

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
АКУШЕРСТВА, ГИНЕКОЛОГИИ И ПЕРИНАТОЛОГИИ
ИМЕНИ АКАДЕМИКА В.И. КУЛАКОВА»**

На правах рукописи

ХАРЧЕНКО

Дарья Константиновна

**ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС ПРИ ПРЕЭКЛАМПСИИ:
ДИАГНОСТИКА И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ**

14.01.01 - Акушерство и гинекология

**Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

**Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор Кан Н.Е.
доктор биологических наук, профессор Асташкин Е.И.**

Москва – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Глава 1. Современные представления о преэклампсии (обзор литературы)	11
1.1. Определение и классификация	11
1.2. Этиология и патогенез	14
1.3. Диагностика, профилактика и лечение	35
Глава 2. Материал и методы исследования	41
2.1. Материал исследования	41
2.2. Методы исследования	45
2.2.1. Общеклинические методы исследования	45
2.2.2. Функциональные методы исследования	48
2.2.3. Специальные методы исследования	49
2.2.4. Изучение здоровья новорожденных	51
2.2.5. Статистические методы исследования	51
Глава 3. Клиническая характеристика обследованных беременных	53
3.1. Анамнестические данные женщин в изучаемых группах	53
3.2. Анамнестические данные женщин в изучаемых подгруппах ранней и поздней преэклампсии, умеренной и тяжелой преэклампсии	64
Глава 4. Результаты собственных исследований	67
4.1. Течение и исход настоящей беременности	67
4.2. Течение и исход настоящей беременности у женщин подгрупп ранней и поздней преэклампсии	75
4.3. Изучение содержания нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), среднего объема тромбоцитов (MPV), анизоцитоза тромбоцитов (PDW) в клиническом анализе крови женщин с преэклампсией и женщин с физиологически протекающей беременностью	79
4.4. Определение содержания изоформ трансформирующего фактора роста β в крови беременных с преэклампсией мультиплексным методом	83

4.5. Изучение взаимосвязи содержания преактивированны (праймированных) нейтрофилов в периферической крови беременных с преэклампсией методом хемилюминесцентного анализа	88
4.6. Влияние амниотической жидкости и плазмы беременных спреэклампсией на жизнеспособность и продукцию АФК клетками нейробластомы	100
Глава 5. Обсуждение полученных результатов	105
Выводы	136
Практические рекомендации	138
Список сокращений	139
Список литературы	142

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Преэклампсия относится к числу наиболее серьезных гипертензивных нарушений в связи с ее воздействием на здоровье матерей и новорожденных и занимает 3-е место среди причин материнской смертности по данным ВОЗ [4].

Преэклампсия (ПЭ) – мультисистемное патологическое состояние, возникающее, как правило, после 20 недели беременности, характеризующееся артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией ($>0,3$ г/л в суточной моче), нередко, отеками и проявлениями полиорганной/полисистемной дисфункции/недостаточности [8, 9].

В развитых странах в 12-18% гипертензивные расстройства, включающие ПЭ, являются второй непосредственной причиной антенатальной и постнатальной смертности, влияя на перинатальную смертность в 20-25% случаях [10].

Поскольку последствия тяжелых гипертензивных расстройств снижают качество последующей жизни женщины (высокая частота атеросклероза, сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний), а частота нарушения физического, психосоматического развития преждевременно рожденных детей достаточно высока, так же как и риск развития в будущем у них соматических заболеваний, то эта проблема является значимой в социальном и медицинском плане [12].

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на большой интерес исследователей к данной проблеме, патогенез ПЭ недостаточно изучен. На данный момент существует несколько теорий возникновения и развития ПЭ. К ним относятся: нарушение инвазии трофобласта, развитие синдрома системной воспалительной реакции и нарушения иммунологической толерантности и др. [192]. В последнее время существенное значение в патогенезе ПЭ отдается роли оксидативного стресса с нарушением баланса оксидантно-антиоксидантной системы. Оксидативный стресс плацентарных тканей, вызванный избыточной продукцией АФК (активные формы кислорода), представляет собой общий патофизиологический механизм и

считается одним из ключевых звеньев в патогенезе преэклампсии [13, 201, 212]. Результаты многочисленных исследований последних десятилетий подтверждают ключевую роль эндотелия в регуляции сосудистого гомеостаза. Нормальная функция эндотелия заключается в балансе между такими процессами, как вазоконстрикция и вазодилатация, выработке факторов воспаления и пролиферации сосудов, участии в тромбообразовании и ремоделировании сосудов [192, 216].

Свободнорадикальные процессы необходимы для нормального функционирования организма, они участвуют в процессах апоптоза и регулируют проницаемость эндотелия, транспорт веществ через мембраны, синтез простагландинов и лейкотриенов, метаболизм катехоламинов и стероидных гормонов [91].

При этом свободные радикалы токсичны для эндотелиальных клеток, их распад приводит к накоплению продуктов окисления липидов, представляющих собой высокотоксичные соединения (диеновые конъюгаты, малоновый диальдегид, и др.), оказывающие повреждающее действие на мембраны клеток, способствуя развитию эндотелиальной дисфункции, повышению уровня системного воспалительного ответа у женщин с преэклампсией по сравнению с нормально протекающей беременностью [151].

Многогранность патогенеза ПЭ обуславливает то, что на сегодняшний день не существует ни одного теста с достаточной чувствительностью и специфичностью, обеспечивающего раннюю диагностику и прогнозирование развития ПЭ. Как дополнение к анамнестическим данным рассматривается комбинация тестов, которая включает: доплерометрию в маточных артериях, ультразвуковую оценку структуры плаценты, биохимические тесты. Так же есть опыт использования определения PAPP-A (связанный с беременностью плазменный протеин А) [70], альфа-фетопротеина [26], хорионического гонадотропина, ингибина А, sFlt-1(тирозинкиназа) и PLGF (плацентарный фактор роста) [35, 48, 54, 147, 187]. В настоящее время изучена роль предполагаемых маркеров оксидативного стресса: малонового диальдегида (MDA), витамина Е и

глутатиона, а также возможность их использования для ранней диагностики преэклампсии [140].

Вышеизложенное диктует необходимость проведения дальнейших исследований по уточнению звеньев патогенеза преэклампсии для оптимизации диагностических мероприятий. Однако перспектива лежит в определении неинвазивных маркеров - в частности маркеров оксидативного стресса, а также медиаторов, участвующих в регуляции вышеуказанных процессов, что требует проведения дальнейших исследований. Кроме того, отсутствие доказательной базы использования каких-либо медикаментозных препаратов для предотвращения развития преэклампсии у женщин, входящих в группу риска ее развития, обосновывает перспективность изучения роли оксидативного стресса в патогенезе преэклампсии с целью определения возможности использования антиоксидантов.

Цель исследования: Оптимизация диагностики и прогнозирования преэклампсии на основании изучения особенностей оксидативного стресса для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Задачи исследования

1. Представить исходную клиническую характеристику беременных с преэклампсией различной степени тяжести и охарактеризовать особенности течения беременности и родов, послеродового периода, состояния плодов и новорожденных.
2. Оценить уровень оксидативного стресса при преэклампсии различной степени тяжести и физиологической беременности на основании изучения спонтанной генерации радикалов кислорода фагоцитами крови.
3. Выявить влияние стандартных стимуляторов (формил пептид и форболовый эфир) на уровень оксидативного стресса при преэклампсии.
4. Изучить влияние плазмы крови беременных с преэклампсией на продукцию активных форм кислорода и апоптоз перевиваемых нейронов.

5. Определить изменения уровней трансформирующего фактора роста бета (TGF- β) при преэклампсии различных степеней тяжести и форм.

6. Разработать алгоритм диагностики и прогнозирования преэклампсии для снижения акушерских осложнений и улучшения перинатальных исходов.

Научная новизна

Изучено состояние клеток крови и определено содержание преактивированных фагоцитов по уровню «спонтанного» образования радикалов кислорода, и доказано, что развитие преэклампсии ассоциировано с увеличением числа нейтрофилов в преактивированном состоянии.

Проведена оценка ответа преактивированных фагоцитов на стандартные стимуляторы при физиологической беременности и при преэклампсии и показано, что данное осложнение характеризуется увеличением генерации активных форм кислорода в ответ на стимуляцию формил пептидом и форболовым эфиром.

Установлена корреляция развития ранней преэклампсии с TGF- β 3 изоформой, что позволяет предположить его регуляторную роль в патогенезе данного осложнения.

Выявлено увеличение генерации активных форм кислорода (АФК) при воздействии амниотической жидкости и плазмы крови беременных с преэклампсией на нейроны, что свидетельствует об их способности к индукции оксидативного стресса.

Показано, что плазма крови беременных с преэклампсией обладает проапоптогенным действием, которое выражается в увеличении фрагментации ДНК нейронов при ее воздействии.

Теоретическая и практическая значимость работы

Уточнены клинические факторы, позволяющие выделить группы риска развития преэклампсии.

Оценка содержания преактивированных нейтрофилов в крови беременных позволяет определить риск развития тяжелой преэклампсии.

Определение уровня свободно-радикального окисления в ответ на стимуляцию формил пептидом позволяет прогнозировать развитие тяжелой формы преэклампсии.

На основании оценки уровня TGF- β 3 целесообразно выделить группы беременных по развитию ранней преэклампсии.

Разработанный алгоритм диагностики и профилактики преэклампсии позволяет снизить акушерские осложнения и улучшить перинатальные исходы.

Методология и методы исследования

Проведено одномоментное поперечное исследование с корреляционным анализом анамнестических данных пациенток с развитием ПЭ для выявления факторов риска, также проводилось исследование спонтанного и индуцированного стандартными стимуляторами образования радикалов кислорода у женщин с ПЭ методом хемилюминисценции, определение концентрации изоформ TGF β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) в плазме периферической крови мультиплексным методом, регистрация клеточной гибели клеток методом флуоресцентной микроскопии. Клинико-лабораторное обследование пациенток проводилось в полном объеме согласно приказу Минздрава РФ от 01.11.2012 N 572н. - Порядок оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)".

Положения, выносимые на защиту

1. К клинико-анамнестическим факторам риска преэклампсии следует относить отягощенный семейный анамнез по преэклампсии и заболеваниям сердечно-сосудистой системы, а также наличие миомы матки и первичного бесплодия. Течение беременности характеризуется высокой частотой акушерских (угроза прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы в I триместре, ранним токсикозом и синдромом задержки роста плода) и

неонатальных (экстремально низкая масса плода при рождении, респираторный дистресс-синдром, врожденная пневмония) осложнений. При этом данная тенденция наиболее выражена при ранней преэклампсии.

2. TGF- β 3 изоформа играет значимую роль в патогенезе преэклампсии и является диагностическим маркером ее различных форм. Определение отношения нейтрофилов к лимфоцитам в периферической крови беременных с преэклампсией является доступным и достоверным критерием оценки степени ее тяжести.

3. Преэклампсия сопровождается увеличением содержания преактивированных нейтрофилов, характеризующихся статистически значимо высокой «спонтанной» генерацией супероксид анионов и радикалов кислорода при воздействии низких доз праймирующих агентов. Увеличение фрагментации ДНК нейронов под влиянием плазмы крови пациенток с преэклампсией отражает ее влияние на уровень апоптоза.

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в определении и постановке цели и задач работы, разработке дизайна, систематизации данных литературы по теме диссертации и анализе клинико-anamнестических данных. Автор осуществлял ведение части пациентов в дородовом и послеродовом периоде, проводя родоразрешение и забор биологического материала. Диссертантом проведен анализ медицинской документации, статистическая обработка данных и научное обобщение полученных результатов.

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, 2, 4 и 5 паспорта акушерства и гинекологии.

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность результатов исследования подтверждается репрезентативной выборкой (60 пациенток с преэклампсией и 155 пациенток с физиологически протекающей беременностью), использованием современных методов исследования, которые соответствуют поставленной цели и задачам. Выводы и практические рекомендации закономерно вытекают из результатов исследования и подтверждают положения, выносимые на защиту. Подготовка, статистический анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа

Апробация работы

Обсуждение диссертации состоялось на межклинической конференции сотрудников акушерского отделения (16 июня 2019) и заседании апробационной комиссии ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России (17 сентября 2019 года, протокол №10).

Внедрение результатов исследования в практику

Разработанная на основании полученных результатов тактика ведения беременности у женщин группы риска по развитию ПЭ используется в практической деятельности отделений ФГБУ «НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 164 страницах и состоит из введения, пяти глав, выводов и практических рекомендаций, списка сокращений и списка литературы. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 39 рисунками. Список литературы включает 217 источников, из них 14 работ отечественных и 203 – зарубежных авторов.

Глава 1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРЕЭКЛАМПСИИ (обзор литературы)

1.1. Определение и классификация

Понятие преэклампсии (ПЭ) было введено в конце XIX века. Вагом писал в своем исследовании, что симптомы данной патологии настолько специфичны, что могут быть собраны в определенную группу и составлять особую клиническую картину, называемую *graeclampsia, status preeclampticus*.

Гипертония, вызванная беременностью, является одной из самых частых и наиболее сложных с точки зрения этиологии, патогенеза, диагностики, лечения и профилактики болезней при беременности, что ставит под угрозу жизнь как матери, так и плода. Заболеваемость ПЭ составляет около 10% со значительными изменениями в некоторых частях мира в зависимости от диагностических критериев [138]. Во всем мире регистрируется около 8 370 000 случаев заболевания в год по данным RGOG [193]. В развивающихся странах, таких как Колумбия, 42% материнской смертности связаны с преэклампсией, а также ПЭ является основной причиной преждевременных родов [103]. В 5-8% случаев ПЭ влияет на течение и исходы беременностей, перинатальную заболеваемость и смертность [94].

На сегодняшний день существуют различные определения преэклампсии: по определению Американского колледжа акушерства и гинекологии (ACOG) преэклампсия (ПЭ) представляет собой многосистемное расстройство беременности, характеризующееся возникновением гипертензии и протеинурии после 20 недель гестации [16, 197]. По определению RGOG преэклампсия (ПЭ) - мультисистемное патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности (после 20-й недели), характеризующееся артериальной гипертензией в сочетании с протеинурией ($\geq 0,3$ г/л в суточной моче), нередко, отеками, и проявлениями полиорганной/полисистемной дисфункции/недостаточности [155]. Г.М. Савельева с соавт. определяет понятие преэклампсии как осложнение беременности, характеризующееся глубоким расстройством функций жизненно важных органов, систем и клинически

проявляющееся, как правило, после 20 недели беременности. Преэклампсия по определению В.Н. Серова – мультисистемное патологическое состояние, возникающее во второй половине беременности, характеризующееся артериальной гипертензией, протеинурией ($>0,3$ г/л в суточной моче), отеками и проявлением полиорганной недостаточности [2]. Для ПЭ характерно наличие триады симптомов: повышение артериального давления, протеинурия, отеки [62]. Материнская смертность при ПЭ обусловлена главным образом такими серьезными осложнениями, как эклампсия, кровоизлияние в мозг и почечная недостаточность [6, 115, 155]. Э.К. Айламазян и М.А. Репина [1] утверждают в своих работах, что понятие «преэклампсия» следует расширить, включая проявления всех стадий осложнений, предшествующих эклампсии, устранив период перед наступлением судорог. По данной классификации различают преэклампсию умеренной и тяжелой степени (*milde and severe*), далее — эклампсия. Диагноз состояния, за которым следует приступ, является важным потому, что он требует немедленной интенсивной терапии, чаще — родоразрешения наиболее щадящим методом в зависимости от акушерской ситуации. В связи с этим вопрос классификации преэклампсии длительное время остается дискуссионным. За последние десятилетия расширились представления о гетерогенной природе данного синдрома. ПЭ может манифестировать до 34 недель (раннее начало) и после 34 недель (позднее начало), во время родов или в послеродовом периоде [5]. Показано, что ранняя и поздняя ПЭ могут иметь различную патофизиологию. ПЭ с ранним началом в отличие от поздней обычно сопровождается ишемическими нарушениями в плаценте и задержкой роста плода. Поздняя ПЭ ассоциируется с низкоградиентным хроническим воспалением, более высоким индексом массы тела, инсулинорезистентностью. В рамках концепции персонализированной медицины будущие направления исследований по прогнозированию и профилактике ПЭ должны основываться на выявлении и уточнении подтипов ПЭ с учетом влияния материнских конституционных факторов для стратификации пациентов на основе специфических биомаркеров [109]. Правильно и своевременно поставленный

диагноз определяет адекватность и эффективность лечебных мероприятий, а в акушерской практике сохраняет здоровье и жизнь как матери, так и ребенка. С этой целью в 2005 г. на форуме «Мать и дитя» была предложена классификация Г.М. Савельевой. Для скринингового метода оценки степени тяжести гестоза рекомендовалась шкала, предложенная Г.М. Савельевой и Р.И. Шалиной. По клинической форме: чистый - развивается у соматически не отягощенных пациенток, сочетанный - возникает на фоне экстрагенитальных заболеваний (артериальной гипертензии, заболеваний почек, печени, нейроэндокринной системы и др.), неклассифицированный - отсутствие достаточной информации для диагноза. По степени тяжести выделяют легкий - длительность течения 1–2 недели (требует лечения), средней тяжести - длительность течения 3–4 недели (необходимо лечение и решение вопроса о возможности пролонгирования беременности) и тяжелый (прогрессирующий) - длительность течения более 4 недель (требует быстрого и бережного родоразрешения)

Согласно гайдлайнам 2010 года, предложенными RGOG, клиническая классификация гипертензивных расстройств во время беременности следующая [14, 112]: преэклампсия и эклампсия, преэклампсия и эклампсия на фоне хронической артериальной гипертензии, гестационная (индуцированная беременностью) артериальная гипертензия, хроническая артериальная гипертензия (существовавшая до беременности), гипертоническая болезнь - Вторичная (симптоматическая) артериальная гипертензия [62, 107, 161]

Необходимость интеграции с зарубежным сообществом в области научных публикаций, международных выступлениях требует перехода на единую классификацию согласно МКБ-10, что предписано приказом Минздрава РФ от 27.05.1997 №170. С изменениями от 12 января 1998 года.

В целом преэклампсия и эклампсия (наличие неврологической симптоматики) - критическое состояние, требующее проведения неотложных мероприятий с немедленной госпитализацией и родоразрешением. Помимо этого, для определения тяжести заболевания необходимо исследование параметров доплерометрии кровотока в системе мать – плацента - плод, гемостаза, в

частности, числа тромбоцитов, печеночных ферментов, креатинина, сатурации кислорода и т.д.

1.2. Этиология и патогенез

Открытию патогенеза преэклампсии мешает отсутствие четких диагностических критериев заболевания и его подтипов. В большинстве патогенетических исследований используются образцы от пациентов с установленной преэклампсией, а не образцы крови, полученные от женщин до клинической манифестации заболевания. Это затрудняет определение четкой взаимосвязи между конкретными посредниками, механизмами и клиническими проявлениями. Модели животных не смогли дать окончательного понимания патогенеза преэклампсии из-за их ограниченной применимости к человеческой форме заболевания. Несмотря на эти ограничения, было предложено несколько теоретических механизмов развития преэклампсии, позволяющие согласовать фето-плацентарные аномалии и клинические проявления со стороны материнского организма. Исследования интерстициальной инвазии трофобластов в ткани матки после гистерэктомии во время кесарева сечения у женщин с преэклампсией показали, что как глубина инвазии, так и численная плотность интерстициальных трофобластов значительно уменьшены [107]. Основные исследования и клинические данные показывают, что дезадаптация и неадекватная инвазия цитотрофобласта и ремоделирование маточных артерий, характерные для преэклампсии, являются результатом внутренних факторов (аномальная биология трофобластов), действующих в сочетании с внешними материнскими маточными факторами. Эти внешние факторы, действующие вокруг маточных артерий, включают нарушенное децидуальное ремоделирование, нарушение функции маточных клеток-киллеров (NK) и недостаточную экспрессию молекул адгезии эндотелием. Эти факторы могут взаимодействовать каскадно-подобным образом. NK-клетки являются преобладающими децидуальными лимфоидными клетками. При ранних сроках гестации они накапливаются как плотный инфильтрат вокруг инвазионных клеток цитотрофобласта, участвуют в ремоделировании спиральных артерий путем

продуцирования цитокинов, которые участвуют в ангиогенезе и сосудистой стабильности, таких как фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста плаценты (PlGF) и ангиопоэтин [62]. Несмотря на многочисленные исследования в области патогенеза, до настоящего времени нет единой теории возникновения и развития вышеуказанных изменений. Так, Noris et al. предполагают, что преэклампсия является болезнью плацентации, вызванной снижением активности или периодом полувыведения NO, вторичной низкой концентрации l-Arg (L-аргинин) в тканях, которая является следствием чрезмерной экспрессии аргиназы. В ответ на гипоксию, которая возникает в результате аномальной плацентации и плацентарной гипоперфузии, плацента высвобождает множество провоспалительных факторов в материнское кровообращение, включая sFlt1 (растворимый рецептор тирозинкиназы 1) и ROS (активные формы кислорода), которые инициируют эндотелиальную дисфункцию и последующие многосистемные поражения органов и тканей [161]. Гистологически следствием плохой плацентации является обструктивное поражение на дистальных концах спиральных артерий острый атероз характеризующийся фибриноидным некрозом и накоплением насыщенных липидами макрофагов или пенных клеток [104]. Патогенез пенных клеток не выявлен. Вероятно, они образуются аналогично таковым при атеросклерозе у небеременных женщин.

В недавних работах, проведенных в НМИЦ АГиП им. В.И. Кулакова [217], было показано, что мезенхимальные стволовые клетки (MSCs) играют важную роль в патологии преэклампсии. Экспрессия микро РНК – 136 выражена в децидуальных оболочках – производных MSCs у женщин с ПЭ по сравнению с женщинами с нормально протекающей беременностью [7]. Микро РНК-136 значительно увеличивают апоптоз и подавляют пролиферацию мезенхимальных стволовых клеток, что также может препятствовать инвазии трофобласта. Эти данные свидетельствуют о том, что экспрессируемые децидуальной оболочкой микро РНК-136, который увеличивается при ПЭ, являются потенциально причинным фактором ПЭ [78].

Ряд авторов [126] предполагает, что повышенный риск преэклампсии возникает при беременности, осложненной резистентностью к инсулину (Wolf et al., 2002; Seely and Solomon, 2003). Во время беременности проходящее повышение резистентности к инсулину и воспалительные реакции считаются нормальными наряду с повышенным ангиогенезом. Венозная емкость сосудистого русла матери увеличивается, артериальное сопротивление сосудов снижается, что сопровождается увеличением объема циркулирующей крови; Однако при преэклампсии эти механизмы становятся дисфункциональными, что проявляется в материнской гипертензии и повреждении органов. Известно, что риску развития преэклампсии способствует гиперинсулинемия, что связано со сниженным уровнем плацентарного фактора роста. Ряд авторов подчеркивает важность сигнальных путей, связанных с VEGF и связыванием с инсулином, что предполагает общие пути воздействия на рецепторы при ПЭ. Кроме этого показано, что изменения в сигнальных путях, включающие SFlt-1, PLGF и инсулин, могут давать суммарные эффекты, которые приводят к широкомасштабной активации эндотелия и развитию сосудистой дисфункции. При преэклампсии антиангиогенный дисбаланс медиаторов, который связан с уменьшением микрососудистого кровотока и усугубляется высоким уровнем резистентности к инсулину, не наблюдается при физиологически протекающей беременности.

