) (приложение фрагмент плацентарного звена патогенеза тяжелой ПЭ).

7. В результате факторного анализа выявлено 2 комбинированных фактора: I фактор достоверно связан со сроками повышения АД, сроками появления значимых значений ПУ, сроками родоразрешения, массой тела новорожденных. II фактор достоверно связан с переменными репродуктивного анамнеза обследованных - с числом первобеременных первородящих и повторобеременных повторнородящих. Полученные данные свидетельствуют о наличии двух фенотипически различных вариантах тяжелой ПЭ.

8. Ранняя и поздняя ПЭ по данным проведенных исследований могут рассматриваться как два клинических варианта данного осложнения беременности с различной клинико-анамнестической картиной, исходами беременности, разными патогенетическими механизмами формирования - инвазией цитотрофобласта, гестационной перестройкой спиральных артерий и степенью выраженности компенсаторных механизмов.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При постановке диагноза тяжелой ПЭ необходимо уточнять ее фенотипический вариант в зависимости от времени манифестации клинических проявлений. Для РПЭ с дебютом клинических проявлений до 34 недель, характерны ассоциация с СЗРП, патологический плодово-маточный кровоток по данным УЗ-доплерометрии, более высокая частота индуцированных ранних преждевременных родов, рождение недоношенных детей, а также неонатальная заболеваемость и смертность.

ППЭ (после 34 недель), связана с соматическими заболеваниями матери (метаболическим синдромом, нарушением толерантности к глюкозе, ожирением, дислипидемией, хронической артериальной гипертензией), ассоциирована с нормальным кровотоком при УЗ-доплерометрии маточных артерий, нормальной массой тела новорожденного при рождении.

2. Женщинам с ПЭ в собственном анамнезе показано междисциплинарное наблюдение и обследование акушером-гинекологом и врачами-интернистами на этапе планирования беременности, а также тщательный контроль за течением беременности, родов и послеродового периода.

3. Женщины, перенесшие ПЭ, через 6 месяцев после родов должны подвергаться полному клинико-лабораторному обследованию у терапевта и нефролога, для оценки состояния здоровья и проведения реабилитационных лечебных мероприятий, направленных на улучшение качества жизни.

4. Дети, рожденные от матерей перенесших ПЭ, должны находиться на диспансерном учете, поскольку представляют группу риска по развитию метаболических нарушений и сердечно-сосудистых заболеваний.

5. С целью рациональной подготовки к последующей беременности, целесообразно исследование плацентарной площадки у беременных с тяжелой ПЭ. При этом в качестве маркеров инвазии рекомендуется изучать экспрессию СКW<sup>+</sup> в эндометрии и миометрии, микро РНК 34 а в ткани эндотелия сосудов, SMA<sup>+</sup> и наличие незрелых

фибробластических Vimentin+клеток, уровень CD 34+ в сосудах факторов ангиогенеза (VEGF, VEGFR, IGF, IGFR, HIF-1). При ранней и поздней ПЭ отмечается различная степень экспрессии, концентрации и «обратимости» выявленных нарушений указанных морфологических и иммуногистохимических маркеров.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Плацентарное ложе и преэклампсия (обзор литературы) / З.С. Ходжаева, Е.А. Коган, А.Д. Сафонова, **А.С. Акатьева**, К.Т. Муминова, Л.З. Файзуллин // **Акушерство и гинекология**. - 2013. - № 12. - С. 10-15.
2. Молекулярные детерминанты развития ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, **А.С. Акатьева**, А.М. Холин, А.Д. Сафонова, О.В. Вавина, К.Т. Муминова // **Акушерство и гинекология**. - 2014. - № 6. - С. 14-19.
3. Клинико-патогенетические особенности ранней и поздней преэклампсии / З.С. Ходжаева, Е.А. Коган, Н.И. Клименченко, **А.С. Акатьева**, А.М. Холин, О.В. Вавина, Г.Т. Сухих // **Акушерство и гинекология**. - 2015. - № 1. - С. 14-19.
4. Возможности прогнозирования преэклампсии и СЗРП / З.С. Ходжаева А.М. Холин, **А.С. Акатьева**, Т.Ю. Иванец, А.И. Гус // Материалы VI международного конгресса по репродуктивной медицине (Москва, 2012) // Проблемы репродукции. - 2012. – Спецвыпуск. - С. 50-51.
5. The modern search for possible predictors of preeclampsia in the first trimester of pregnancy (Preliminary study) / Z.S. Khodzhaeva, T.Y. Ivanets, M.L. Alexeeva, N.K. Runikhina, A.M. Kholin, **A.S. Akatyeva**, O.V. Vavina, G.T. Sukhikh // XVIII ISSHP World Congress (Geneva, 2012): abstracts // Pregnancy Hypertension: An Int. J. Women's Cardiovasc. Health. – 2012. - Vol. 2 (3). - P. 287.
6. Comparative study of endometrial and placental site areas in early- and late onset of Preeclampsia [Electronic resource] / Z. Khodzhaeva, E. Kogan, T.



Demura, **A. Akatyeva**, A. Nikolaeva, O. Vavina, V. Tyutyunnik, A. Kholin, G. Sukhikh // XI World Perinatal Congress, 2013 // Access mode: <http://www.degruyter.com/view/j/jpme.2013.41.issue-s1/issue-files/jpme.2013.41.issue-s1.xml>.

7. Relation of apoptosis, proliferation and angiogenesis in early and late onset of preeclampsia / Z. Khodzhaeva, E. Kogan, A. Kholin, **A. Akatyeva**, O. Vavina, G. Sukhikh // Pregnancy Hypertension: An Int. J. Women's Cardiovasc. Health. - 2013. - Vol. 3 (2). - P. 73.

8. Study of endometrial and placental site areas in preeclampsia / Z.S. Khodzhaeva, E.A. Kogan, T.A. Demura, **A.S. Akatyeva**, O.V. Vavina, A.D. Safonova, G.T. Sukhikh // The 18th Congress on Controversies in Obstetrics, Gynecology & Infertility (Vienna, Austria, 2013). - P. 48.

9. Morphological/immunohisto-chemical alterations of endometrial and placental site areas in preeclampsia / Z. Khodzhaeva, E. Kogan, T. Demura, **A. Akatyeva**, O. Vavina, A. Safonova, A. Kholin, G. Sukhikh // Pregnancy Hypertension: An Int. J. Women's Cardiovasc. Health. - 2015. - Vol. 5 (1). - P. 103-104.

### Фрагмент плацентарного звена патогенеза тяжелой преэклампсии