Другое мнение связано с белком висфатином, который был выделен в 2004 году группой японских исследователей как гормон, который продуцируется преимущественно висцеральной жировой тканью и обладает инсулиномиметическими свойствами [74]. Наряду с адипоцитами, значительное количество циркулирующего висфатина вырабатывается макрофагами. При воздействии на сосудистую стенку провоспалительных агентов (например, ЛПНП-липополисахариды низкой плотности) экспрессия висфатина макрофагами в месте повреждения значительно повышается [81,142]. Рекомбинантный висфатин активизирует лейкоциты и стимулирует синтез цитокинов (интерлейкинов 1 и 6 (ИЛ-1, ИЛ-6) и ФНО- α (фактор некроза опухолей - α) [128].

В исследовании Оки К. с соавт. [146] было обнаружено, что сывороточные концентрации висфатина коррелируют с уровнем С-реактивного белка и интерлейкина-6. Уровень висфатина в сыворотке крови был достоверно выше при беременности, осложненной гипертонией. Ряд зарубежных авторов поддерживают теорию патогенеза развития ПЭ, связанную с изменениями в аденозин-зависимых биологических эффектах. Известно, что аденозин является эндогенным нуклеозидом с плейотропным эффектом в различных физиологических процессах. Изменения в мембранных переносчиках аденозина, аденозиновых рецепторах и соответствующих внутриклеточных сигнальных путях ассоциируется с развитием патологии беременности. Преэклампсия ассоциируется с увеличением концентрации аденозина в крови матери и плацентарной ткани, вероятно, вследствие местной гипоксии и ишемии, микротромбозов, повышенного выброса катехоламинов и активации тромбоцитов. Активация аденозиновых рецепторов может быть связана с аномальной инвазией трофобласта, ангиогенезом и ишемией/реперфузией в плаценте, недостаточной утилизацией медиаторов воспаления в следствие нарушения ремоделирования спиральных артерий, возникающими при развитии ПЭ [68]. Другие исследователи указывают на роль эстрогена, вовлеченного в патогенез ПЭ посредством эстрогеновых рецепторов (ERs), а именно посредством рецептора эстрогена G-protein-coupled receptor 30 (GPR 30). Меньшая экспрессия GPR 30 характеризуется более высоким уровнем апоптоза и меньшей пролиферацией, что было ассоциировано с ПЭ. Кроме того, эксперименты *in vitro* показали, что селективный агонист GPR 30 – G1 и общий агонист эстрогеновых рецепторов-17- β -эстрадиол играли протективную роль в плаценте, защищая ее клетки от гипоксических повреждений, уменьшая уровень апоптоза и увеличивая пролиферацию. Кроме того, этот эффект был нивелирован добавлением селективного ингибитора GPR30 G15 [58].

С недавнего времени исследователи уделяют значимую роль митохондриальной дисфункции в развитии многих патологических процессов, в том числе и ПЭ. Известно, что редокс-сигналинг в митохондриях,

осуществляемый посредством активных форм кислорода, инкриминируется при развитии патологических состояний в клетках. Чрезмерное производство активных форм кислорода непосредственно связано с митохондриальной дисфункцией. Кроме того, митохондриальная дисфункция является ключевым посредником в развитии оксидативного стресса, апоптоза, воспаления. Это ключевые патогенетические процессы в развитии преэклампсии. McCarthy С.М. с соавт. [53] считают, что митохондриальная дисфункция является ключевым патогенетическим механизмом в развитии оксидативного стресса в патофизиологии. Yildirim Z.K. с соавт. [40] показали в своем исследовании необходимость дальнейшего изучения роли такого фактора, как sTWEAK (сывороточный растворимый фактор некроза опухоли), показав, что он уменьшен у больных с преэклампсией по сравнению с пациентками контрольной группы.

Необходимо отметить, что, по мнению ряда исследователей, дисбаланс в метаболизме витаминов группы D также может рассматриваться как возможный патогенетический механизм развития ПЭ. Tambler J.A. с соавт. [128] в исследовании определяли метаболиты витамина D в парной сыворотке крови матери, плацентарной крови и в децидуальных тканях. Авторы показали, что развитие преэклампсии связано со снижением активации, повышенном катаболизме, и нарушении плацентарного поглощения 25-гидроксихолекальциферола 25(OH)D₃. Роль витамина D подтверждается и рядом других авторов. Так Nandi AA. et al. [146] показали, что измененная экспрессия гена цистатионинбетасинтазы может привести к гипергомоцистеинемии. Более высокие уровни гомоцистеина, как известно, способствуют увеличению образования активных форм кислорода (АФК), которые, в свою очередь, приводят к повышению экспрессии фосфолипазы А₂ (PLA₂) и циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), что может привести к высвобождению арахидоновой кислоты мембранных фосфолипидов в результате чего увеличивается продукция тромбоксана. Витамин D [1,25(OH)₂D₃], как известно, вызывает экспрессию цистатионинбетасинтазы, которая в свою очередь подавляет окислительный стресс и связанную с ним продукцию ЦОГ-2 и фосфолипазы А₂ и конверсию в тромбоксан фосфолипидов.

Таким образом авторами выдвигается гипотеза о том, что нарушение метаболизма витамина D и метаболизма длинной цепи полиненасыщенных жирных кислот влияет на регулирование одного углеродного цикла, что вызывает воспаление через активацию окислительного стресса при преэклампсии. Это может приводить к изменению фето-плацентарного роста и развитию преэклампсии.

Также изучена взаимосвязь между уровнем сывороточного железа в организме и развитием гипертензии. В мета-анализе, проведенном Song QY с соавторами на базах PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science, the Chinese Biomedical Database, CNKI и WANFANG с января 1990 по май 2015, были отобраны 26 исследований, включая 2 проспективных исследования и 23 исследования-случай контроль. 1349 пациентов и 1119 человек в группе контроля были отобраны для данного мета-анализа. Сводные результаты показывают, что высокий уровень сывороточного железа увеличивает частоту возникновения гипертензивных расстройств во время беременности. Результаты данного мета-анализа свидетельствуют о том, что высокий уровень сывороточного железа связан с повышенным риском развития гипертензивных расстройств во время беременности, в особенности гестационной гипертензии и преэклампсии [168].

Существенное место заняла инфекционная теория развития ПЭ. В Кливленде проведено исследование [166] возможной связи между апикальным периодонтитом матери и преэклампсией. Апикальный (верхушечный) периодонтит значительно чаще был диагностирован в группе женщин с ПЭ. Степень санации полости рта связана со многими хроническими заболеваниями, включая болезни сердечно-сосудистой системы, диабет, а также осложнениями беременности, такими как низкий вес при рождении, преждевременные роды, преэклампсия и невынашивание беременности. Состояние здоровья женщин репродуктивного возраста важно не только для самих женщин, но и для здоровья плода [98]. Имеются данные о роли вирусов, так, в исследовании, проведенном в Судане (90 женщин в каждой группе) авторы показали, что краснуха и HSV-2 (вирус простого герпеса 2 типа) IgG серопозитивность связана с развитием преэклампсии. Необходимо проведение соответствующих профилактических мер

и дальнейших исследований [116]. Также было показано, что у беременных женщин с ранней преэклампсией (<34 недель) более высокие шансы иметь плода женского пола ($OR=3.2(1,1-9,6)$), в то время как женщины без преэклампсии, но с преждевременными родами имеют более низкие шансы соответственно ($OR=95\% (0.3-0.9)$) [210].

Существенное место занимает теория, заключающаяся в дисбалансе различных про- и антиангиогенных факторов в патогенезе развития ПЭ. Дисбаланс ангиогенных факторов может играть решающую роль в развитии преэклампсии. Так, Ven Guan et al считает, что преэклампсия связана с изменениями концентрации в плазме материнской плазмы эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) и других родственных факторов роста и их рецепторов. VEGF участвует в реализации преэклампсии путем участия в васкулогенезе и изменении сосудистой проницаемости. Известно, что VEGF стимулирует образование оксида азота, который является мощным вазодилататором, связанным с гестационной вазодилатацией, характерной для нормальной беременности. Основными важными функциями VEGF являются стимуляция ангиогенеза и вазодилатации путем стимулирования производства оксида азота и простациклина. Исследование, проведенное в госпитале Университета Ганы, продемонстрировало значительное снижение уровней VEGF (эндотелиального фактора роста сосудов) материнской сыворотки как при нормотензивной беременности, так и при преэклампсии по сравнению с нормотензивным небеременным состоянием. Однако снижение уровня VEGF материнской сыворотки при преэклампсии было значительно больше, чем уровень VEGF в материнской сыворотке при нормальной беременности ($p<0,001$). Несмотря на значительное снижение уровней VEGF в сыворотке крови при нормальной беременности, оно, вероятно, не достигает критического порога, который может вызвать значительную дисфункцию эндотелия и манифестацию ПЭ. Кроме того известно, что растворимый flt-1 (тирозинкиназа 1) обычно связывает и ингибирует множественные проангиогенные белки, такие как VEGF и фактор роста плаценты (PlGF), предотвращая их связь с соответствующими

рецепторами эндотелиальных клеток [135, 182]. Физиологические эффекты VEGF опосредуются посредством его связывания с двумя высокоаффинными рецепторными тирозинкиназами, которые избирательно экспрессируются на поверхности сосудистой эндотелиальной клетки [85, 178]. Растворимый flt-1 представляет собой сплайсирующий вариант flt-1, имеющий внеклеточный домен, но не имеющий как трансмембранных, так и цитоплазматических доменов, которые были вырезаны после транскрипции. Растворимый flt-1 действует как сильный антагонист путем связывания с VEGF и ингибирует его биологическую активность [135]. Было показано, что при тяжелой преэклампсии плацентарные клетки выделяют высокие уровни растворимой изоформы flt-1 (антиангиогенный фактор), который взаимодействует и нейтрализует эффекты VEGF и PlGF [106]. Чем выше уровень sflt-1 в сыворотке крови, тем ниже биодоступные уровни VEGF и более выражена эндотелиальная дисфункция [19]. Плацентарный фактор роста (PLGF), сосудистый фактор эндотелиального роста (VEGF), и индуцируемый гипоксией фактор (HIF), как известно, играют важные роли в патогенезе преэклампсии. В исследовании, проведенном в Судане с помощью иммуногистохимического исследования, были оценены PLGF, VEGF и HIF-1 α в плацентах женщин с тяжелой и умеренной преэклампсией и, соответственно, у женщин с физиологически протекающей беременностью. Было получено, что иммуногистохимическое окрашивание плацентарного фактора роста (PLGF) было значительно ниже в плацентах женщин с тяжелой преэклампсией (16%) по сравнению с плацентами женщин с умеренной преэклампсией (8,8%) и плацентами нормотензивных женщин (40,6%; $p < 0,001$). Значительно выше была экспрессия сосудистого эндотелиального фактора роста VEGF: в 32%, 17,6% и 14,9% ($p < 0,05$) в плацентах женщин с тяжелой или умеренной преэклампсией и в контрольных группах, соответственно [184]. Достоверно выше была экспрессия индуцируемого гипоксией фактора HIF-1 α : в 15%, 10,8% и 5,0% плацент женщин с тяжелой или умеренной преэклампсией, и в контрольных группах, соответственно ($p < 0,05$) [55, 79]. По мнению ряда зарубежных авторов, особое внимание уделяется не только HIF-1 α , но и его взаимосвязи с трансформирующим

фактором роста (TGF)- β , который представляет собой многофункциональный цитокин, участвующий в регуляции инвазии, пролиферации и дифференцировки трофобластов. Накопленные данные свидетельствуют о том, что TGF- β может быть вовлечен в патогенез ПЭ, возможно, путем активации пути эндотелиальных клеток или регуляции системного воспаления. Описаны четыре изоформы TGF- β : TGF- β 1, 2, 3 и 4. Было показано, начиная с 1938 года, что цитокин TGF- β 1 ассоциируется с широким спектром патофизиологических процессов. Кодированная область гена TGF- β 1 расположена на хромосоме 19q13 и содержит семь экзонов и шесть интронов. Полиморфизм 869 T>C связан с риском развития ПЭ, что подтверждает генетическую теорию ее развития. Средний уровень TGF- β 1 в плазме крови варьирует от 18 пг/мл до 20,3 нг/мл у женщин с нормальной беременностью. Такая изменчивость может быть связана с различиями в процедурах обработки образцов крови, в наборах анализа TGF- β 1, а также в характеристиках пациенток. Тромбоциты являются богатым источником TGF- β 1, и дегрануляция тромбоцитов может произойти во время подготовки плазмы, что приводит к переоценке уровня TGF в плазме. Было также показано, что уровень TGF- β в третьем триместре беременности в плазме крови значительно выше у пациентов с ПЭ по сравнению с контрольной группой [69]. Интересно, что повышенная экспрессия и активность циклооксигеназы-2 (COX-2) обнаружена в трофобластах у женщин с преэклампсией по сравнению со здоровыми беременными женщинами. Было показано, что простагландин E₂, продуцирование которого инициируется COX-2 и трансформирующий фактор роста - β 1(TGF- β 1), ингибируют инвазию клеток трофобластов человека. Применение ингибитора рецептора TGF- β типа I SB431542 отменяет стимулирующие эффекты TGF- β 1 на экспрессию COX-2 [70]. TGF- β 1 активирует экспрессию COX-2, активируя сигнализацию SMAD2 / 3-SMAD4, а увеличение уровня COX-2 впоследствии способствует подавлению инвазии клеток трофобластов человека с помощью TGF- β 1 [99]. Концентрации TNF- α , TGF- β 1, sFlt-1 и Eng в гомогенатах плаценты значительно выше у женщин с ранней преэклампсией, чем у женщин с поздней преэклампсией и

нормотензивной беременностью, что является ценным для понимания различного патогенеза и этиологии этих двух форм ПЭ. Процент повышенного отложения фибрина значительно выше в плацентах при ранней преэклампсии, чем при поздней ее форме. Избыточное осаждение фибрина в сочетании с гипоксией-ассоциированным апоптозом и некрозом синцитиотрофобластов может играть роль в развитии тяжелых осложнений при преэклампсии [158]. Однако, стоит учитывать, что степень тяжести клинических проявлений, основанная только на показаниях кровяного давления, может плохо коррелировать с тяжестью функционального и морфологического повреждения эндотелия при преэклампсии [186]. Поэтому принятие клинических решений, основанных на тяжести только одного кровяного давления, особенно в отношении прекращения беременности, не всегда может быть оправданным. Это подтверждает необходимость биохимического мониторинга наряду с клиническими особенностями в лечении преэклампсии [105].

Но особая роль исследователей в последнее время уделяется именно 3 изоформе трансформирующего фактора роста β , предполагается, что именно она ответственна за ингибирование инвазивной способности трофобласта. Наряду с этим происходит видоизменение клеток трофобласта за счет sFlt1 и sEng. Данные процессы приводят к длительной ишемии и гипоксии в образующейся плаценте, что способствует постоянной экспрессии HIF-1 α (в норме при кратковременной активации HIF-1 α выполняет защитную функцию клеток в условиях гипоксии). При преэклампсии хроническая плацентарная гипоксия и воздействие провоспалительных цитокинов могут приводить к увеличению высвобождения активина A и ингибина A, которые относятся к суперсемейству трансформирующего фактора роста β (TGF- β). Уровни сыворотки активина A и ингибина A значительно повышаются еще до наступления преэклампсии и могут быть эндокринными маркерами, позволяющими прогнозировать развитие преэклампсии [92, 105, 186].

Эндотелиальная дисфункция и хроническая гипоксия в плаценте приводят к высвобождению воспалительных факторов, воздействие провоспалительных

цитокинов может, в свою очередь, увеличивать уровни активина А и ингибина А в сыворотке. Уровни активина А и ингибина А в сыворотке были не только увеличены при преэклампсии, но самые высокие значения были при тяжелой преэклампсии и ранней преэклампсии, при которых эндотелиальная дисфункция выражена в большей степени [92]. Ряд независимых исследований подтверждает данную гипотезу, так, например, sEng обладает антиангиогенными свойствами, он предотвращает связывание TGF- β с его рецепторами и тем самым нарушает сосудорасширение [18, 99]. Уровни sEng значительно выше у женщин с преэклампсией, чем у женщин с гестационной артериальной гипертензией или нормотензивной беременностью. Было подтверждено, что sEng ингибирует образование капиллярных трубок *in vitro* и индуцирует сосудистую проницаемость и гипертензию *in vivo* [64, 209]. TGF- β способствует пролиферации эндотелиальных клеток в определенном диапазоне концентраций, но может оказывать прямо противоположные эффекты при более высокой концентрации, что приводит к различным степеням повреждения эндотелиальных клеток. TGF- β является бифункциональным цитокином, регулирующим рост клеток, который сильно ингибирует рост большинства мезенхимальных клеток, почти всех эпителиальных клеток, лимфоцитов и эндотелиальных клеток [131]. В качестве растворимого рецептора TGF- β sEng приводит к повреждению и дисфункции сосудистого эндотелия, влияя на пути передачи сигналов TGF- β [132]. sEng и TGF- β были тесно связаны с повреждением эндотелиальных клеток и аномалиями пролиферации трофобластов и их инфильтрацией *in vitro*. sEng и TGF- β влияют на пролиферацию трофобластов на ранней стадии беременности, регулируя клеточный цикл и синергически влияя на их инфильтрацию, регулируя экспрессию мРНК, MMP-2 (матриксная металлопротеиназа 2) и MMP-9 (матриксная металлопротеиназа 9). Как только два фактора были несбалансированы (в частности, в избытке), нормальная инфильтрация трофобласта в миометрий может быть нарушена, что приводит к недостаточной плацентарной инвазии [211].

Общеизвестно, что на развитие плаценты оказывает сильное влияние напряжение кислорода (O_2). Человеческие цитотрофобласты пролиферируют *in vitro* в условиях низкого O_2 , но дифференцируются при более высоких уровнях O_2 . Гипоксия-индуцируемый фактор-1 (HIF-1 α) активирует многие гены, вовлеченные в клеточный ответ на O_2 депривацию. Гипоксия способствует дифференцировке *in vitro* стволовых клеток трофобласта в спонгиозотрофобласты, HIF-1 α необходим для плацентации млекопитающих. Среда внутри развивающегося эмбриона представляет собой «физиологическую» гипоксию, которая активирует HIF-1 α и приводит к правильному развитию плаценты, сердечно-сосудистой системы и кроветворению (Malterre и Simon, 1998). Таким образом, O_2 действует не только как терминальный акцептор электронов в митохондриальном окислительном фосфорилировании, но также как сигнал, ответственный за активацию фактора транскрипции. Следовательно, образование градиентов O_2 в развивающихся эмбрионах активирует экспрессию гипоксических генов в зависимости от дозы [205]. Было показано также, что экспрессия мРНК TGF- β 3 коррелировала с уровнями белка HIF-1 α (рисунок 1).

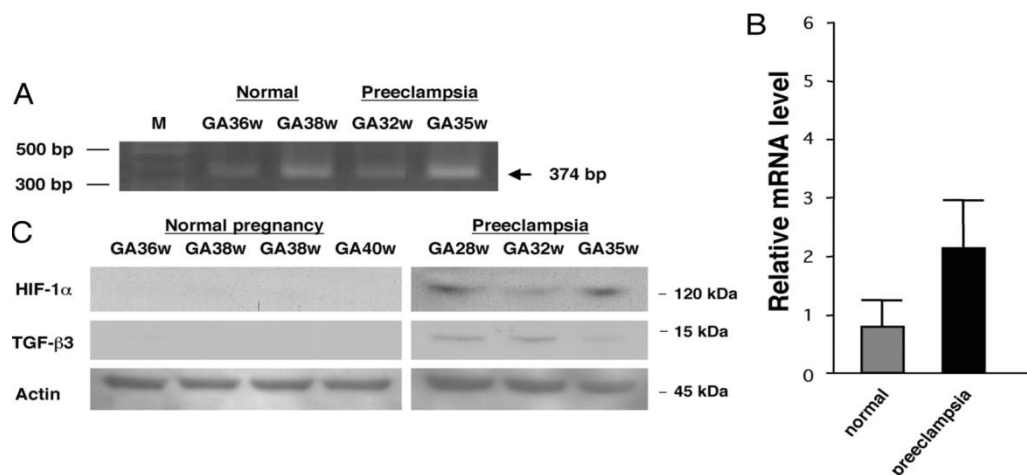


Рисунок 1. Экспрессия мРНК HIF-1 α , TGF- β 3 в плаценте. А - типичная экспрессия мРНК TGF- β 3 в плаценте. В - Относительный уровень мРНК TGF- β 3 при ОТ-ПЦР в реальном времени. С - репрезентативная экспрессия белка HIF-1 α , TGF- β 3 и актина вестерн-блоттингом в плацентах [111].

Кроме того, уровень TGF- β 3 также был повышен в условиях гипоксии, что было определено с помощью анализа ОТ-ПЦР в реальном времени. В условиях гипоксии HIF-1 α может играть доминирующую роль в регуляции активности промотора TGF- β 3. Взятые вместе, эти данные убедительно указывают на то, что вызванная гипоксией экспрессия TGF- β 3 обусловлена повышенной активностью HIF-1 α на промоторе TGF- β 3 [111]. В последнее время большое внимание уделяется изучению перекисного окисления липидов - окислительному повреждению липидов и увеличению образования перекисей липидов, конечным продуктом которого является малоновый диальдегид (MDA) [71, 93, 191]. В настоящее время, малоновый диальдегид (MDA) используется во многих экспертных исследованиях в качестве маркера окислительного стресса, т. е. для оценки перекисного окисления липидов [33, 153, 181]. Вышеизложенное подтверждается исследованиями других зарубежных авторов. Так, Draganovic D. et al. [83] также установили, что у беременных женщин с индуцированной беременностью гипертензией имеется чрезвычайно повышенный уровень окислительного стресса и перекисного окисления липидов. Значения TBARS (побочных продуктов перекисного окисления липидов, таких как малоновый диальдегид) находятся в положительной корреляции со значениями артериального давления, соответственно, наибольшее значение TBARS наблюдается у беременных женщин с высокими значениями артериального давления. Это дает право полагать, что TBARS могут быть использованы как маркер тяжести преэклампсии, что будет обуславливать тактику дальнейшего ведения таких пациенток, после получения результатов углубленных исследований. Выработка активных форм кислорода (АФК) - побочных продуктов аэробного энергетического метаболизма поддерживается на физиологическом уровне активности при помощи антиоксидантных веществ. Дисбаланс между антиоксидантами и АФК при окислительном стрессе характеризуется измененной функцией митохондрий, снижением активности белков, повреждением нуклеиновых кислот и индукции апоптоза. Чрезмерная выработка АФК индуцирует процесс аутофагии. На ранних сроках беременности

индукция аутофагии сохраняет функцию трофобласта в условиях низкого содержания кислорода и питательной плацентарной окружающей среде. Несоответствующее регулирование оси аутофагии АФК приводит к неправильной деятельности аутофагии и способствует развитию преэклампсии и задержке внутриутробного развития плода [171].

На сегодняшний день роль оксидативного стресса в развитии ПЭ активно изучается. Полученные результаты показывают, что он играет значительную роль в развитии преэклампсии т.к. вызывает повреждение эндотелия сосудов, а соответственно васкуляризации плаценты, вызывая, кроме того, иммунный ответ организма [25, 63, 123, 162]. Известно также, что при преэклампсии происходит нарушение в системе образования оксида азота (NO).

Особую роль ряд исследователей уделяет нейтрофилам и тромбоцитам. Традиционно полиморфноядерные нейтрофилы (PMNs) рассматриваются как короткоживущие, высокодифференцированные гранулоцитарные лейкоциты, характеризующиеся наличием сегментированного ядра и различных наборов цитоплазматических гранул. Кроме основной общеизвестной функции – участие в борьбе с возбудителями различных заболеваний, они участвуют в развитии системного воспаления при преэклампсии, системной красной волчанке, атифосфолипидном синдроме, мигрируя в стенки сосудов и ткани. Миграция нейтрофилов в ткани включает следующие этапы: привязывание, скатывание, адгезия, ползание и трансмиграция. Данный процесс инициируется стимуляцией эндотелия другими активированными лейкоцитами или бактериальными антигенами. Активированный эндотелий экспрессирует высокие уровни молекулы внутриклеточной адгезии-1 (ICAM-1), молекулы-адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM-1), а также P- и E-селектинов на своей поверхности [71, 191]. Рекрутирование нейтрофилов в основном обусловлено связыванием гликопротеинового лиганда 1 (PSGL1) P-селектина, ESL1, CD44 и L-селектина [93,134]. Адгезия нейтрофилов может быть облегчена путем активации провоспалительными цитокинами, хемоаттрактантами или факторами роста. Кроме того, адгезию нейтрофилов к эндотелию обеспечивает

взаимодействие хемокинов с гепарансульфатами эндотелиальных клеток. Нейтрофилы экспрессируют высокие уровни интегринов CD11a-CD18 (LFA1/антиген 1, связанный с функцией лимфоцитов) и CD11b-CD18 (антиген MAC1 / Macrophage-1), которые связываются с молекулами поверхности эндотелиальных клеток, такими как молекулы внутриклеточной адгезии 1 и 2 (ICAM1 и ICAM-2) [206, 154]. Трансмиграция нейтрофилов требует интегринов и молекул клеточной адгезии (CAMs), таких как ICAM1, ICAM2 и VCAM1, а также молекулы 1 адгезии тромбоцитарных эндотелиальных клеток (PECAM1, также называемой CD31), CD99, молекул соединительной адгезии (JAMs), молекулы адгезии эпителиальных клеток (ECAM) и других молекул эндотелиальных клеток [203]. Трансмиграция происходит между (парацеллюлярно) или через (трансцеллюлярно) эндотелиальными клетками, и для прохождения через мембраны нейтрофилы высвобождают специфические протеазы, такие как матриксные металлопротеиназы (MMP) и сериновые протеазы (рисунок 2).

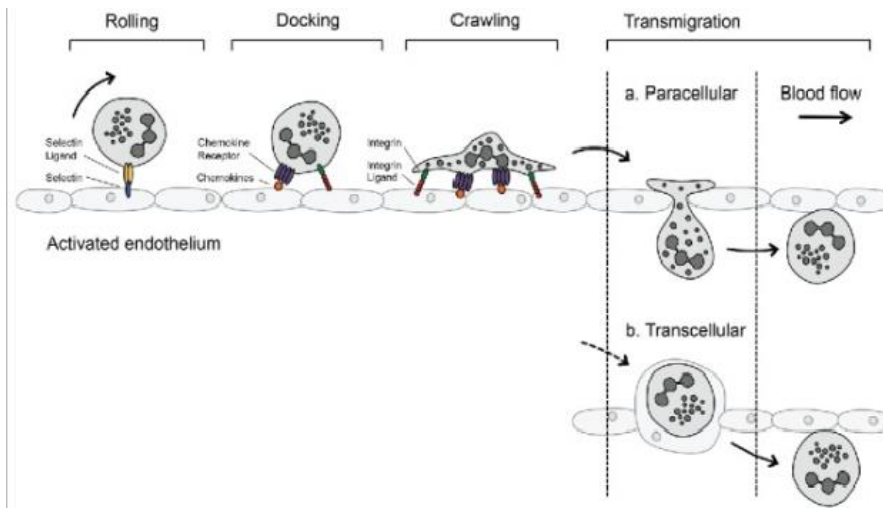


Рисунок 2. Последовательные этапы рекрутирования нейтрофилов из сосудистой системы в ткань. Описаны два возможных механизма трансмиграции: (а) параклеточный - между эндотелиальными клетками; и (б) трансклеточные - через эндотелиальные клетки [154].

Эти ферменты способны влиять на миграцию нейтрофилов за счет расщепления молекул эластина и коллагена, тем самым увеличивая проницаемость сосудов [59, 207]. Интересно, что эти белки находятся под

гормональной регуляцией во время беременности [73]. С другой стороны, нейтрофилы способны привлекать другие нейтрофилы посредством экспрессии интерлейкина-17 (IL-17), который индуцирует высвобождение хемокинов и цитокинов, таких как интерлейкин-6 (IL-6) и воспалительный белок макрофагов - 2 (MIP-2) другими клетками, которые рекрутируют нейтрофилы [74].

В недавнем исследовании, Amsalem и его коллеги исследовали лейкоциты в децидуальной ткани соответствующих образцов крови [20]. Их данные свидетельствуют о значительном увеличении нейтрофилов CD45 + и CD15 +, мигрирующих в децидуальную оболочку в период от 6 до 20 недель беременности. Высокие уровни экспрессии CD66b дополнительно характеризовали эти тип полиморфноядерных нейтрофилов. CD66b, также называемый карциноэмбриональной антиген-связанной молекулой клеточной адгезии 8 (CEACAM8), специфически экспрессируется на нейтрофилах и эозинофилах. Он играет важную роль в адгезии и активации.

Тромбоциты участвуют не только в тромбообразовании, но и оказывают выраженное влияние на различные клетки организма, в том числе - на кровяные. Тромбоциты подвержены активации (праймированию) с помощью различных перекрестных агентов наряду с нейтрофилами, что обуславливает взаимодействие этих двух типов клеток периферической крови для потенцирования иммунного ответа и возникновение различных воспалительных реакций. Взаимодействие тромбоцитов с нейтрофилами необходимо для стимуляции активности нейтрофилов, которое осуществляется путем экспрессии молекул адгезии (E-адгезин) на тромбоците и наоборот. Данные комплексы проникают (инфильтрируют) эндотелиальные клетки сосудов, что приводит к внутриклеточному нарушению обмена кальция в ионных каналах, приводящее к его накоплению внутри цитоплазмы, потенцированию и длительному, устойчивому сокращению гладкомышечных клеток сосудов. Наряду с этим процессом нарушается выработка NO (оксид азота) эндотелиальными клетками, что может лежать в основе развития артериальной гипертензии при преэклампсии [154].

При повреждении сосудов или после активации эндотелия в условиях воспаления тромбоциты адгезируются к субэндотелиальным молекулам, таким как фактор коллагена или фон Виллебранда (vWF), что вызывает их начальную активацию, характеризующуюся высвобождением растворимых медиаторов из гранул в их цитоплазме, таких как аденозиндифосфат (ADP) и тромбоксан A_2 (ТХА₂). Эти молекулы действуют как активаторы тромбоцитов, усиливая активацию клеток аутокринным способом и активируя другие циркулирующие тромбоциты, способствуя образованию агрегатов. В норме данный процесс необходим для образования тромбина и в последующем тромба, который восстанавливает поврежденный сосуд.

Внеклеточные ловушки нейтрофилов (NETs) возникают в результате одного из механизмов клеточной гибели, NETosis. Данный процесс заключается в высвобождении нитей ДНК, на которых адгезированы все пять типов гистонов и гранулированные протеиназы нейтрофилов с антимикробной активностью (такими как эластаза, миелопероксидаза (MPO)). Несмотря на то, что данные «ловушки» необходимы в качестве противомикробных агентов при врожденном иммунном ответе, они являются цитотоксичными и инициируют повреждение тканей. Существует ряд доказательств, указывающих на то, что способность тромбоцитов функционировать как врожденные иммунные клетки имеет решающее значение для процесса формирования NET. В норме основная функция сетей (NET) заключается в устранении патогенных микроорганизмов. В настоящее время известно, что не только бактериальные агенты, а также цитокины, хемокины, агонисты тромбоцитов и антитела [60, 89, 127, 137, 169] инициируют процесс нетоза. В зависимости от внутрисосудистого и внесосудистого расположения нейтрофилов при их стимуляции, образование ловушек может происходить как в интерстиции органов, так и внутри сосудов, где они прикрепляются к эндотелиальным клеткам узких капилляров.

NETosis инициируется активацией пептидиларгининдеиминазы 4 (PAD4), которая вызывает цитрулинирование гистонов 3 и 4, разрушая нуклеосому [124, 177]. Кроме того, активация путей протеинкиназы C и ядерного фактора каппа B

(NFκB) и передачи сигналов RAF / MEK / ERK [20] приводит к фосфорилированию нескольких киназ, что приводит к сборке функционального никотинамид-аденин-динуклеотид-фосфата (NADPH) оксидазный комплекс для генерации активных форм кислорода (АФК) [84]. АФК запускают диссоциацию нейтрофильной эластазы из мембраносвязанного комплекса в цитозоль и активируют его протеолитическую активность. Попад в цитоплазму клетки, эластаза связывает актин и данный комплекс перемещается в ядро, где вызывает деконденсацию хроматина путем расщепления гистонов. После распада ядерной оболочки и разрыва цитоплазматической мембраны высвобождаются NET [34, 97]. Кроме того, последние данные также показали, что активация калиевых каналов SK3, опосредованная повышенным уровнем кальция, может привести к альтернативному NADPH-оксидазо-независимому механизму NETosis [114].

Участие тромбоцитов в формировании нейтрофильных экстрацеллюлярных ловушек впервые было описано в 2007 году, когда группа исследователей показали на модели сепсиса, что подавление активации тромбоцитов с помощью ингибиторов TLR4, таких как эриторан, снижает образование NET и уменьшает опосредованное ими повреждение тканей. Открытие факта, что активация TLR4 на тромбоцитах способствует их связыванию с нейтрофилами и в дальнейшем нетозу, явилось значительным сдвигом в понимании процессов воспаления как при сепсисе. В дальнейшем при изучении было показано, что те же процессы происходят в условиях не только бактериального и вирусного, но также и в условиях стерильного воспаления. К индукции образования NET приводит активация тромбоцитов тромбином, арахидоновой кислотой, коллагеном или АДФ [32].

Взаимодействие тромбоцитов с нейтрофилами происходит главным образом благодаря связыванию Р-селектина с его рецептором Р-селектина гликопротеин-лиганд-1 (PSGL-1) на поверхности лейкоцитов [196]. Ряд других авторов показали, что у людей образование NET, опосредованное тромбоцитами, представляет собой Р-селектин-независимый механизм, поскольку его блокада не изменяет высвобождение ДНК и инкубация нейтрофилов с рекомбинантным Р-

селектином не вызывает нетоз [60, 137]. Тромбоцитарный TLR4, по-видимому, является основной мишенью, вовлеченной в опосредованный тромбоцитами NETosis.

Нейтрофилы и тромбоциты активируются перекрестными агентами и одновременно активируют друг друга (рисунок 3). Активированные тромбоциты экспрессируют или секретируют различные молекулы, способные модулировать активацию нейтрофилов. HMGB1, растворимый или присутствующий в активированных тромбоцитах, вызывает аутофагию в нейтрофилах, способствуя NETosis и подавляя апоптоз (рисунок 4). Следует отметить, что индукция NET по HMGB1 не зависит от TLR4; таким образом, ось HMGB1-рецептор для конечных продуктов позднего гликирования (RAGE) представляет собой потенциальную мишень для контроля образования NET в стерильных воспалительных условиях [60]. Способствует образованию NET и PF4 фактор тромбоцитов, что было подтверждено путем его ингибирования [137]. Авторы также показали, что инкубация человеческих тромбоцитов с антителами против vWF подавляет образование NET. Предварительная обработка нейтрофилов селективным антагонистом рецептора тромбоксана (SQ29548) перед добавлением тромбоцитов, активируемых рецептором тромбинового рецептора (TRAP), снижала продукцию NET [96].

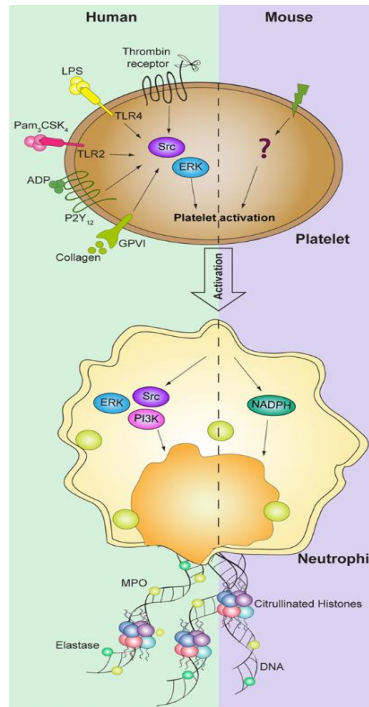


Рисунок 3. Сигнальные пути, вовлеченные в опосредованное тромбоцитами формирование NET [72].

Тромбоциты модулируют респираторный взрыв в лейкоцитах, выделение активных форм кислорода (АФК) и миелопероксидазы (МПО) [72, 83]. Тромбоцитарный sCD40L стимулируют выработку нейтрофилами АФК [150] и тромбоцитарный HMGB1 запускают транслокацию МПО на клеточную мембрану [44, 119].

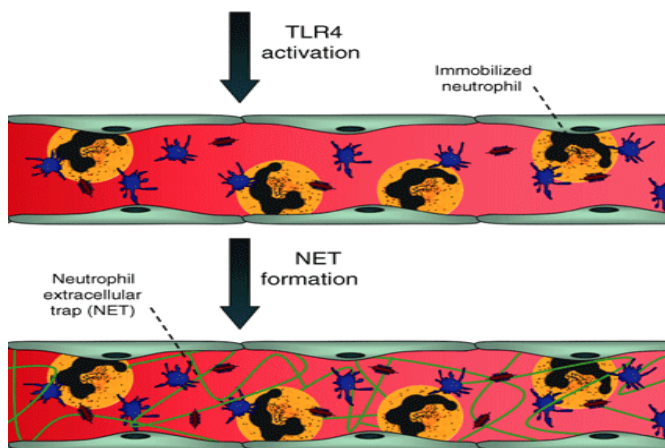


Рисунок 4. Формирование NET ловушек [119].

Стоит принять во внимание, что на сегодняшний день широкое распространение получила двухступенчатая модель преэклампсии Рэдмана. Первый этап – нарушение в процессе плацентации, происходящее в начале беременности, без клинических признаков расстройства. Следует отметить, что в это время доплеровский анализ сигналов скорости потока в маточных артериях отражает патологические изменения спиральных артерий и идентифицируют группу беременностей с высоким риском развития преимущественно ранней преэклампсии (< 34 недели) [196]. Второй этап обусловлен развитием системного воспалительного ответа организма и проявляется клиническими признаками. В патогенезе развития преэклампсии первостепенное значение играет нарушение взаимодействия между децидуальными иммунными клетками и отцовскими антигенами, экспрессируемыми клетками трофобласта. Предполагается, что при физиологическом распознавании трофобласта стимулированные децидуальные натуральные киллеры и Т-лимфоциты вырабатывают цитокины и факторы роста, которые способствуют «глубокой» плацентации. Недостаточность вышеуказанного распознавания приводит к нарушению плацентации, что лежит в основе развития преэклампсии. В результате этого недостаточно трансформированные спиральные артерии способствуют возникновению ишемии в тканях децидуальной оболочки, гипоксии децидуальных клеток и как следствие манифестации окислительного стресса. Сниженная окислительная активность является неотъемлемой частью нормального воспалительного ответа. При ПЭ интенсивная окислительная активность преобладает над антиоксидантной защитой. В результате этого возникает окислительный стресс, что вызывает биохимические нарушения внутри клеток и в межклеточном пространстве [125]. В системный воспалительный ответ могут быть задействованы как иммунные, так и неиммунные клетки, система свертывания крови и система комплимента. Связь между различными компонентами системного воспалительного ответа осуществляется большим количеством секретируемых белков, таких как цитокины, хемокины и ростовые факторы [57]. Генерализованный вазоспазм с гиповолемией и гипоперфузией органов и как следствием гипоперфузией

маточно-плацентарного кровотока является патофизиологической доминантой [59, 176].

В соответствии с вышеизложенным, предполагается, что индуцированная беременностью, гипертензия - это состояние с чрезвычайно повышенным окислительным стрессом, что подтверждает целесообразность проводимых исследований в этой области [33].

1.3. Диагностика и профилактика

Как известно, критериями диагностики АГ (артериальной гипертензии) по определению американского колледжа акушеров-гинекологов при беременности являются: систолическое АД > 140 мм рт. ст. и/или диастолическое АД > 90 мм рт. ст. [153, 181]. Диагностировать АГ во время беременности следует на основании, по крайней мере, двух повышенных значений АД. В сомнительной ситуации желательно проведение суточного мониторирования АД (СМАД). АД 140/90 мм рт. ст. считается пограничным, и указывает на необходимость тщательного наблюдения за состоянием матери и плода.

Золотой стандарт для диагностики протеинурии - количественное определение белка в суточной порции мочи. Нормальное значение протеинурии 0,3 г/л. Клинически выделяют умеренную, тяжелую преэклампсию и преэклампсию на фоне ХАГ: умеренная преэклампсия характеризуется развитием артериальной гипертензии: САД > 140 мм рт. ст. или ДАД > 90 мм рт. ст., возникшей при сроке беременности > 20 недель у женщины с нормальным АД в анамнезе плюс и протеинурией > 0,3 г/л белка в 24 час пробе мочи. Тяжелая преэклампсия (наличие симптомов умеренной ПЭ и > 1 из следующих критериев) характеризуется возникновением артериальной гипертензии: САД > 160 мм рт. ст. или ДАД > 110 мм рт. ст. при двукратном измерении с интервалом в 6 часов в состоянии покоя и протеинурией > 5,0 г/л в 24 час пробе мочи или > 3 г/л в двух порциях мочи, взятой с интервалом в 6 часов, или значение «3+» по тест-полоске, развитием олигурии < 500 мл за 24 часа, церебральными или зрительными симптомами (головная боль, мелькание мушек и т.д.), отеком легких, цианозом, возникновением болей в эпигастрии или правом верхнем квадранте живота,

нарушением функции печени по данным лабораторных показателей (повышение АлАТ, АсАТ), тромбоцитопенией ($< 100 \times 10^6 /л$), сочетанием с задержкой внутриутробного развития плода.

Преэклампсия на фоне хронической АГ сопровождается наличием более 1 из следующих критериев: возникновение протеинурии $> 0,3$ г/л до 20 недель беременности, нарастанием протеинурии в случае, если в анамнезе существует гипертензия, внезапным нарастанием гипертензии у женщины, АГ у которой первоначально хорошо контролировалась, тромбоцитопенией (число тромбоцитов $< 100 \times 10^9/л$), увеличением АлАТ или АсАТ. У женщин с хронической АГ, у которых развилась головная боль, дефект поля зрения или боль в эпигастрии, также могут быть отнесены в группу тяжелой ПЭ на фоне хронической АГ [153]. Диагноз тяжелой преэклампсии устанавливается при наличии: двух основных критериев тяжелой степени (АГ и протеинурия) - одного основного критерия любой степени и дополнительного критерия.

Хотя массивная протеинурия уже не является важным параметром тяжелой преэклампсии, необходимо рассматривать ее связь с материнскими исходами и перинатальной смертностью при преэклампсии. Было проведено много исследований взаимосвязи между осложнениями и степенью протеинурии при преэклампсии. В нескольких исследованиях сообщалось об увеличении риска неблагоприятных материнских и эмбриональных исходов с увеличением протеинурии [149, 171]. Согласно недавним исследованиям, массивная протеинурия может быть маркером раннего развития преэклампсии, хотя она не была связана с увеличением материнской заболеваемости [25]. Другие исследования показали, что степень протеинурии является плохим предиктором развития осложнений у матери и плода [162]. У беременных с ПЭ уменьшение онкотического давления способствует переходу жидкости из внутрисосудистого русла в окружающее интерстициальное пространство. При физиологически протекающей беременности, умеренные отеки наблюдаются у 50-80% женщин. ПЭ, протекающая без генерализованных отеков, признана более опасной для матери и плода, чем ПЭ с отеками. Наличие отеков не является диагностическим

критерием ПЭ. Однако опыт показывает, что отеки лица и рук нередко предшествуют развитию ПЭ.

Хотя существует много потенциальных биомаркеров для ПЭ, их эффективность была непоследовательной, а сравнения трудны из-за неоднородности между различными исследованиями. Для преэклампсии лучшим предиктором был PLGF. Прогностическая ценность маркеров сыворотки для диагностики ранней преэклампсии была лучше, чем для диагностики поздней преэклампсии. Прогнозируемое значение всех этих факторов при объединении значительно улучшается. Допплеровский тест является неинвазивным, быстрым и легким методом оценки кровотока матки и плаценты [65]. Повышение уровня PAPP-A в материнской сыворотке наблюдалось при установленной ПЭ [152].

Интересным является подход по изучению содержания форменных элементов, который является простым и в то же время доступным диагностическим методом. Учитывая невозможность проведения ряда дорогостоящих лабораторно-диагностических процедур в стационарах особое внимание исследователей направлено на изучение простых в определении маркеров. Так, в недавних исследованиях ученые попытались оценить отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) с протеинурией и уровнем артериального давления у пациенток с преэклампсией и исследовать, играет ли NLR роль в прогнозировании тяжести преэклампсии. Во время проведения исследований было установлено, что возраст, индекс массы тела и недели гестации были одинаковыми во всех группах. NLR (отношение нейтрофилов к лимфоцитам) было достоверно выше у пациентов с преэклампсией (группы пациенток с тяжелой и умеренной преэклампсией), по сравнению с здоровыми беременными ($p < 0,05$). NLR значительно повышался в группе тяжелой преэклампсии по сравнению с умеренной ($p < 0,05$). Была определена значительная положительная корреляция между NLR и протеинурией ($p < 0,05$) и между NLR и систолическим / диастолическим артериальным давлением. В заключение авторы отмечают, что NLR может быть использован для классификации тяжести преэклампсии [45]. В ряде работ зарубежных исследователей была изучена корреляция форменных

элементов крови при ПЭ, однако, их результаты также остаются противоречивы. Так Gogoi P et al. показали в своем исследовании, что (NLR), (PLR) и (MPV) были значимо выше у женщин с ПЭ [152], что согласуется с данными Kim MA et al., в исследовании которых уровень (MPV) был выше у женщин с тяжелой ПЭ. Однако, (PLR) было значимо ниже только у женщин с умеренной ПЭ, при этом статистических различий между группами умеренной и тяжелой ПЭ [41] по данным показателям не наблюдалось. Следует также отметить, что (MPV) увеличивался по мере прогрессирования тяжести ПЭ [185] и может являться полезным клиническим маркером в прогнозировании тяжести ПЭ [30,164]. Однако ряд авторов Yavuzcan et al. считают, что (MPV), (PLR) и (NLR) не могут быть использованы в качестве предикторов тяжести ПЭ в виду того, что уровень (MPV) не различался у пациентов с тяжелой формой ПЭ [28, 47, 143, 189], здоровых беременных и небеременных женщин [17, 88]. В недавнем исследовании 2018 года было показано, что показатели (MPV), (PDW), и (NLR) повышаются по мере развития ПЭ, в то время как абсолютное количество лимфоцитов и тромбоцитов значительно ниже в группе ПЭ [15, 17, 139, 165, 180, 185]. Также стоит отметить, что среднее количество тромбоцитов и средний PCT значительно уменьшаются, в то время как средний MPV и средний PDW значительно возрастают с увеличением тяжести преэклампсии. Кроме того, преэклампсия на 66,7% и эклампсия на 54,1% были нетромбоцитопеническими. У женщин с преэклампсией уменьшение тромбоцита (PCT) и увеличение PDW было отмечено в более высоком количестве случаев. Таким образом предполагается, что эти два индекса оценки тромбоцитов крови могут стать новым маркером для оценки неблагоприятного исхода преэклампсии, включая женщин с нормальным количеством тромбоцитов в крови [172]. В ряде работ была изучена корреляция форменных элементов крови при ПЭ, однако, их результаты также остаются противоречивы.

Для клинициста важно определение группы риска развития ПЭ среди женщин. Преэклампсия прежде всего рассматривается как болезнь первой беременности, хотя профилактический эффект повторнородящих, как указано в

литературе, теряется с изменением партнера [61]. Защитный эффект предыдущей беременности с одним и тем же партнером зависит от интергравидарного промежутка [87, 110]. Эти данные, полученные более чем от 1,8 млн. женщин около 31 года, показали, что, когда интервал между рождением детей составлял более 10 лет, повторнородящая женщина имела одинаковый риск развития преэклампсии по сравнению с первородящей женщиной. Систематический обзор > 1000 контролируемых исследований, опубликованных с 1966 по 2002 год, показал, что наличие в анамнезе преэклампсии, многоплодная беременность, первая беременность у женщины, ранее существовавший диабет, высокий ИМТ до беременности, материнский возраст ≥ 40 лет, заболевания почек, гипертония, интергравидарный промежуток ≥ 10 лет и наличие антифосфолипидных антител увеличивали риск развития преэклампсии [120]. Риск развития преэклампсии увеличивается более чем в девять раз, в семь раз и три раза, соответственно, при наличии антифосфолипидного синдрома, преэклампсии в анамнезе и сахарного диабета. Другими факторами риска преэклампсии являются резистентность к инсулину в сочетании с ожирением [213].

Точная роль генетических факторов в развитии преэклампсии не ясна, и никаких конкретных генов не было выявлено. Картина наследования заболевания была описана как менделевская (аутосомно-рецессивный и аутосомный доминантный тип с неполной пенетрантностью), полигенная / многофакторная и митохондриальная. Небольшие исследования [147, 148] указывали на ассоциацию между преэклампсией и полиморфизмами генов, которые контролируют кровяное давление, коагуляцию или кислородно-радикальный метаболизм – такие как ренин, ангиотензиноген, эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS).

Анализ связей выявил три потенциальных локуса, связанных с восприимчивостью к преэклампсии: 2p13, 2p25 и 9p13. Четвертый локус для преэклампсии был впоследствии идентифицирован на 10q22. В многофакторном анализе избыточный вес у матери связан с повышенным риском гестационной артериальной гипертензии и преэклампсии. Ожирение также увеличивало риск

гестационной артериальной гипертензии, хронической гипертензии и преэклампсии.

Учитывая, что при ПЭ наблюдается дефицит как ферментативных [183], так и неферментативных антиоксидантов у женщин [202], питательные вещества могут влиять на окислительный стресс путем увеличения или уменьшения свободных радикалов или антиоксидантов, путем создания субстрата для образования свободных радикалов [170]. Данные свидетельствуют о том, что при очень низком потреблении витамина С, Е, селена и цинка при беременности наблюдается повышенный риск возникновения ПЭ [21]. Питательные вещества могут влиять на окислительный стресс путем увеличения или уменьшения свободных радикалов или антиоксидантов, путем создания субстрата для образования свободных радикалов [42].

Учитывая вышеизложенное, с целью выявления группы риска развития ПЭ, перспективным является изучение всех звеньев патогенеза ПЭ, а в частности оксидативного стресса и новых механизмов его развития, что является, безусловно, актуальным направлением исследований.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал исследования

Настоящее исследование выполнялось с сентября 2016 по май 2019 года в акушерском отделении (заведующий – д.м.н. Н.Е. Кан) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России. Для выполнения поставленных целей и задач работы требовалось привлечение различных подразделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России, обладающих необходимым техническим оснащением, отвечающим требованиям последних достижений науки.

Специальные методы исследования проводились в лаборатории клинической иммунологии (руководитель – д.м.н. Кречетова Л.В.) ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова» Минздрава России (директор – академик РАН, профессор Г.Т. Сухих), на базе лаборатории экстремальных состояний (руководитель – д.б.н. Асташкин Е.И.) ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (ректор - академик РАН, профессор П.В. Глыбочко), институте биофизики клетки Российской академии наук (г. Пущино) (директор – д.б.н. Моренков Олег Сергеевич).

Выполнение поставленных целей и задач настоящей работы требовало использование различных комплексных подходов для полного клинико-лабораторного обследования и наблюдения за беременными, включенными в исследование.

Данное научное исследование носило характер одномоментного поперечного исследования.

На 1 этапе работы в исследование было включено 250 историй родов женщин, поступивших и родоразрешенных в ФГБУ «Национальный медицинский

исследовательский центр имени В.И. Кулакова» Минздрава России в период с сентября 2016 по май 2019 года. Было отобрано 60 пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией и 155 женщин с физиологически протекавшей беременностью.

Клинико-лабораторное обследование пациенток проводилось в полном объеме согласно приказу Минздрава РФ от 01.11.2012 N 572н. - Порядок оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". Пациентки были отобраны согласно принятым ранее критериям включения, которыми являлись одноплодная беременность, родоразрешение на сроке гестации с 25 недель до 40 недель и 6 дней, наличие диагностированной преэклампсии в основной группе. Критериями исключения являлись: тяжелая экстрагенитальная патология, многоплодная беременность, наступление беременности с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, несовместимые с жизнью пороки развития плода, острые инфекционно-воспалительные заболевания матери, обострение хронических соматических и гинекологических заболеваний в период родоразрешения.

Пациентки, включенные в исследование, были разделены на 2 группы: первую группу составили 60 женщин с преэклампсией (ПЭ), вторую группу - 155 условно здоровых беременных с неотягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом и физиологическим течением данной беременности. Женщины первой группы были разделены на Ia подгруппу-ранняя ПЭ (n=35), с манифестацией до 34 недели гестации и Ib- поздняя ПЭ (n=25).

Группы обследуемых женщин были сопоставимы по возрасту, паритету, клинической характеристике. Были собраны анамнестические данные, включавшие возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, проводимое лечение в основной группе, перинатальные исходы.

Был проведен корреляционный анализ анамнестических данных пациенток с развитием ПЭ для выявления факторов риска. С этой целью были проанализированы данные анамнеза, паритет, соматический и гинекологический статус беременных, течение и исходы данной беременности.

На 2 этапе работы проводилось исследование спонтанного и индуцированного стандартными стимуляторами образования радикалов кислорода у женщин с беременностью в сроке от 25 до 40 недель 6 дней, осложнившейся развитием ПЭ (ранней и поздней).

На 3 этапе работы проводилось определение концентрации изоформ TGF β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) в плазме периферической крови у 50 беременных в сроках от 25 до 40 недель 6 дней беременности.

Для определения концентрации изоформ TGF β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) были использованы образцы периферической венозной крови женщин перед родоразрешением. Забор крови осуществлялся в вакутейнеры с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Для получения плазмы крови цельную кровь дважды центрифугировали по 10 минут при 1500 оборотов в минуту, а затем замораживали и хранили до проведения анализа при температуре -80 С.

На 4 этапе работы был проведен респективный анализ клинического анализа крови беременных с целью изучения содержания нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношения тромбоцитов к лимфоцитам (TLR), среднего объема тромбоцитов (MPV), анизоцитоза тромбоцитов (PDW) в клиническом анализе крови женщин с преэклампсией и женщин с физиологическим течением беременности.

Критерии включения и невключения в одномоментном поперечном исследовании были аналогичны:

Критерии включения беременных в группы исследования:

1. Беременные со сроком от 25 до 40 недель 6 дней.
2. Возраст беременных от 18 до 45 лет.

3. Одноплодная беременность, наступившая в естественном цикле, осложненная ПЭ.

4. Информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения:

1. Многоплодная беременность.

2. Беременность, наступившая в результате вспомогательных репродуктивных технологий.

3. Острые и хронические воспалительные заболевания.

4. Тяжелая экстрагенитальная патология.

5. Гестационная артериальная гипертензия.

6. Врожденные пороки плода

Группы обследуемых женщин были сопоставимы по возрасту, паритету, клинической характеристике. Были собраны анамнестические данные, включавшие возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, проводимое лечение в основной группе, перинатальные исходы.

Все пациентки подписали информированное согласие на участие в данном исследовании, которое было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ АГП им В.И. Кулакова» Минздрава России.

Автором лично был проведен ретроспективный анализ данных историй родов пациенток, ведение беременных в условиях стационара и амбулаторное наблюдение, мониторинг данных клинико-лабораторного обследования пациенток, включенных в исследование. Автор лично участвовал в сборе и статистической обработке полученных данных общеклинических и специальных методов исследования.

Общеклинические и специальные методы исследования, использованные при выполнении данной работы, представлены ниже.

2.2. Методы исследования

При выполнении данной работы были использованы реактивы и аппаратура ведущих зарубежных производителей. Исследование выполнялось с помощью современных и высокоинформативных лабораторных методик.

В данной работе использовались следующие методы:

1. Общеклинические методы исследования.
2. Функциональные методы исследования:
 - Ультразвуковое исследование;
 - Допплерометрическое исследование кровотока в системе «мать-плацента-плод»;
 - Антенатальная кардиотокография;
3. Специальные методы исследования:
 - Изолирование нейтрофилов в бесцветной среде Хенкса, содержащей буфер HEPES 20 мМ, рН7,4 (1×10^6 клеток/мл).
 - Определение спонтанного и индуцированного стандартными стимуляторами образование радикалов кислорода при помощи хемилюминисценции
 - Определение концентрации трансформирующего фактора роста β (TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3) в плазме периферической крови (ЭДТА) мультиплексным методом
 - Регистрация клеточной гибели клеток методом флуоресцентной микроскопии.
4. Изучение течения раннего неонатального периода новорожденных;
5. Статистическая обработка полученных данных.

2.2.1. Общеклинические методы исследования.

Изучены данные анамнеза пациенток, включавшие возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, перинатальные исходы.

Был произведен общий осмотр пациенток, измерение веса, роста, определение ИМТ (индекс массы тела), произведена оценка состояния всех систем органов, включая сердечно-сосудистую систему, дыхательную, эндокринную, мочеполовую и пищеварительную, оценка состояния молочных желез.

Определение срока беременности и предполагаемой даты родов производилось общепринятыми методиками по дате последней менструации, сроку беременности при первой явке в женскую консультацию, сроку беременности при выполнении первого общего (ультразвукового и биохимического) скрининга.

Пациентки были осмотрены соответственно принятым общим методом обследования беременных. Было произведено наружное акушерское исследование, включающее измерение окружности живота, высоты стояния дна матки, наружные акушерские приемы Леопольда-Левицкого, выслушивание сердцебиения плода с помощью Доптона. Произведен осмотр наружных половых органов, осмотр шейки матки в зеркалах, влагалищное и двуручное (бимануальное) акушерское исследование. Были изучены предыдущие данные клинико-лабораторных обследований беременных, включавшие клинический анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи, мазки из цервикального канала и уретры, ультразвуковые исследования в различные сроки гестации.

Особое внимание уделялось пациенткам с преэклампсией с целью выявления срока манифестации данного заболевания, учитывая начало подъема артериального давления, уровень протеинурии по данным анамнеза и клинико-лабораторного обследования в женской консультации. Диагноз ПЭ устанавливался согласно критериям ВОЗ.

Измерение АД производилось ртутным тонометром по методу Н.С. Короткова. Пациент после отдыха садится в расслабленном состоянии с нескрещенными ногами, опираясь на спинку стула. Рука, на которой будет производиться измерение АД, должна быть обнажена. Нижний край манжетки должен быть на 2,5 см выше локтевой ямки. Плотность наложения манжетки: между манжеткой и поверхностью плеча пациента должен проходить

указательный палец. Пальпаторно определяется точка максимальной пульсации плечевой артерии, которая обычно располагается сразу над локтевой ямкой на внутренней поверхности плеча. Мембрана стетоскопа должна полностью плотно прилегать к поверхности плеча. Нагнетание воздуха в манжетку до максимального уровня производится быстро. Воздух из манжетки выпускают со скоростью 2 мм рт.ст. в секунду до появления тонов Короткова, затем со скоростью 2 мм рт.ст. от удара к удару. Значение систолического АД определяют при появлении I фазы тонов Короткова по ближайшему делению шкалы (2 мм рт.ст.). Уровень, при котором слышен последний отчетливый тон, соответствует диастолическому АД. Повторные измерения АД производятся через 1—2 мин после полного выпуска воздуха из манжетки.

Взятие крови из локтевой вены при поступлении в стационар проводилось согласно алгоритму в вакутейнеры. Алгоритм включал в себя подписание информированного добровольного согласия на манипуляцию, пациента просили освободить место для предстоящей венепункции (чаще всего — локтевой сгиб, возможно предплечье, тыльную сторону кисти), под место венепункции подкладывали клеенчатую подушку, накладывали жгут выше места венепункции на 7-10 см поверх одежды или пеленки. Жгут накладывался так, чтобы сохранялась пульсация близлежащей артерии. Время наложения жгута не более 1 минуты, просили пациента сжать кулак, проводился осмотр и пальпация вены для венепункции. Место венепункции обрабатывалось салфетками с антисептиком дважды — сначала обширное поле, затем место венепункции. Использовали 2 или более салфеток с антисептиком. Кожа обрабатывалась от центра к периферии круговыми движениями. Одной рукой натягивали кожу ниже места венепункции на расстоянии 4-5 см, чтобы зафиксировать вену. Другой рукой пунктировали вену под углом 10-15°, игла вводилась по ходу вены не более чем на 1/2 длины. Пробирку вставляли в держатель до упора. Снимали или расслабляли жгут после поступления крови в пробирку. Просили пациента разжать кулак. Набирали необходимое количество крови в пробирку. Извлекали пробирку из держателя, когда кровь перестанет в нее поступать. Аккуратно переворачивали пробирку

несколько раз для перемешивания крови с наполнителем. Не встряхивали пробирку.

2.2.2. Функциональные методы исследования

Ультразвуковое исследование проводили при поступлении пациенток в стационар на аппаратах экспертного класса. Учитывая срок беременности, производилась фетометрия плода, включавшая измерение бипариетального размера плода, длину бедра плода, окружность живота с целью определения соответствия данных показателей сроку беременности и своевременной диагностике синдрома задержки роста плода и врожденных аномалий развития. Оценивалось количество околоплодных вод, расположение, толщина и степень зрелость плаценты по Grannum, что являлось немаловажным для ранней диагностики фетоплацентарной недостаточности. Оценивалось состояние шейки матки, определялось количество сосудов пуповины и наличие обвития вокруг частей плода.

Допплерометрическое исследование производилось с помощью современных трансабдоминальных датчиков и заключалось в определении состояния кровотока в артерии пуповины, средне-мозговой артерии плода, маточных артериях. При расшифровке данных доплерометрии учитывалось несколько индексов: систолодиастолическое отношение (СДО) – соотношение между конечной диастолической и максимальной скоростью кровотока в момент систолы, пульсационный индекс (ПИ) и индекс резистентности (ИР).

Кардиотокография – метод, основанный на непрерывной синхронной регистрации частоты сердечных сокращений плода датчиком на основе эффекта Доплера и тонуса матки с графическим изображением сигналов на калибровочной ленте. При анализе данных КТГ учитывался ряд показателей: базальный ритм, наличие акселераций и децелераций. Оценка состояния плода производилась по ПСП - показателю состояния плода. Значение 0 - 1,0 свидетельствовал о наличии здорового плода; 1,1 - 2,0 о начальных нарушениях состояния плода; 2,1 - 3,0 о выраженных и 3,1 - 4,0 о резко выраженных нарушениях состояния.

2.2.3. Специальные методы исследования

Изолирование нейтрофилов. Венозную кровь получали из локтевой вены пациенток. В качестве антикоагулянта использовали гепарин (30 МЕ/мл). Для удаления эритроцитов к крови добавляли 3% раствор декстрана и выдерживали при 37°C 30 мин. Кровь разводили культуральной средой Хенкса в отношении 1:1 и наслаивали на двух ступенчатый градиент фиколл-гипака (1,077 г/мл и 1,119 г/мл) и центрифугировали при 400g x 30 мин. Собирали мононуклеарную (лимфоциты + моноциты) фракцию и фракцию нейтрофилов. От эритроцитов в суспензии нейтрофилов избавлялись с помощью гипотонического лизиса. Чистота используемой суспензии нейтрофилов составляла не менее 96%, содержание живых клеток в тесте с трипановым синим было равно 94-96%. Готовили суспензию изолированных нейтрофилов 2×10^6 клеток/мл в среде RPMI-1640, содержащей 1% FCS. Измерения проводили на суспензиях нейтрофилов в бесцветной среде Хенкса, содержащей буфер HEPES 20 мМ, рН 7,4 (1×10^6 клеток/мл). В качестве люминофора использовали люцигенин (конечная концентрация в пробах 30 мкМ). Образование радикалов кислорода регистрировали на хемилуцинометре Биотокс-7 (Россия) в виде имп/с в непрерывном режиме.

Определение спонтанного и индуцированного стандартными стимуляторами образование радикалов кислорода регистрировалось на хемилуцинометре «Биотокс»-7. Измерения проводились при 25°. Образование супероксид анионов (O_2^-) регистрировалось в непрерывном режиме и выражалось в количестве импульсов в секунду, а также оценено по интегральным значениям хемилуминесценции (светосумма за 10 сек). При построении графиков были использованы усредненные значения, определенные в четырех – шести измерениях. В опытах были использованы люцигенин, форболовый эфир – форбол миристат ацетат (PMA), диметилсульфоксид, среда RPMI1640, эмбриональная сыворотка телят фирмы Sigma.

Определение концентрации трансформирующего фактора роста β ($TGF-\beta 1$, $TGF-\beta 2$, $TGF-\beta 3$) в плазме периферической крови (ЭДТА) проводилось

мультиплексным методом с использованием стандартной 3-плексной тест-системы Bio-Plex Pro TGF- β Panel 3-Plex (Bio-Rad, США) на проточном лазерном иммуноанализаторе Bio-Plex 200 System (Bio-Rad, США) и последующей обработкой полученных результатов с использованием приложения Bio-Plex Manager 6,0 Properties (Bio-Rad, США).

Регистрация клеточной гибели клеток методом флуоресцентной микроскопии с использованием Hoechst 33342. В работе использовали культуральную среду RPMI 1640, эмбриональную сыворотку теленка (ЭТС), йодид пропидия, Hoechst 33342, HEPES, раствор Хенкса (HBSS), DMSO, нитросиний тетразолий (NBT), пенициллин, стрептомицин, фосфатный буфер (PBS). Клетки SK-N-SH выращивали в среде RPMI 1640 с 10% ЭТС, 2 mM L-глутамина, 1% стрептомицина, 100 ед. пеницилина при 37°C и 5% CO₂. Клетки собирали центрифугированием, определяли концентрацию и рассеивали в 24-луночные планшеты по 200 тыс. клеток на лунку в 1 мл 5% культуральной среды и культивировали в течение 24 часов, после чего у клеток заменяли 5% культуральную среду на культуральную среду без ЭТС. После культивирования экспериментальных проб в течение 24 часов (без ЭТС) к клеткам добавляли плазму или амниотическую жидкость в концентрации 20%, и культивировали 24 часа в CO₂ инкубаторе при 37° С. В качестве контроля использовали культуральную среду с 20% ЭТС. Клеточную гибель клеток регистрировали методом флуоресцентной микроскопии с использованием Hoechst 33342. Некроз клеток контролировали с помощью йодида пропидия (PI). После окончания культивирования клетки окрашивали 30 мин в темноте с 10 мкг/мл Hoechst 33342 при 37°C (4), затем добавляли 30 mM йодида пропидия и регистрировали на инвертированном флуоресцентном микроскопе (Keyence VZ8100, Япония). Результаты регистрации апоптоза представлены на рисунках в процентах, как доля общего количества клеток с фрагментированной ДНК (не окрашиваемых PI). Образование активных форм кислорода (АФК) в клетках SK-N-SH определяли с использованием нитросинего тетразолия (NBT). После окончания культивирования к клеткам был добавлен раствор 0,1% NBT на 2 часа при 37°C и

5% CO₂. Затем клетки 2 раза отмывали PBS, фиксировали метанолом и сушили. Внутриклеточный формазан растворяли в 300 мкл 2 М КОН и 400 мкл DMSO. Далее измеряли оптическую плотность полученного раствора при 620 нм на планшетном ридере «Униплан».

2.2.4. Изучение здоровья новорожденных

В родильном зале все дети после рождения осматривались врачом-неонатологом или совместно с врачами отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.И. Кулакова» Минздрава России в случае необходимости оказания соответствующей реанимационной помощи. Проводилась оценка состояния новорожденных по шкале Апгар, определение массо-ростовых показателей. Изучено течение раннего неонатального периода детей, рожденных от женщин с преэклампсией и с физиологически протекающей беременностью.

2.2.5. Статистические методы исследования

Полученные в данной работе результаты отмечали в специально разработанной таблице. Статистический анализ был произведен на персональном компьютере с использованием программы «Statistica» v.13.0, StatSoft Inc. (США) и электронных таблиц Microsoft Office Excel 2018. Результаты исследования были представлены в виде средних значений и стандартного отклонения M(SD). Проверка нормальности распределения проводилась методом Шапиро и Уилка. При сравнении средних значений использовали t-критерий Стьюдента, при сравнении частот использовали критерий Хи-квадрат Пирсона с поправкой Йетса. Значимыми считались результаты при $p < 0,05$. Для выборок маленьких размеров был использован точный тест Фишера. Для определения диагностической информативности исследуемой модели использовался ROC-анализ (Receiver Operation Characteristic – операционная характеристика приемника). Данные ROC-анализа представлены в виде площади под кривой с 95% доверительным интервалом. Для статистической обработки результатов и построения графиков использовались программы Attestat (Россия) и OriginPro 8.5 (USA). Для расчётов

использовался самостоятельно написанный код на языке R версии 3.5.1. Для континуальных переменных была показана недостаточная степень нормальности распределений, что обусловило использование непарного теста Манна-Уитни (доверительный уровень 0.95, двухсторонний), вычислены соответствующие показатели (U, p-value). Тем самым определено, между какими группами и по каким континуальным переменным имеется статистическое различие. Для континуальных переменных, отдельно для каждой группы, были определены среднее значение, стандартное отклонение, медианное значение, интерквартильный размах. Дискретные переменные для ряда показателей были преобразованы в бинарный вид. Для сравнения групп был использован точный критерий Фишера, и были получены значения p-value. Были вычислены величины OR и доверительный интервал для OR (уровень значимости 0,95). Тем самым определено, между какими группами и по каким дискретным переменным имеется статистическое различие.

Автор выражает глубокую благодарность дирекции и сотрудникам подразделений, клинических отделений и научных лабораторий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулаков» Минздрава России, оказывающих содействие в выполнении различных этапов данной диссертационной работы.

В следующих разделах диссертации представлены результаты проведенных исследований и их обсуждение.

Глава 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБСЛЕДОВАННЫХ БЕРЕМЕННЫХ

В исследование было включено 250 пациенток, поступивших и родоразрешенных в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.И. Кулакова» Минздрава России в период с сентября 2016 по май 2019 года, из них было отобрано 60 пациенток с преэклампсией различной степени тяжести и 155 пациенток с физиологически протекающей беременностью. Клинико-лабораторное обследование пациенток проводилось в полном объеме согласно приказу Минздрава РФ от 01.11.2012 N 572н. - Порядок оказания медицинской помощи по профилю "акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)". Пациентки были отобраны согласно принятым ранее критериям включения, которыми являлись одноплодная беременность, родоразрешение на сроке гестации с 25 недель до 40 недель и 6 дней, наличие диагностированной преэклампсии в основной группе. Критериями исключения являлись: тяжелая экстрагенитальная патология, многоплодная беременность, наступление беременности с помощью вспомогательных репродуктивных технологий, несовместимые с жизнью пороки развития плода, острые инфекционно-воспалительные заболевания матери, обострение хронических соматических и гинекологических заболеваний в период родоразрешения.

Группы обследуемых женщин были сопоставимы по возрасту, паритету, клинической характеристике. При сборе анамнестических данных, включавших возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, проводимое лечение в основной группе, перинатальные исходы.

3.1. Анамнестические данные женщин в изучаемых группах

При изучении возрастного состава исследуемых в группах было показано, что пациентки основной группы были значительно старше, чем в группе

сравнения ($p < 0,005$), возраст которых составлял $32 \pm 5,31$ и $29 \pm 4,16$ лет соответственно. Анализ конституциональных параметров беременных показал, что пациентки основной группы значимо чаще имели высокий ИМТ $28,41 \pm 5,02$ и $25,41 \pm 3,31$, $p < 0,05$.

Наследственность пациенток основной группы достоверно чаще была отягощена по сердечно-сосудистым заболеваниям (гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца), составляя ($n=14$, 23,3%) ($OR=2,6$ (1,2-5,7), $p < 0,05$).

Была изучена заболеваемость детскими инфекциями в анамнезе. Ветряная оспа одинаково встречалась в группах ($n=41$, 65,1%) ($OR=1,2$ (0,6-2,4), $p > 0,05$), заболеваемость краснухой также достоверно не отличалась между группами ($n=21,3$, 33%) ($OR=0,8$ (0,4-1,5), $p > 0,05$). Корью переболели только 2 женщины в группе с ПЭ ($n=2$, 3,2%) ($OR=0,7$ (0,2-4,4), $p > 0,05$) и 6 женщин группы сравнения. Эпидемический паротит был в анамнезе у женщин с физиологически протекающей беременностью ($n=6$, 3,8%) ($OR=0,4$ (0,1-3,6), $p > 0,05$). Скарлатиной переболели всего 3 беременных в обеих группах (1 пациентка в основной группе и 2 пациентки в группе сравнения) ($n=1$, 0,6%) ($OR=1,3$ (0,1-14,5), $p > 0,05$). Статистически значимых различий между группами по данным заболеваниям выявлено не было (таблица 1).

Таблица 1 - Инфекционные заболевания в анамнезе, %

	Основная группа, % n=60	Группа сравнения, % n= 155	p-value
Ветряная оспа	65,1	63,2	$p > 0,05$
Эпидемический паротит	-	3,8	$p > 0,05$
Краснуха	33,3	39,4	$p > 0,05$
Корь	3,2	3,8	$p > 0,05$
Скарлатина	0,6	1,3	$p > 0,05$

Пациентки основной группы в 1,5 раза чаще имели травмы в анамнезе (перелом запястья, перелом ключицы в одном случае, перелом костей левой стопы, перелом перегородки носа, перелом пальцев правой руки, сотрясение головного мозга легкой степени, ушиб грудной клетки, разрыв ахиллова сухожилия) ($n=9$, 14,3%) ($OR=1,7$ (0,7-4,2), $p>0,05$), в 1,6 раз чаще отмечались мультигенные тромбофилии ($n=12$, 19,1%) ($OR=1,8$ (0,8-3,9), $p>0,05$) преимущественно высокого тромбогенного риска (включая в трех случаях ($n=3$, 25%) ($OR=8,1$ (0,8-80), $p>0,05$) гомозиготную мутацию фактора V Лейдена, в остальных случаях мутации генов тромбофилии низкого риска, в 1,5 раза чаще имели отягощенный аллергологический анамнез ($n=15$, 23,8%) ($OR=1,7$ (0,8-3,6), $p>0,05$) (аллергические реакции на антибактериальные препараты группы пенициллинов, сульфодиметоксин, витамины группы B, адреналин, бутадион, сезонный поллиноз, в 1 случае пищевая аллергия) (рисунок 5).

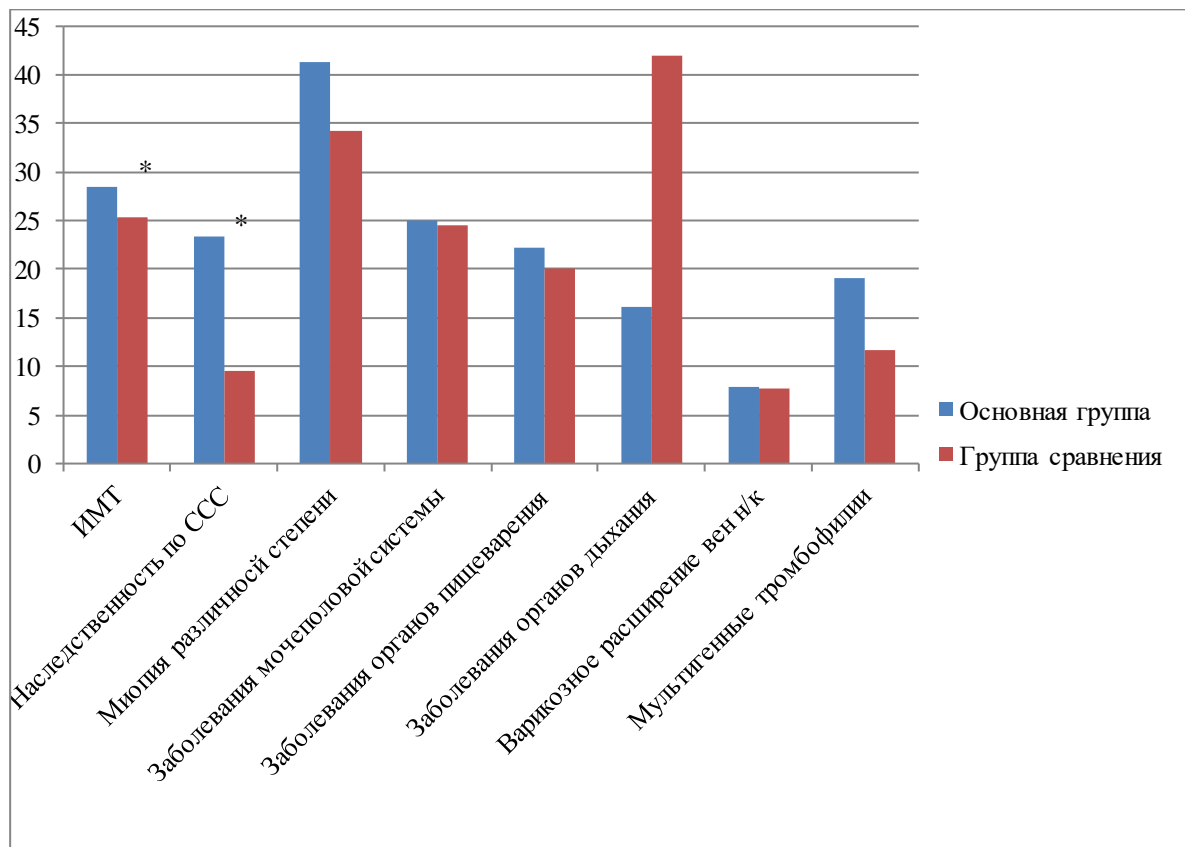


Рисунок 5. Соматические заболевания в исследуемых группах, %

В 1,2 раза чаще была диагностирована миопия ($n=26$, 41,3%) ($OR=1,5$ (0,8-2,7), $p>0,05$), что потребовало лазерной коррекции зрения (LASIK). Следует отметить, что в группе сравнения чаще встречалась миопия слабой и лишь в 15 случаях миопия тяжелой степени. Однако статистических различий между группами выявлено не было.

Болезни органов дыхания в основной группе были представлены хроническим тонзиллитом ($n=19$, 30,2%) ($OR=1,7$ (0,7-2,7), $p>0,05$), обструктивным бронхитом ($n=3$, 4,8%) ($OR=1$ (0,2-3,7), $p>0,05$). Бронхиальная астма встречалась у двух женщин с физиологически протекающей беременностью, что составило 3,8% ($n=2$). Частые ангины одинаково встречались в двух группах ($n=8$, 5,1%) ($OR=3,8$ (1,3-11,5), $p>0,05$). Тонзиллэктомия в детстве была произведена у 2 пациенток в группе сравнения ($n=2$, 1,29% ($OR=2,6$ (0,4-19), $p>0,05$). Однако статистических различий между группами по данным заболеваниям выявлено не было.

Заболевания эндокринной системы были представлены следующим образом: субклинический гипотиреоз встречался в два раза чаще у пациенток группы сравнения ($n=10$, 50%) ($OR=10,1$ (2,7-38,2), $p>0,05$), диффузный узловой зоб (эутиреоз) одинаково редко был диагностирован в группах ($n=4$, 2,4 %) ($OR=3,7$ (0,8-16,7), $p>0,05$) и у двух пациенток с преэклампсией был аутоиммунный тиреоидит ($n=2$, 1,2 %) ($OR=2,6$ (0,4-19,2), $p>0,05$).

Особое внимание заслуживает изучение заболеваний органов кровообращения. Следует отметить, что согласно критериям исключения, пациентки с сопутствующей хронической артериальной гипертензией и гестационной артериальной гипертензией были исключены из нашего исследования, что объясняет отсутствие статистических различий по данной группе заболеваний. Болезни органов кровообращения были представлены в основной группе пролапсом митрального клапана I степени, желудочковой экстрасистолией и неполной блокадой правой ножки пучка Гиса. В группе сравнения заболеваемость распределились следующим образом: у одной пациентки была выявлена ангиодисплазия, артерио-венозный анастомоз сосудов

правой стопы, в 1 случае была диагностирована идиопатическая экстрасистолия, у 5 пациенток пролапс митрального клапана I степени, в 1 случае синусовая аритмия.

Анализ заболеваний органов пищеварения не выявил статистических различий между группами ($n=14$, 22,2%) ($OR=1,5$ (0,7-3,0), $p>0,05$). Однако, в основной группе наиболее частой нозологической формой являлся хронический гастрит, у двух женщин в анамнезе была дискинезия желчевыводящих путей, у одной пациентки желчекаменная болезнь (холелитиаз), в 1 случае был диагностирован полип двенадцатиперстной кишки, и по 1 случаю язвенной болезни желудка и хроническим гастродуоденитом. У 2 пациенток была произведена лапароскопическая холецистэктомия по поводу острого холецистита. В группе сравнения также, наиболее часто ($n=15$, 48,4%) ($OR=0,5$ (0,2-1,8), $p>0,05$) встречался хронический гастрит, у 6 женщин был диагностирован хронический гастродуоденит, в 1 случае хронический панкреатит, у 3 женщин имелась дискинезия желчевыводящих путей, в 4 случаях был выставлен диагноз наружного геморроя в сочетании с анальными трещинами, что составило 13% от общей заболеваемости в группе. Однако статистически значимых различий между группами выявлено не было.

Также наибольший интерес представляет изучение болезней мочеполовой системы, в частности заболевания почек ($n=15$, 25,5%) ($OR=0,1$ (0,1-0,2), $p>0,05$). Патология распределилась следующим образом: в группе женщин с преэклампсией в 1 случае встречалось неполное удвоение левой почки, правосторонний нефроптоз, у 7 женщин хронический пиелонефрит, хронический цистит в 4 случаях и мочекаменная болезнь у 3 пациенток.

В группе женщин с физиологически протекающей беременностью заболевания распределились следующим образом: у одной пациентки в анамнезе был гидронефроз правой почки, у 23 пациенток имелся хронический пиелонефрит, у 14 хронический цистит и в 1 случае удвоение левой почки в сочетании с двусторонним нефроптозом. Однако статистически значимых различий между группами выявлено не было.

Заболевания центральной нервной системы (ЦНС) были представлены в группе сравнения мигренью без ауры (n=7, 4,5%) (OR=0,4 (0,1-3), p>0,05).

При анализе структуры болезней молочной железы было выявлено, что в основной группе фиброзно-кистозная мастопатия встречалась одинаково в основной группе и группе сравнения (n=3, 4,7%) (OR=0,9 (0,4-8,8), p>0,05). Было отмечено, что грыжи встречались в 2 раза чаще в анамнезе женщин с преэклампсией (n=2, 3,2%) (OR=2,6 (0,4-19,2), p>0,05). Статистической разницы по данному показателю выявлено не было. Варикозное расширение вен нижних конечностей было диагностировано у 5 женщин из группы ПЭ и 12 женщин группы сравнения (n=5, 7,9%) (OR=1,1 (0,4-3,2), p>0,05). Статистически значимой разницы по данному показателю также не наблюдалось.

При изучении акушерско-гинекологического анамнеза были проанализированы следующие параметры: характер менструальной функции, перенесенные гинекологические оперативные вмешательства и заболевания, паритет, характеристика течения и исходы данной беременности.

Структура гинекологических заболеваний представлена в таблице 2 и рисунке 6.

Таблица 2 - Структура гинекологических заболеваний у пациентов в группах исследования, %

Заболевания	Основная группа, % (n=60)	Группа сравнения, % (n=155)	p-value
Миома матки	15,9	3,9	p<0,05
Бесплодие	6,6	10,8	p<0,05
Кисты яичников	7,9	3,9	p>0,05
Фиброзно-кистозные образования молочной железы	4,8	2,6	p>0,05
Хронические воспалительные заболевания органов малого таза	3,2	7,7	p>0,05
Полип тела матки	4,8	3,9	p>0,05
Пороки развития половых органов	-	0,6	p>0,05
Эктопия шейки матки	33,3	32,3	p>0,05
Наружный генитальный эндометриоз	4,8	3,9	p>0,05

Возраст менархе не различался в изучаемых группах, составляя $13,2 \pm 1,1$ и $13,1 \pm 1,3$) соответственно. Не было выявлено статистических различий между длиной цикла ($28,7 \pm 2,1$ и $28,3 \pm 1,5$ дней) и длительностью менструации ($5 \pm 1,1$ и $5,1 \pm 0,9$ дней). Регулярный менструальный цикл наблюдался одинаково часто у женщин основной группы и в группе сравнения ($n=56$, 93,6%) (OR=7,5 (2,5-21,6), $p>0,05$). Умеренный характер менструальной кровопотери был отмечен у преимущественной части обследуемых беременных ($n=56$, 94,1%) (OR=4,7 (1,6-13,8), $p>0,05$). Частота болезненных менструаций ($n=8$, 12,7%) (OR=0,6(0,2-1,4), $p>0,05$) статистически не различалась по группам.

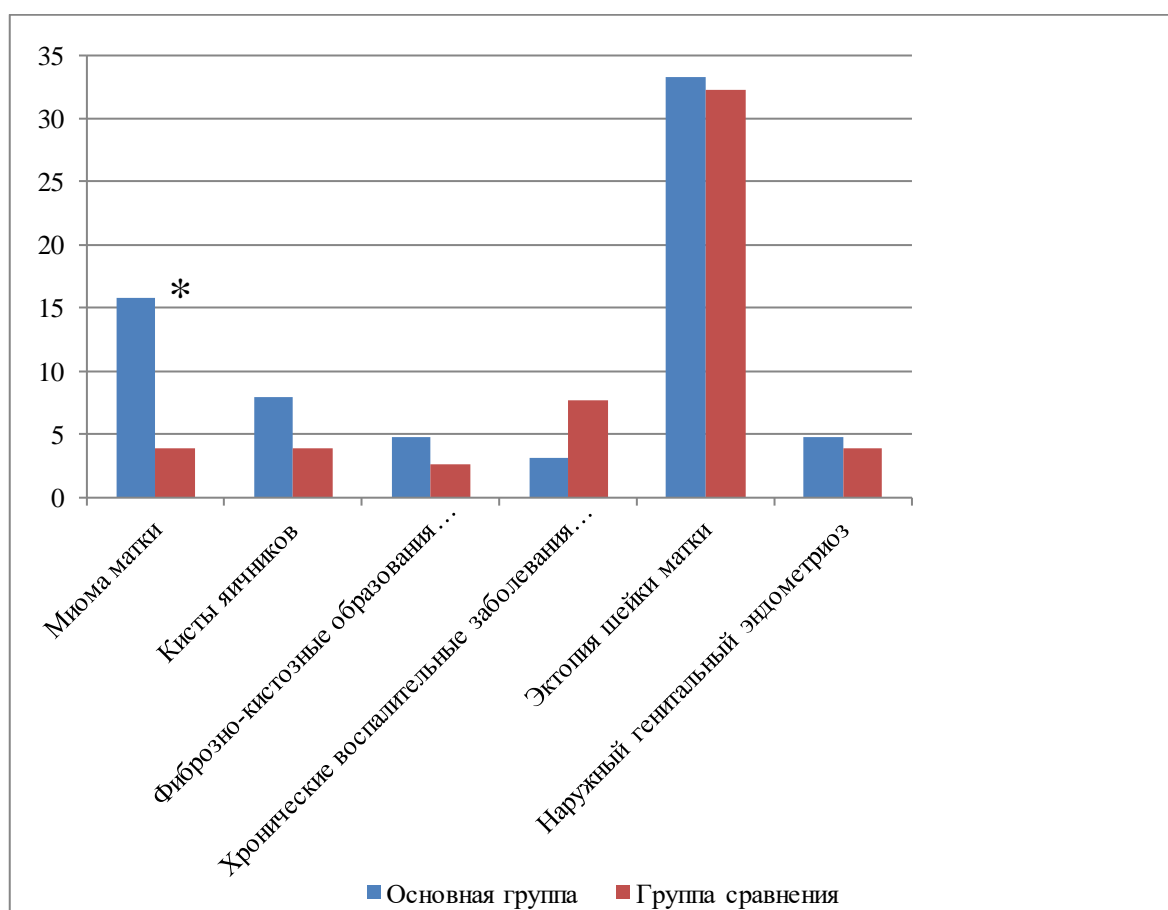


Рисунок 6. Структура гинекологических заболеваний в изучаемых группах, %

Как видно из вышеуказанных данных, наиболее частой гинекологической патологией в обеих группах являлась эктопия шейки матки ($n=21$, 33,3%) (OR=1,1 (0,6-2,1) $p>0,05$). Частота бесплодия (мужской и женский факторы) в анамнезе статистически значимо различалась между группами ($n=11$, 6,6%) (OR=4,7 (1,7-12,9), $p<0,05$). При изучении структуры патологии матки и придатков было

выявлено, что достоверно чаще в группе женщин с ПЭ встречалась миома матки ($n=10, 15,9\%$) ($OR=4,9 (1,8-14,3)$, $p<0,05$). Кисты яичников были в анамнезе у $7,9\%$ ($n=5$) женщин в основной группе (одна цистаденома яичника, что потребовало проведение лапароскопической резекции, 1 параовариальная киста правого яичника, у двух пациенток тератома левого яичника, что также потребовало проведения оперативного лечения в объеме лапароскопической резекции яичников). В группе сравнения кисты яичников встречались у 6 пациенток и были представлены в 5 случаях фолликулярными кистами, в 1 случае потребовалось оперативное вмешательство по поводу тератомы левого яичника. Болевая форма апоплексии яичников была у 5 пациенток группы сравнения. Однако следует отметить, что статистической разницы по вышеуказанным патологиям выявлено не было. У 1 пациентки группы был диагностирован порок развития половых органов (неполное удвоение матки, неполная внутриматочная перегородка) в связи с чем, в анамнезе было произведено соответствующее оперативное вмешательство в объеме лапароскопического рассечения внутриматочной перегородки, без осложнений.

Наружный генитальный эндометриоз (диагноз установлен по месту жительства по данным визуальных методов диагностики) ($n=3, 4,8$) ($OR= 1,3 (0,3-5,4)$, $p>0,05$). Статистических различий между группами выявлено не было.

Была проанализирована частота встречаемости хронических воспалительных заболеваний органов малого таза в исследуемых группах ($n=2, 3,2\%$) ($OR=0,4 (0,1-1,9)$ $p>0,05$). Нозологические формы были представлены в 1 случае двусторонним аднекситом и в 1 случае хроническим сальпингофаритом в группе женщин с ПЭ, у 5 пациенток был диагностирован острый сальпингофарит в анамнезе с последующим терапевтическим лечением по месту жительства, у 2 женщин течение сальпингофарита приобрело хроническую форму, у 2 был установлен диагноз хронического двустороннего аднексита и у двух женщин хронического эндометрита, в 1 случае хронического цервицита в сочетании с левосторонним хроническим сальпингофаритом. Была проанализирована частота встречаемости полипов тела матки (цервикального

канала и эндометрия, и показано, что в основной группе чаще встречались полипы эндометрия ($n=3$, 4,8%) ($OR=8,1$ (0,8-79,5) $p>0,05$), что потребовало выполнение РДВ (раздельного диагностического выскабливания) с полипэктомией, в группе сравнения в 4 случаях были диагностированы полипы цервикального канала и в 2 случаях полипы эндометрия, что также потребовало проведения соответствующего оперативного лечения. Также интересным представлялось изучение спектра инфекционных и вирусных возбудителей в исследуемых группах пациенток. Результаты представлены в таблице 3 и рисунке 7.

Таблица 3 - Возбудители воспалительных заболеваний органов малого таза, %

Возбудитель	Основная группа, % n=60	Группа сравнения, % n= 155	p-value
Уреаплазма, % Микоплазма, %	8	8,4	$p>0,05$
Хламидия, %	3,2	6,5	$p>0,05$
Дрожжеподобные грибы рода кандиды, %	3,2	12,9	$p<0,05$
Цитомегаловирус, %	0	1,9	$p>0,05$
Вирус папилломы человека, %	6,4	9,0	$p>0,05$
Вирус простого герпеса второго типа, %	1,6	6,5	$p>0,05$

Как видно из представленных данных, воспалительные заболевания, вызванные дрожжеподобными грибами рода *Candida* (тип не уточнялся) чаще были диагностированы в анамнезе пациенток с физиологически протекающей беременностью, что было значимо выше, чем в основной группе ($n=20$, 12,9%) ($OR=0,3$ (0,1-1,1), $p<0,05$). Статистической разницы в выявлении *Ureaplasma urealyticum* (уреаплазма), *Mycoplasma hominis* (микоплазма), *Mycoplasma genitalium* у пациенток основной и группы сравнения выявлено не было. В 2 раза чаще в группе сравнения встречались заболевания, ассоциированные с *Chlamydia trachomatis*, в 1,4 раза чаще было выявлено носительство вируса

папилломы человека (штаммы не уточнялись) в анамнезе (аногенитальные кондиломы в 10% случаев), в 2 раза чаще было диагностировано носительство цитомегаловируса и в 4 раза чаще вируса простого герпеса 2 типа. Однако статистических различий между группами выявлено не было.

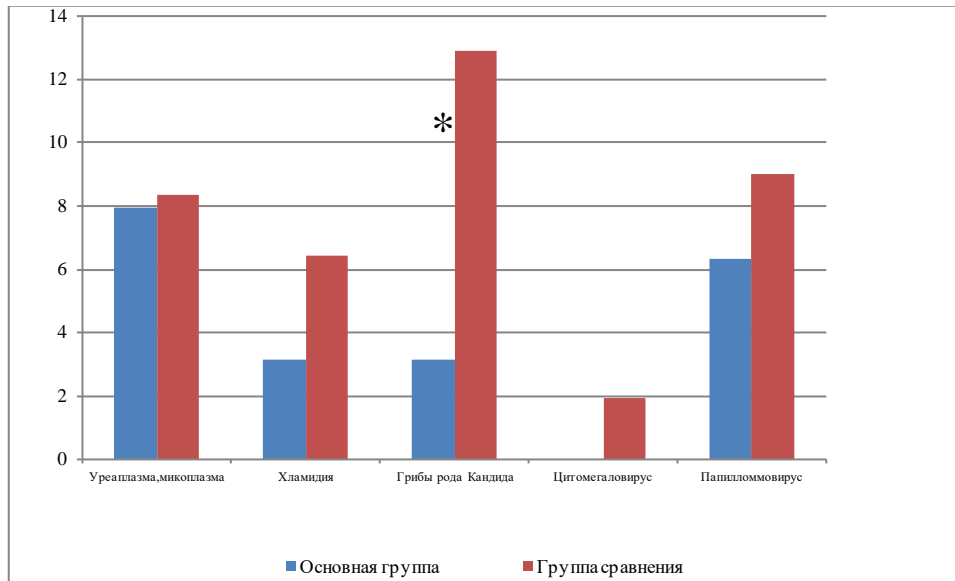


Рисунок 7. Структура возбудителей воспалительных заболеваний органов малого таза, %

При анализе данных акушерского анамнеза (рисунок 8) было показано, что группы не различались по количеству предыдущих беременностей ($2,3 \pm 1,6$ и $1,8 \pm 1,1$ по группам соответственно) и количеству родов ($1,6 \pm 0,9$ и $1,4 \pm 0,7$). Важно отметить, что в анамнезе женщин основной группы в 9 раз чаще встречалась тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность. Достоверно чаще в основной группе в анамнезе пациенток были аборт ($n=13$, 21,6%) ($OR=2,6$ (1,14-5,82) $p>0,05$), антенатальная гибель плода у 5% ($n=3$), преждевременные роды в сроке гестации от 30 недель у 8,3% ($n=5$). Не было статистической разницы между группами в наличии неразвивающейся беременности ($n=16$, 10,3%) ($OR=5,9$ (2,4-14,3), $p>0,05$) и 15% ($n=9$), самопроизвольных выкидышах ($n=5$, 8,3%) ($OR=1,3$ (0,4-4,0), $p>0,05$). Кесарево сечение в анамнезе основной группы выполнялось чаще, чем в группе сравнения – ($n=8$, 13,3% ($OR=7,8$ (1,9-30,5), $p<0,005$).

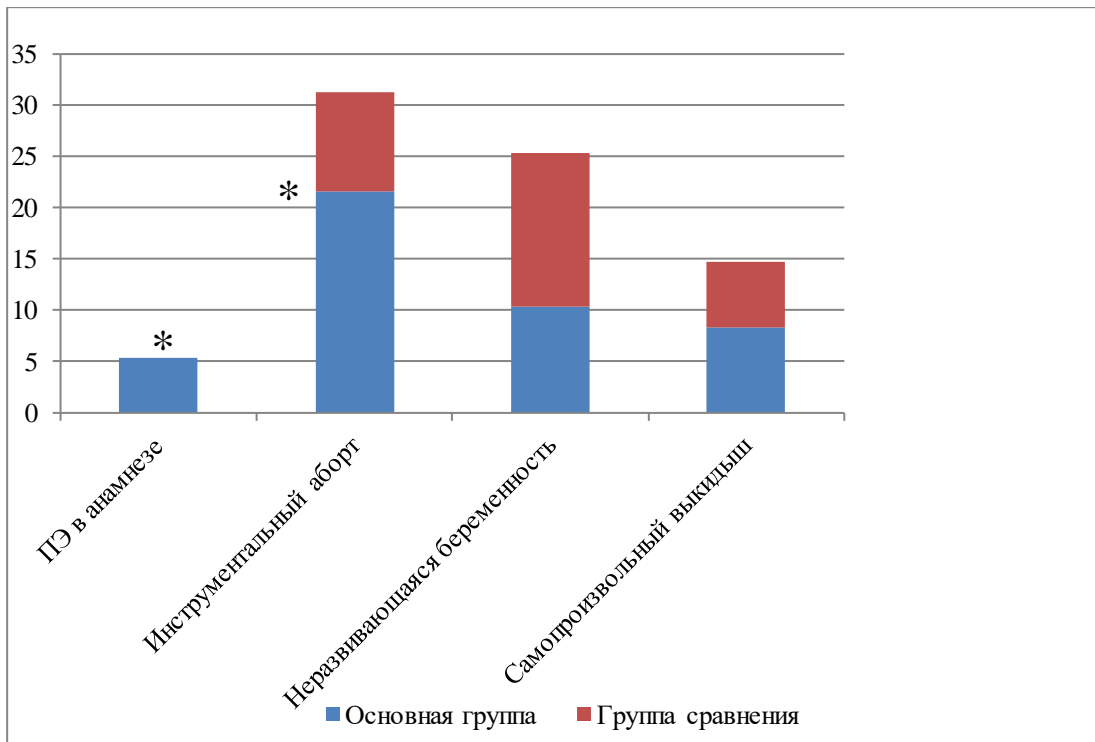


Рисунок 8. Акушерский анамнез в изучаемых группах

Таким образом, пациентки в основной группе имели высокий ИМТ $28,41 \pm 5,02$ и $25,41 \pm 3,31$, $p < 0,05$). Кроме того, наследственность пациенток основной группы достоверно чаще была отягощена по сердечно-сосудистым заболеваниям (гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца), составляя ($n=14$, 23,3%) ($OR=2,6$ (1,2-5,7), $p < 0,05$). При изучении гинекологического анамнеза было выявлено, что частота бесплодия (мужской и женский факторы) в анамнезе статистически значимо различалась между группами ($n=11$, 6,6%) ($OR=4,7$ (1,7-12,9), $p < 0,05$). При изучении структуры патологии матки и придатков было выявлено, что достоверно чаще в группе женщин с ПЭ встречалась миома матки ($n=10$, 15,9%) ($OR=4,9$ (1,8-14,3), $p < 0,05$). При анализе данных акушерского анамнеза было показано, что в анамнезе женщин основной группы в 9 раз чаще встречалась тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность. Достоверно чаще в основной группе в анамнезе пациенток были аборты ($n=13$, 21,6%) ($OR=2,6$ (1,14-5,82) $p > 0,05$). Кесарево сечение в анамнезе основной группы выполнялось чаще, чем в группе сравнения ($n=8$, 13,3% ($OR=7,8$ (1,9-30,5), $p < 0,005$).

3.2. Клинико-анамнестическая характеристика беременных с умеренной и тяжелой преэклампсии

Принимая во внимание различный генез развития умеренной и тяжелой формы преэклампсии, интересным представлялось изучение клинико-анамнестических характеристик пациенток данных подгрупп.

Были проанализированы следующие параметры: возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, проводимое лечение в основной группе, перинатальные исходы.

Было показано, что только в подгруппе с умеренной преэклампсией значимо чаще в сравнении с женщинами с физиологически протекающей беременностью в соматическом анамнезе преобладали травмы (сотрясение головного мозга, перелом ключицы), $p < 0,05$. Следует отметить, что мутации полиморфизмов генов тромбофилии преимущественно высокого риска (гомозиготная мутация фактора V Лейдена) достоверно чаще встречались в подгруппе только женщин с тяжелой преэклампсией по сравнению с группой сравнения ($n=7$, 11,6%) ($OR=4,4$ (1,7-15,3), $p < 0,05$) и подгруппой с умеренной преэклампсией ($n=2$, $OR=8,8$ (3,2-23,9), $p < 0,05$). В гинекологическом анамнезе в подгруппах пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией достоверно чаще встречалась миома матки ($n=7$, 21,8%) ($OR=4,4$ (1,4-14,3), $p < 0,05$), различия между подгруппами по данной нозологии выявлено не было. При анализе спектра возбудителей воспалительных заболеваний мочеполовой системы было выявлено, что кандидоз достоверно чаще встречался у женщин подгруппы умеренной ПЭ ($n=10$, 16,6%) ($OR=4,1$ (1,5-14,3), $p < 0,05$) по сравнению с группой сравнения. Анализ течения настоящей беременности показал, что угроза прерывания беременности I триместра была значимо чаще только у женщин с тяжелой преэклампсией в отличие от группы сравнения ($n=13$, 13,7%) ($OR=3,1$ (0,8-11,8), $p < 0,05$) и также от подгруппы с умеренной ПЭ ($n=5$, 15,3% ($OR=7,7$ (0,8-89,9)), $p < 0,05$). Частота самопроизвольных родов не различалась между подгруппами, однако была достоверно ниже при

тяжелой и умеренной преэклампсии по сравнению с группой сравнения ($n=6$, 22,5% (OR=3,0 (1,1-8,4), $p<0,05$) и ($n=7$, 16,7% (OR=3,3 (1,1-8,3), $p<0,05$). Плановое кесарево сечение выполнялось достоверно чаще в обеих подгруппах ($p<0,005$ и $p<0,04$ соответственно). Важно отметить, что операция кесарева сечения в экстренном порядке выполнялась достоверно чаще в подгруппах женщин с умеренной и тяжелой преэклампсией ($p<0,05$ и $p<0,005$), однако при сравнении подгрупп между собой было выявлено значимое повышение частоты данного оперативного вмешательства именно в подгруппе с тяжелой ПЭ ($n=6$, 23,6% (OR=0,24 (0,1-0,7), $p<0,05$).

Клинико-anamнестическая характеристика пациенток с ранней и поздней ПЭ

Также интерес представляло изучение клинико-anamнестических данных подгрупп пациенток с ранней и поздней преэклампсией в виду разного патогенетического механизма развития данных форм ПЭ.

Был проведен анализ пациенток по всем основным клинико-anamнестическим характеристикам. Однако достоверными были следующие различия: анализ заболеваемости детскими инфекциями показал, что краснуха достоверно чаще встречалась в подгруппе женщин с ранней ПЭ в отличие от группы сравнения ($n=14$, 22,5%) (OR=3,0 (1,1-8,3), $p<0,05$) и от подгруппы с поздней ПЭ. Других различий в соматическом анамнезе женщин выявлено не было.

При изучении гинекологического анамнеза было выявлено достоверное увеличение частоты заболеваемости миомой матки как в подгруппе с ранней ПЭ ($n=5$, 15,7%) (OR=2,4 (0,24-23,2), $p<0,05$), так и в подгруппе с поздней ПЭ ($n=2$, 6,7%) (OR=4,4 (0,4-43,7), $p<0,05$). Кандидоз, как один из этиологических факторов развития хронических воспалительных заболеваний органов малого таза, встречался достоверно чаще только в подгруппе с поздней ПЭ ($n=3$, 10,8%) (OR=6,8 (0,8-55,7), $p<0,05$) по сравнению с группой II. Стоит отметить, что

болезненные менструации чаще наблюдались лишь у женщин с поздней преэклампсией (n=5, 12,7%) (OR=0,3 (0,1-2,3), p<0,05).

Таким образом, анализ клинической характеристики пациенток с ПЭ подтвердил значимость таких клиничко-анамнестических факторов, как отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям, нарушение жирового обмена, а также наличие миомы матки. Аналогичные данные были получены при ранней и при поздней ПЭ. Вышеизложенное, с одной стороны обосновывает целесообразность их использования для выделения группы риска по развитию ПЭ, с другой стороны диктует необходимость проведения исследования для выявления достоверных предикторов данного осложнения беременности.

Глава 4. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1. Течение и исход настоящей беременности

Были проанализированы данные о течении и исходе настоящей беременности, изучены перинатальные исходы в основной группе и группе сравнения. Диагноз преэклампсии был установлен согласно общепринятым критериям в $37\pm 3,90$ недель беременности в подгруппе женщин с умеренной преэклампсией и в $34,5\pm 6,03$ недель в подгруппе женщин с тяжелой ПЭ.

В основной группе I триместр беременности (рисунок 9) достоверно чаще был осложнен угрозой прерывания с образованием ретрохориальной гематомы (диагноз всем пациенткам ставился, учитывая жалобы, данные осмотра и ультразвукового исследования), составляя соответственно ($n=20$, 33,3%) ($OR=7,3$ (3,1-16,7), $p<0,001$). Активация внутрисосудистого свертывания крови по данным гемостазиограммы, начиная с первых недель гестационного срока, была статистически значимо выше в основной группе ($n=6$, 10%) ($OR=3,3$ (0,9-11,4), $p<0,05$). ОРВИ наблюдалось у 15 женщин в группе сравнения и 7 пациенток основной группы ($n=7$, 11,7%) ($OR=1,2$ (0,5-3,2), $p>0,05$). Анемия беременных легкой степени, корригируемая приемом препаратов железа, осложняла 3,3% ($n=2$) беременностей у группы с ПЭ ($n=2$, 3,3%) ($OR=0,7$ (0,1-3,6), $p>0,05$). Токсикоз легкой степени тяжести был диагностирован у 47 пациенток группы сравнения и 25 пациенток в основной группе, что составило 30,3% и 41,7% ($n=25$, 41,7%) ($OR=1,6$ (0,8-3,0), $p>0,05$). Токсикоз средней степени тяжести встречался у 3 (1,9%) женщин с физиологически протекающей беременностью и у 4 (6,6%) женщин с ПЭ ($n=4$, 6,6%) ($OR=3,6$ (0,8-16,7), $p>0,05$). У 1 пациентки группы сравнения был диагностирован токсикоз тяжелой степени тяжести, в 1 случае также наблюдалось обострение генитального герпеса. Однако, статистических различий между вышеуказанными параметрами в группах выявлено не было.

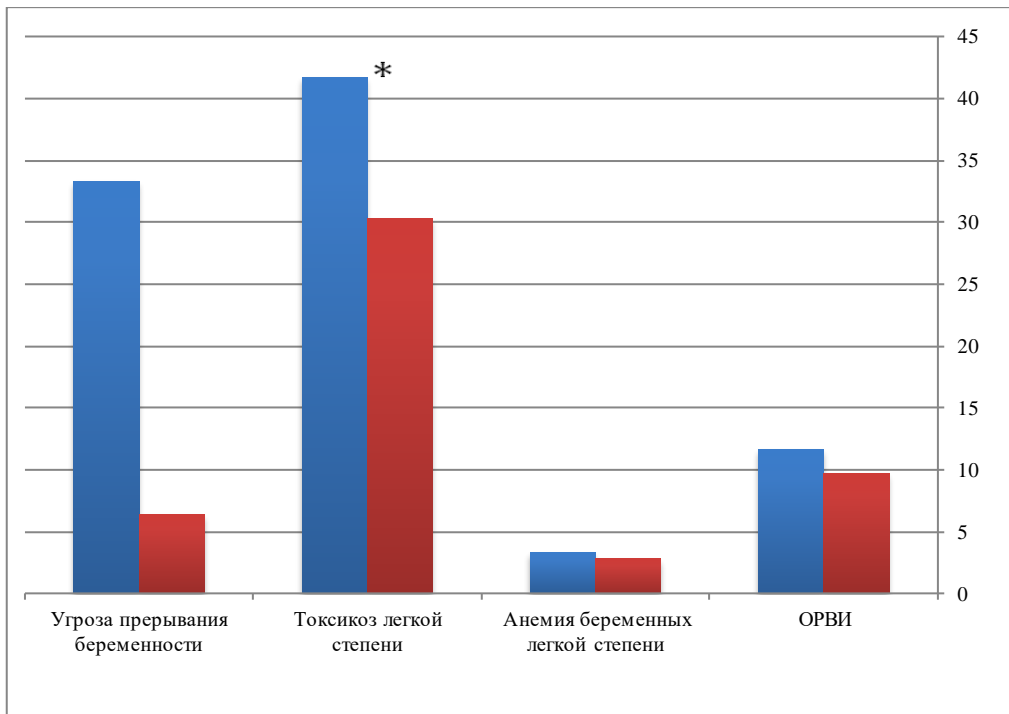


Рисунок 9. Течение беременности в I триместре в основной группе и группе сравнения, %

Анализ данных о течение беременности во II триместре (рисунок 10) показал, что угроза прерывания беременности достоверно чаще встречалась у женщин основной группы— (n=26, 43,5%) (OR=3,1 (1,6-5,8), p<0,001). Внутрисосудистая активация свертываемости крови также значительно различалась между группами (n=8, 13,3%) (OR=3,6 (1,2-10,4), p<0,05). В группе с пациентками, беременность которых осложнилась развитием ПЭ, в 6 раз чаще встречалось нарушение фето-плацентарного и маточно-плацентарного кровотоков по данным доплерометрии (у 6 пациенток, что составляло 10%, p<0,001), в 9 раз чаще синдром задержки роста плода (у 9 пациенток, 15% p<0,001). Отеки беременных манифестировали уже начиная со II триместра беременности в основной группе у 5 беременных, что составило 8,3% (p<0,001). В 2 случаях также в группе с ПЭ было диагностировано маловодие по данным ультразвукового исследования (3,3%, p<0,001) и нулевые кровотоки в артерии пуповины плода по данным ультразвуковой доплерометрии в 2 случаях (3,3%, p<0,001).

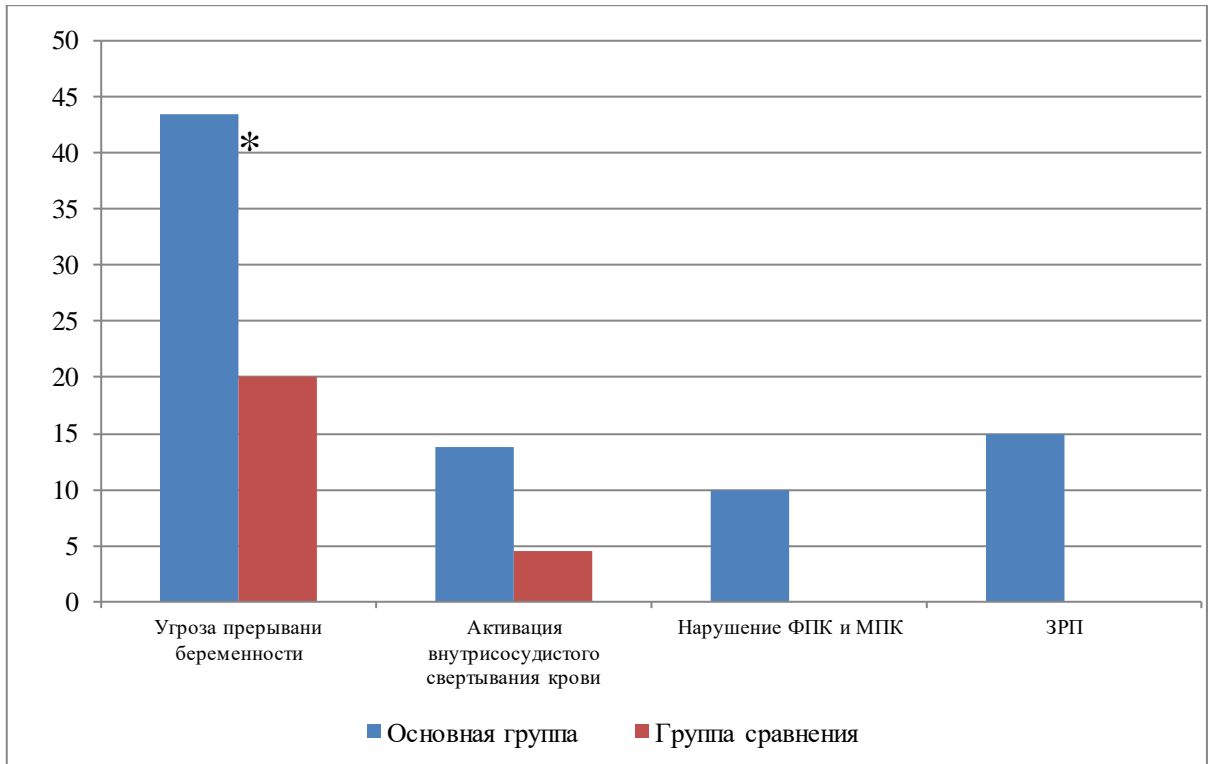


Рисунок 10. Течение беременности в II триместре в основной группе и группе сравнения, %

По остальным параметрам статистических различий в группах выявлено не было. ОРВИ встречалось чаще в группе сравнения, однако, статистических различий выявлено не было ($n=21$, 13,5%) ($OR=0,7$ (0,3-1,8), $p>0,05$). Обострение бактериального вагиноза (в 5 случаях обусловленного *E.coli*) ($n=1$, 1,6%) ($OR=0,4$ (0,05-3,5), $p>0,05$). Внутривенных холестаза беременных был у 1 женщины в группе сравнения (0,6%). Анемия беременных легкой степени наблюдалась у 14 женщин в основной группе ($n=14$, 9%) ($OR=6,4$ (2,5-16,9), $p>0,05$). ГСД по данным ГТТ (глюкозотолерантный тест), проведенного на 28 неделе гестации, манифестировал у 8 женщин группы сравнения и 1 женщины основной группы, однако, различия не были достоверны ($n=1$, 1,6%) ($OR=0,3$ (0,1-2,5), $p>0,05$). Кроме того, в группе сравнения в 1 случае был выявлен наружный геморрой, в 1 случае бессимптомная бактериурия и в 1 случае был диагностирован аутоиммунный тиреоидит, потребовавший медикаментозной терапии.

При анализе течения III триместра беременности (рисунок 11) было выявлено, что достоверно чаще в основной группе встречалась угроза прерывания

беременности (истмико-цервикальная недостаточность, акушерский пессарий (n=10, 16,6%) (OR=2,6 (1,0-6,5), p<0,05). В 38,3% (n=23) в группе женщин с ПЭ были диагностированы отеки беременных (n=23, 38,3%) (OR=3,4 (1,7-6,7), p<0,001).

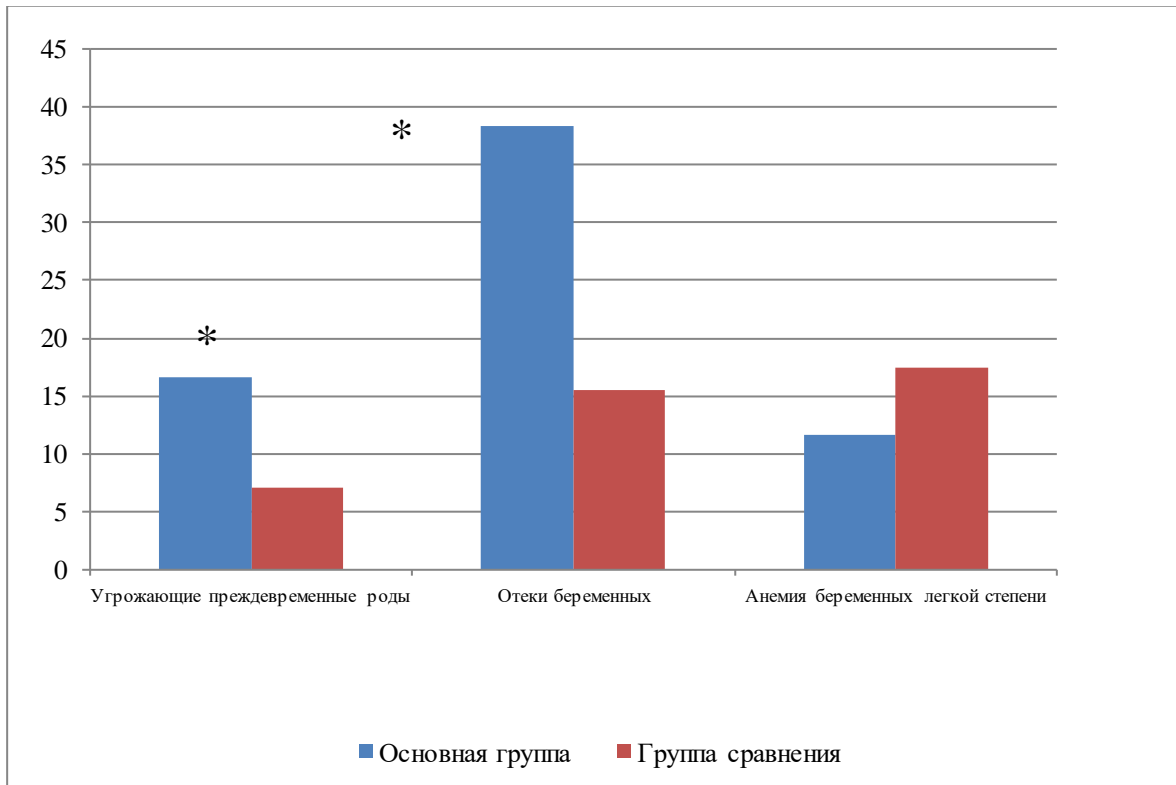


Рисунок 11. Течение беременности в III триместре в основной группе и группе сравнения, %

Также в основной группе у 3 пациенток был гестационный сахарный диабет, что составило 5% от общего количества. У 4 пациенток (6,6%) по данным ультразвуковой диагностики была диагностирована плацентарная недостаточность различной степени тяжести, у 1 пациентки плацентомегалия (1,6%), у 10 пациенток впервые выявлен синдром задержки роста плода, у 1 пациентки внутрипеченочный холестаз беременных (1,6%). Других статистических отличий по группам выявлено не было. ОРВИ встречался у 15 женщин в группе сравнения (n=4, 6,6%) (OR=0,7(0,2-2,1), p>0,05). Обострение вульвовагинального кандидоза встречалось у 8 женщин группы сравнения и у 1 пациентки в основной группе, (n=1, 1,6%) (OR=0,3 (0,1-2,5), p>0,05).

Примечательно, что активация внутрисосудистого свертывания крови встречалась в 2,6 раз чаще в основной группе, но не была статистически значима в III триместре беременности ($n=5$, 8,3%) ($OR=2,7-9,8$), $p>0,05$). Анемия беременных легкой и средней степени тяжести была у 7 пациенток в основной группе ($n=7$, 11,6%) ($OR=0,6$ (0,3-1,5), $p>0,05$). Многоводие было диагностировано у 2 женщин группы сравнения, маловодие у 1.

Структура родоразрешений (рисунок 12, рисунок 13) существенно различалась между группами. Самопроизвольные роды значимо чаще происходили в группе сравнения, что составило ($n=131$, 85,2%) ($OR=0,1$ (0,05-0,2), $p<0,005$). В 8 раз чаще была произведена операция кесарева сечения в экстренном порядке в группе женщин с ПЭ ($n=19$, 31,8%) ($OR=11,5$ (4,3-30,7), $p<0,005$) и в 6 раз чаще в плановом порядке ($n=22$, 36,5%) ($OR=8,4$ (3,6-19,2), $p<0,005$). Показаниями в группе сравнения для экстренного оперативного родоразрешения являлась в 3 случаях острая гипоксия плода, в 2 случаях клинически узкий таз, в 1 случае преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты. В плановом порядке в группе сравнения, операция кесарева сечения была произведена у 3 женщин в виду наличия рубца на матке после предыдущей операции кесарево сечения и неготовностью мягких родовых путей к родам, у 3 женщин тазовое (ножное) предлежание плода мужского пола, в 2 случаях показанием служило заключения офтальмолога, у 1 пациентки порок развития половых органов, состояние после рассечения внутриматочной перегородки и в 1 случае заключение невролога. Показанием для плановой операции кесарева сечения в основной группе служило сочетание возраста женщин с соматической и гинекологической патологией пациенток, осложненным течением данной беременности (синдрома задержки роста плода, умеренная преэклампсия). В экстренном порядке операция выполнялась в виду нарастания степени тяжести ПЭ (не поддающаяся медикаментозной коррекции артериальная гипертензия, нарастание степени тяжести протеинурии) и/или в виду нарушения состояния плода по данным функциональных методов исследования.



Рисунок 12. Структура родоразрешений в группе сравнения, %



Рисунок 13. Структура родоразрешений в основной группе, %

Течение послеродового периода было без осложнений в двух сравниваемых группах, значимых различий выявлено не было. Средний объем кровопотери в основной группе составил $630,2 \pm 162,2$ мл, в группе сравнения – $490,3 \pm 212,1$ мл. Случаев послеоперационных осложнений, как в раннем, так и позднем послеродовом периодах не отмечено.

Были проанализированы перинатальные исходы в исследуемых группах. Антенатальной и интранатальной гибели плода не было ни в одной группе. В подгруппе женщин с тяжелой ПЭ умерло 4 ребенка в раннем неонатальном периоде, что было обусловлено ранними сроками родоразрешения (27 недель и 25 недель гестации), экстремально низкой массой тела при рождении (765 грамм, 565 грамм, 570 грамм и 480 грамм) и последующими осложнениями в виде врожденного сепсиса, респираторного дистресс-синдрома новорожденных, внутрижелудочковых кровоизлияний и полиорганной недостаточности.

При оценке половой принадлежности новорожденных было выявлено, что в 1,2 раза чаще в основной группе рождались мальчики ($n=31$, 51,6%) ($OR=1,5$ (0,8-2,7), $p>0,05$). Значимые различия между группами наблюдались при анализе массо-ростовых показателей новорожденных. Вес новорожденного в группе женщин с ПЭ составлял $2357,5\pm 936,4$ грамм, тогда как в группе сравнения $3359,6\pm 422,1$ грамм, ($p<0,005$), рост $45,2\pm 7,1$ см и $51,6\pm 2,1$ см по группам соответственно ($p<0,005$). Оценка по шкале Апгар в основной группе на первой минуте составляла 8 [7:8] баллов, на пятой минуте 8 [8:8] баллов, что значимо отличалось от оценки по шкале Апгар новорожденных в группе сравнения – на первой минуте 8 [8:9] баллов, на пятой минуте 9 [9:9] баллов ($p<0,005$).

При анализе течения неонатального периода было выявлено, что общая неонатальная заболеваемость была выше в группе женщин с ПЭ по сравнению с группой сравнения, различаясь также между подгруппами (умеренная и тяжелая ПЭ), что обусловлено, вероятно, сроками родоразрешения беременных, осложненным течением беременности. Неонатальная заболеваемость представлена на рисунке 14.

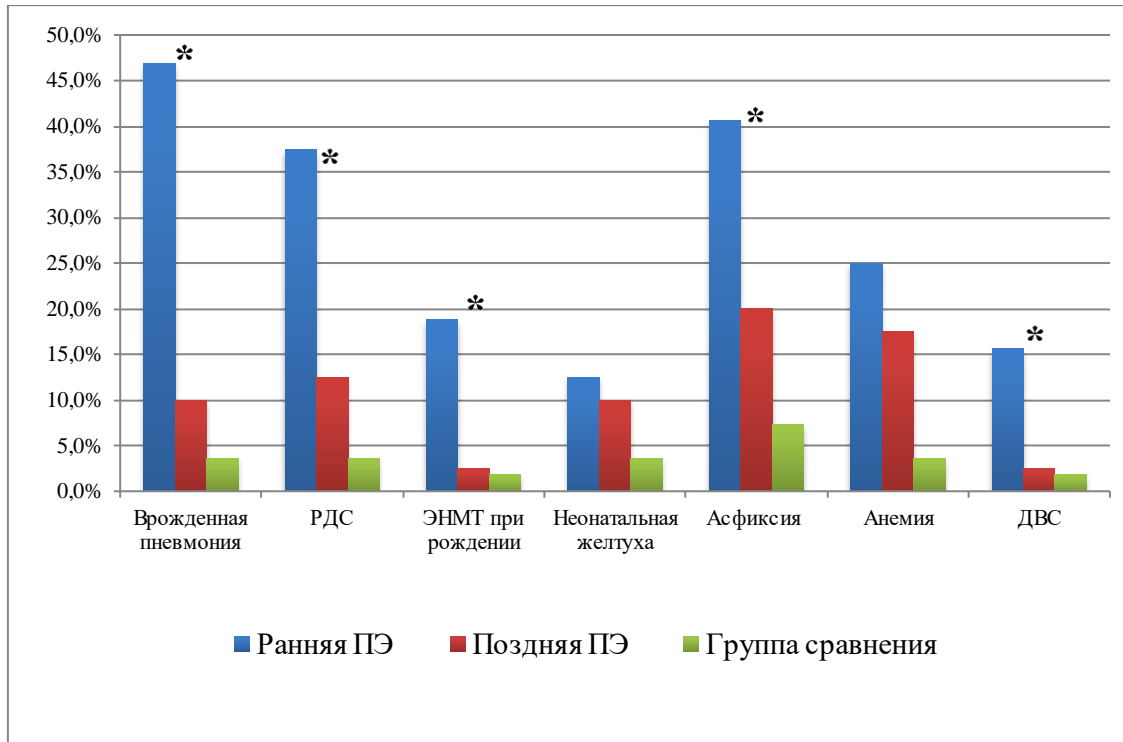


Рисунок 14. Неонатальная заболеваемость в исследуемых группах, %.

У детей, рожденных от матерей с преэклампсией достоверно чаще была диагностирована врожденная пневмония, респираторный дистресс синдром новорожденных. В структуре неонатальной заболеваемости у детей, от матерей основной группы, достоверно чаще встречалась врожденная пневмония – (n=41, 25,7%) (OR=9,5 (2,1-42,8), $p<0,05$). Респираторный дистресс синдром также преобладал в основной группе новорожденных – (n=13, 22,9%) (OR=8,2 (1,8-37,2), $p<0,05$). Экстремально низкая масса тела новорожденных при рождении также отмечалась чаще у детей от матерей с тяжелой ПЭ по сравнению с умеренной ПЭ (n=7, 25,9%) (OR=9,0 (1,1-79,1) $p>0,05$). Неонатальная желтуха встречалась у новорожденных обеих групп, достоверно чаще в основной группе (n=6, 10,8%) (OR=3,31(0,7-16,3)), $p>0,05$.

Асфиксия новорожденных наблюдалась в 2,7 раз чаще в основной группе – (n=25, 14,8%) (OR=3,1 (0,8-11,8), $p<0,05$). В 5,6 раз чаще у детей от матерей с ПЭ встречалась врожденная анемия новорожденных – (n=13, 20,3%) (OR=6,9 (1,5-31,9), $p<0,05$), а также в 6,5 раз чаще у детей от матерей с тяжелой формой ПЭ – (OR=8,8 (1,7-44,8) $p<0,05$) и в 4,8 раз чаще у детей от матерей с умеренной ПЭ –

(OR=5,62 (1,10-28,70) $p<0,05$). Дискинезия ЖКТ в своем большинстве встречалась чаще в основной группе – (n=5, 8,1%) (OR=4,9(0,6-42,1), $p<0,05$).

4.2. Течение и исход настоящей беременности у женщин подгрупп с ранней и поздней преэклампсией.

В нашем исследовании подгруппа с ранней ПЭ характеризовалась развитием тяжелой формы ПЭ, а подгруппа пациенток с поздней ПЭ – умеренной степени тяжести (согласно общепринятым критериям). При анализе течения I триместра (рисунок 15) беременности было выявлено, что статистически значимой для ранней ПЭ была угроза прерывания беременности (ретрохориальная гематома) (n=13, 37,1%) (OR=17,7 (5,7-34,5), $p<0,001$) от общего количества пациенток в подгруппе Ia. Однако, при разделении на подгруппы, только для пациенток с ранней формой заболевания выявлено значимое отличие в активации внутрисосудистого свертывания крови (n=5, 14,2%) (OR=25 (2,8-221,7), $p<0,05$). Такая же динамика наблюдалась и в таком показателе как токсикоз легкой степени тяжести, который был диагностирован значимо чаще только в подгруппе с ранней ПЭ, составляя (n=18, 51,4%) (OR=79,4 (16,9-372,1), $p<0,05$).

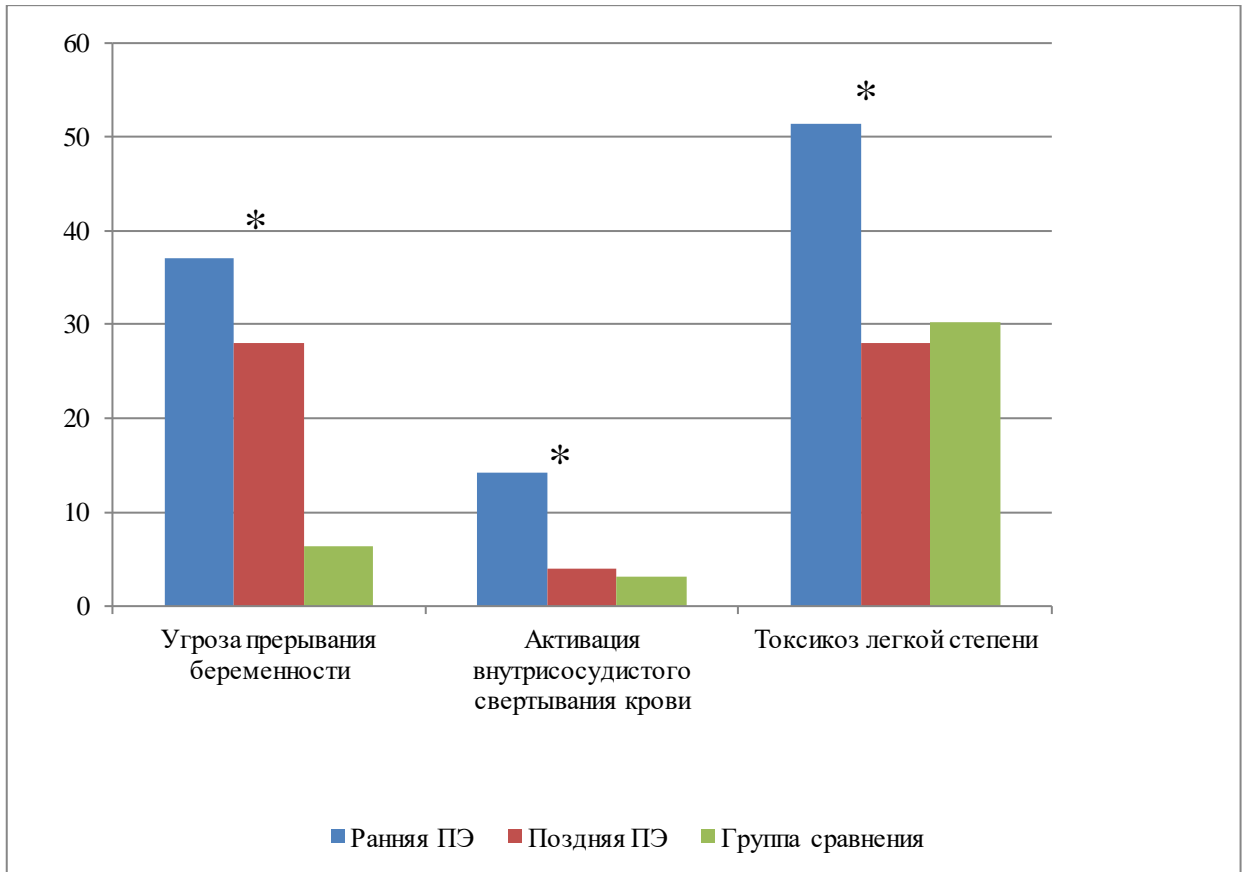


Рисунок 15. Течение I триместра беременности в подгруппе с ранней и поздней ПЭ

В течение II триместра (рисунок 16) беременности было выявлено, что анемия беременных легкой степени тяжести статистически значимо отличалась для подгруппы женщин с поздней ПЭ, что составило ($n=6$, 24%, $OR=23,7$ (4,4-125,8)), $p<0,05$. Показатель активации внутрисосудистого свертывания крови, напротив, был значим только для подгруппы пациенток с ранней формой развития ПЭ, составляя ($n=7$, 20%) ($OR=18,7$ (3,7-94,9), $p<0,005$) от общего количества в подгруппе.

Стоит отметить также, что синдром задержки роста плода и нарушения в фето-плацентарном и маточно-плацентарном кровотоке по данным доплерометрии, были характерны в 7 случаях для подгруппы с ранней ПЭ и в 2 случаях для поздней ПЭ (нарушение фето-плацентарного кровотока 1А степени). Отеки беременных были у 3 пациенток с ранней формой ПЭ и у 2 с поздней формой ПЭ. Маловодие и нулевые кровотоки в артерии пуповины плода были

диагностированы в 1 случае при ранней ПЭ. Других статистических различий в обеих подгруппах выявлено не было.

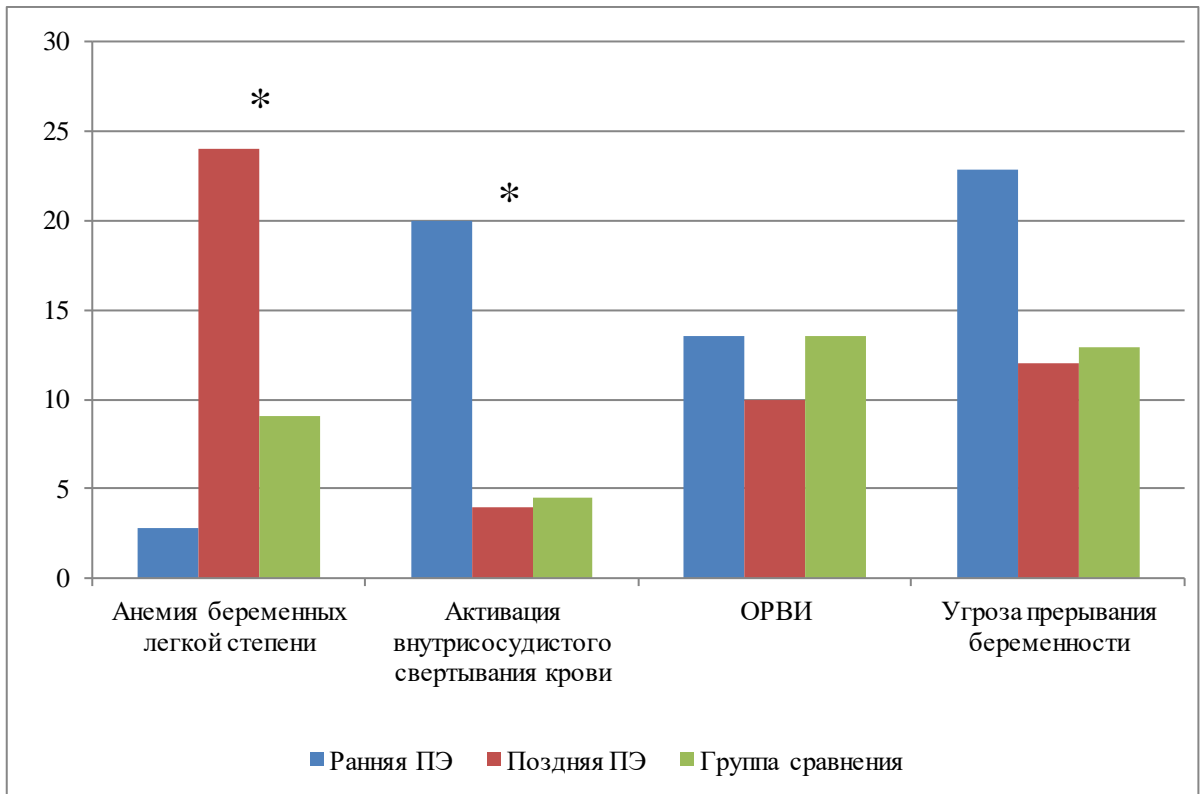


Рисунок 16. Течение II триместра беременности в подгруппе с ранней и поздней ПЭ

При анализе течения III триместра (рисунок 17) было выявлено, что статистически значимыми являлись для поздней формы ПЭ в отличие от ранней формы, такие параметры как активация внутрисосудистого свертывания крови, что составило (n=3, 12%) (OR=7,7 (0,9-62,8), $p<0,05$) и отеки беременных (n=14, 56%) (OR=4,4 (0,8-23,4), $p<0,005$).

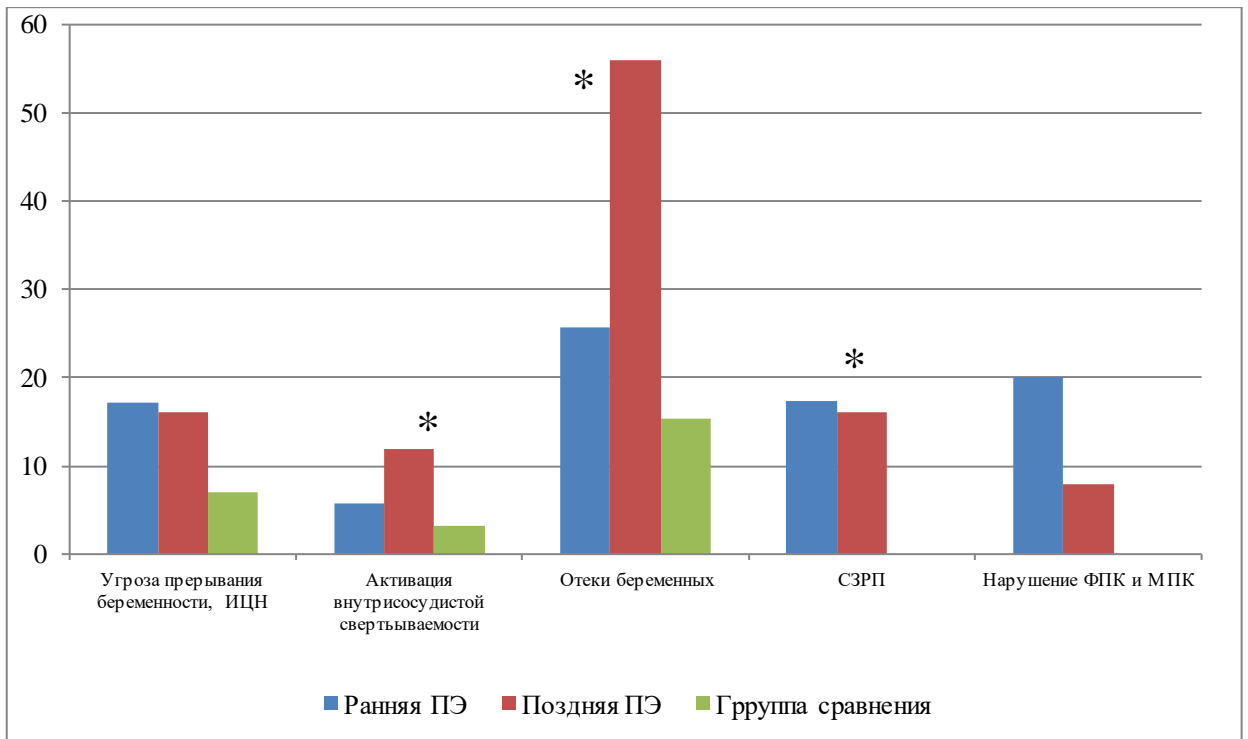


Рисунок 17. Течение III триместра беременности в подгруппе с ранней и поздней ПЭ

Следует отметить, что гестационный сахарный диабет осложнял течение беременности в 3 случаях только при поздней форме ПЭ, плацентарная недостаточность по данным ультразвукового исследования была диагностирована в 4 случаях также при поздней форме ПЭ, в 1 случае - плацентомегалия у пациентки с ранней формой ПЭ, показатели наличия синдрома задержки роста плода поделились следующим образом – 6 при ранней форме ПЭ, 4 при поздней форме ПЭ.

Изучение течения данной беременности выявило, что частота СЗРП (синдром задержки роста плода) была выше при ранней и тяжелой ПЭ по сравнению с группой II ($n=4$, 12,2%) ($OR=7,7$ (0,9-62,8), $p<0,005$) и ($n=8$, 29,5%) ($OR=5,6$ (0,6-52,5), $p<0,005$) по подгруппам соответственно, но и различалось между данными подгруппами ($p<0,005$). Анализ исходов данной беременности выявил, что значимое различие в частоте самопроизвольных родов наблюдалось только в подгруппе с ранней ПЭ ($OR=3,3$ (0,7-16,3) $p<0,005$) в сравнении с поздней ($OR=3,5$ (0,7-16,3), $p<0,005$), что обусловлено необходимостью экстренного родоразрешения в случае нарастания степени тяжести преэклампсии.

Частота экстренной операции кесарева сечения была закономерно выше у женщин подгруппы ранней ПЭ по сравнению с женщинами с физиологически протекающей беременностью (n=54, 65,1%) (OR=4,5 (1,4-9,6), p<0,005) и подгруппой поздней ПЭ (n=10, 40%) (OR=5,5 (1,8-9,2), p<0,005).

Таким образом, проведенный анализ клинико-анамнестической характеристики беременных установил статистически значимые различия, которые можно рассматривать в качестве предрасполагающих факторов риска, однако их недостаточная предиктивная способность диктует необходимость проведения исследований, направленных на поиск неинвазивных предикторов развития данного осложнения.

4.3. Изучение содержания нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов, отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношения тромбоцитов к лимфоцитам (TLR), среднего объема тромбоцитов (MPV), анизоцитоза тромбоцитов (PDW) в клиническом анализе крови женщин с преэклампсией и женщин с физиологическим течением беременности

При системном воспалительном ответе, характерном для патогенеза преэклампсии, происходит взаимная активация тромбоцитов и нейтрофилов в периферической крови перекрестными агентами. Активированные (праймированные) тромбоциты в свою очередь потенцируют нетоз нейтрофилов, что ведет к образованию NET.

Опираясь на указания об изменении показателей периферической крови при преэклампсии, мы определили содержание нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов (PLT), отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношение тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), средний объем тромбоцита (MPV), анизоцитоз тромбоцитов (PDW). Полученные результаты представлены в таблице 4 и 5.

Таблица 4 - Содержание показателей общего анализа крови у беременных с умеренной и тяжелой преэклампсией M(SD)

Параметр	Значение параметра в группе				р-значение
	В основной (n=60)	Ia (n=33)	Ib (n=27)	В группе сравнения (n=155)	
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	7,7 (3,2)	7,7 (2,8)	7,8 (3,7)	7,0 (2,4)	* 0,264 ** 0,756 *** 0,263 ****0,600
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,0 (0,7)	1,9 (0,6)	2,2 (0,8)	2,1 (0,5)	* 0,561 ** 0,221 *** 0,214 ****0,508
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	216,4 (79,3)	221,2 (86,4)	207,9 (65,3)	234,0 (54,5)	* 0,021 ** 0,668 *** 0,091 **** 0,049
NLR	4,4 (3,1)	4,7 (3,2)	3,7 (2,5)	3,7 (1,5)	* 0,173 ** 0,422 *** 0,100 ****0,806
PLR	120,4 (67,6)	121,3 (62,2)	113,20 (62,1)	121,00 (41,7)	* 0,145 ** 0,157 *** 0,757 **** 0,020
MPV, фл	11,3 (1,4)	11,3 (1,3)	11,2 (1,5)	10,7 (1,0)	* 0,003 ** 0,625 *** 0,004 ****0,146
PDW, фл	14,6 (3,4)	14,7 (3,2)	14,3 (3,8)	13,5 (2,4)	* 0,033 ** 0,339 *** 0,014 ****0,580

Примечание.

* - сравнение содержания параметра между основной и группой сравнения;

** - сравнение содержания параметра между подгруппами Ia и Ib;

*** сравнение содержания параметра между подгруппой Ia и группой сравнения;

**** сравнение содержания параметра между подгруппой Ib и группой сравнения;

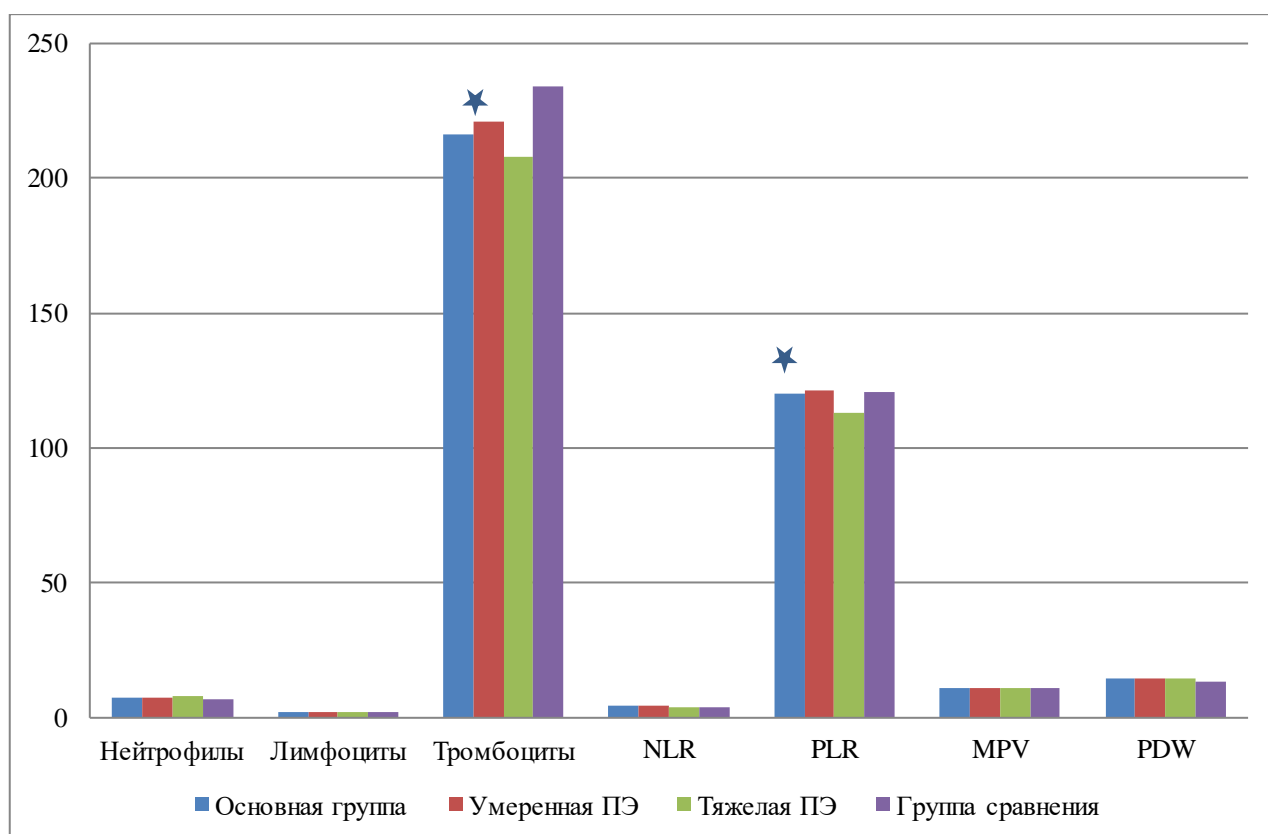


Рисунок 18. Показатели клинического анализа крови у пациенток с умеренной и тяжелой ТЭ

Результаты показали, что в крови женщин с ТЭ количество тромбоцитов было статистически значимо ниже ($p < 0,005$), а средний объем тромбоцита (MPV) и ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW) выше, чем в группе сравнения ($p < 0,005$ и $p < 0,05$ соответственно).

При разделении основной группы на подгруппы с умеренной (Ia) и тяжелой (Ib) ТЭ было показано, что уровень тромбоцитов был статистически значимо ниже только в подгруппе женщин с тяжелой формой ТЭ ($p < 0,05$). Так же отмечалось значимое снижение отношения тромбоцитов к лимфоцитам (PLR) ($p < 0,05$). При анализе подгруппы умеренной ТЭ вышеуказанные параметры не имели статистически значимых различий. Напротив, средний объем тромбоцитов (MPV) и анизоцитоз тромбоцитов (PDW) значительно отличались только для подгруппы с умеренной ТЭ по сравнению с группой сравнения ($p < 0,005$ и $p < 0,05$) соответственно. Других статистических различий выявлено не было.

В дальнейшем ходе исследования, учитывая срок манифестации ПЭ (до 34 недель гестации и после), женщины основной группы были разделены на IIIa подгруппу - ранняя ПЭ (n=35) и IIIb подгруппу - поздняя ПЭ (n=25).

Таблица 5 - Содержание показателей общего анализа крови у беременных с ранней и поздней преэклампсией M(SD)

Параметр	Значение параметра в группе				р-значение
	В основной (n=60)	Ранняя ПЭ IIIa (n=35)	Поздняя ПЭ IIIb (n=25)	В группе сравнения (n=155)	
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	7,7(3,2)	7,5(3,3)	7,9(2,9)	7,0(2,4)	* 0,264 ** 0,400 *** 0,791 **** 0,144
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,0(0,7)	2,1(0,7)	1,9(0,7)	2,1(0,5)	*0,561 ** 0,364 *** 0,839 **** 0,273
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	216,4(79,3)	219,6(79,2)	213,3(80,8)	234,0(54,5)	*0,021 ** 0,857 *** 0,102 **** 0,051
NLR	4,5(3,1)	4,1(2,7)	4,8(3,3)	3,7(1,5)	*0,145 ** 0,202 *** 0,092 **** 0,045
PLR	120,4(67,6)	120,6(75,5)	119,0(58,3)	121,0(41,7)	* 0,145 ** 0,622 *** 0,139 **** 0,432
MPV, фл	11,3(1,4)	11,1(1,3)	11,4(1,4)	10,75(1,0)	*0,003 ** 0,444 *** 0,078 **** 0,006
PDW, фл	14,6(3,4)	14,2(3,3)	14,9(3,6)	13,5(2,5)	* 0,033 ** 0,245 *** 0,373 **** 0,016

Примечание:

* - сравнение содержания параметра между основной и группой сравнения;

** - сравнение содержания параметра между подгруппами IIIa и IIIb;

*** - сравнение содержания параметра между подгруппой IIIa и группой сравнения;

**** - сравнение содержания параметра между подгруппой IIIb и группой сравнения

Как следует из представленных данных (таблица 6), только для подгруппы женщин с поздней ПЭ были выявлены достоверные различия в отношении нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) ($p < 0,05$), среднего объема тромбоцитов (MPV) и анизоцитоза тромбоцитов (PDW) ($p < 0,005$ и $p < 0,05$ соответственно).

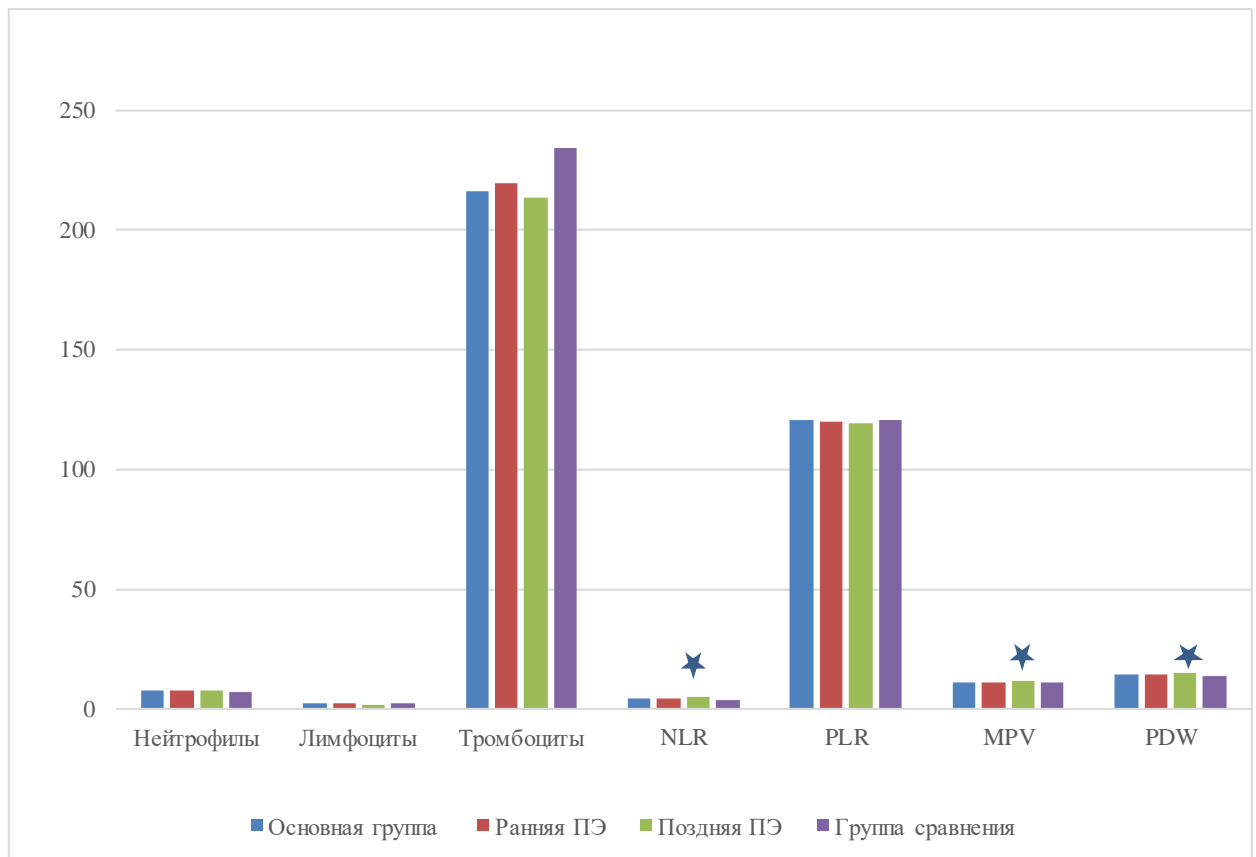


Рисунок 19. Показатели клинического анализа крови у пациенток с ранней и поздней ПЭ

4.4. Определение содержания изоформ трансформирующего фактора роста β в крови беременных с преэклампсией мультиплексным методом

При преэклампсии связь между множественными компонентами системной воспалительной реакции осуществляется с помощью различных медиаторов. Одним из них является трансформирующий фактор роста (TGF)- β , участвующий в регуляции пролиферации, инвазии и дифференцировки клеток трофобласта.

В зарубежной литературе существует мало исследований с изучением всех изоформ трансформирующего фактора роста при ПЭ, однако, есть предположения, что именно TGF- β 3 изоформа влияет на ингибирование инвазивной способности

трофобласта. С этой целью изучена роль изоформ TGF- β в развитии преэклампсии

Было показано, что в крови женщин с преэклампсией концентрация TGF- β 3 ниже по сравнению с группой сравнения ($p < 0,05$), уровни TGF- β 1 и TGF- β 2 не отличались от группы сравнения. Показано, что содержание TGF- β 3 значимо отличалось от группы сравнения только у беременных с ранней преэклампсией 38,7(8,0); 48,4(10), $p < 0,05$. Полученные результаты указывают на перспективность изучения содержания TGF- β 3 с целью прогнозирования развития преэклампсии.

Результаты изучения содержания изоформ TGF- β в плазме периферической крови исследуемых групп пациенток представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Содержание изоформ TGF- β в плазме крови M(SD)

Изоформа TGF- β	Содержание изоформы TGF- β в группах, пг/мл		р-значение
	в основной (n=30)	в группе сравнения(n=20)	
TGF- β 1	113,6(261)	292,4(602)	0,148
TGF- β 2	34,7(19,2)	49,5(38,8)	0,222
TGF- β 3	41,5(11,2)	48,4(10,6)	0,034

Результаты показали, что в крови женщин с преэклампсией концентрация TGF- β 3 ниже по сравнению с группой сравнения ($p < 0,05$), а уровни TGF- β 1 и TGF- β 2 не отличались от соответствующего уровня в группе сравнения (рисунок 21).

ROC-анализ уровня TGF- β 3 (рисунок 20) показал высокую диагностическую ценность определения TGF- β 3 женщин с ПЭ (чувствительность 78%, специфичность 66,7%, AUC=0,80). Это дает возможность предполагать, что именно TGF- β 3 изоформа играет значимую роль в патогенезе ПЭ и может являться предиктором развития заболевания.

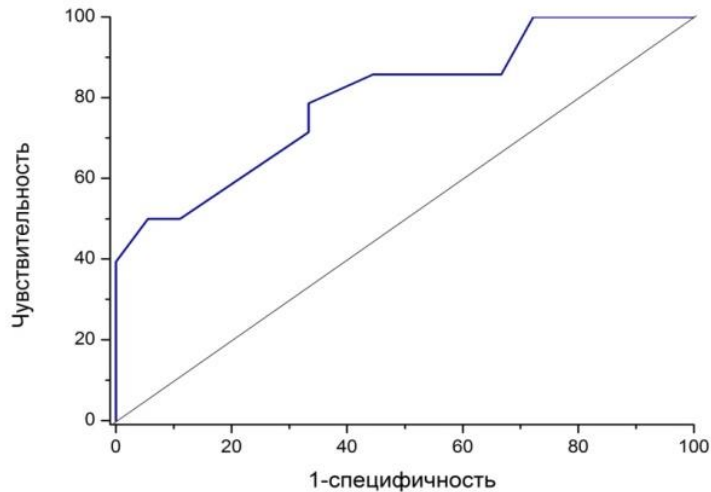


Рис. 20. ROC-кривая содержания изоформы TGF- β 3 в плазме крови у женщин с преэклампсией и в группе сравнения

Согласно общепринятым критериям основная группа была разделена на две подгруппы: Ia – с ранней преэклампсией (n=19), развивающейся до 34 недели гестации, Ib – с поздней преэклампсией (n=11). При исследовании концентрации трех изоформ TGF- β в выделенных подгруппах было показано, что содержание TGF- β 3 в подгруппе Ia по сравнению с группой сравнения было значительно ниже (рисунок 23 и таблица 7). Других статистических различий выявлено не было.

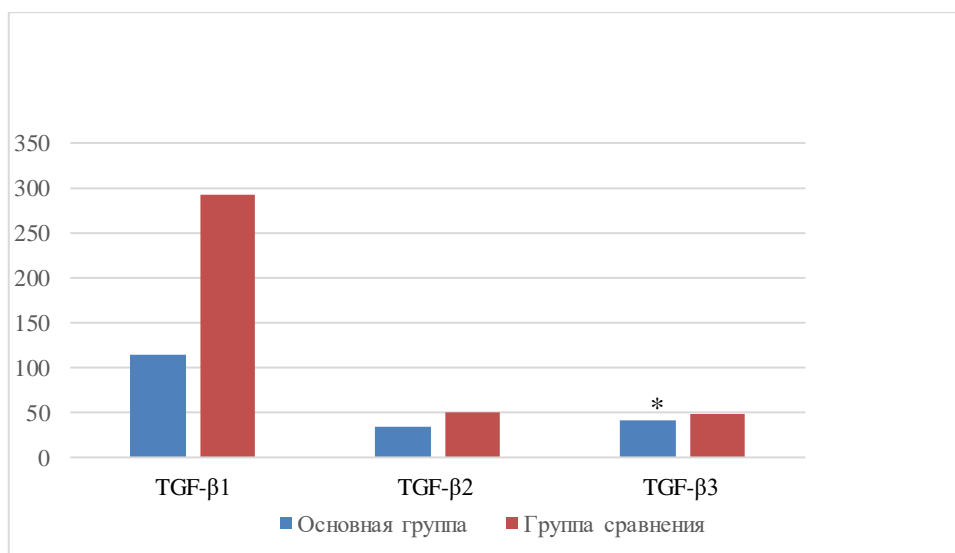


Рис 21. Содержание изоформ TGF- β в плазме крови женщин с ПЭ и в группе сравнения, пг/мл.

Таблица 7 - Концентрации изоформ TGF- β в периферической крови беременных с ранней и поздней преэклампсией M(SD)

Изоформа TGF- β	Группы исследований			p-значение
	Ia (n=19)	Ib (n=11)	Группа сравнения (n=20)	
TGF- β 1	78,5(129)	174,1(402)	292,4(602)	* 0,572 ** 0,078 *** 0,491
TGF- β 2	32,8(15,4)	38,1(24,9)	49,5(38,8)	* 0,569 ** 0,098 *** 0,337
TGF- β 3	38,7(8,00)	46,3(14,5)	48,4(10,6)	* 0,217 ** 0,008 *** 0,746

Примечание. * - сравнение концентрации изоформ TGF- β между подгруппами Ia и Ib; ** - сравнение концентрации изоформ TGF- β между подгруппами Ia и контрольной; *** - сравнение концентрации изоформ TGF- β между подгруппами Ib и контрольной.

Использование ROC-анализа показало высокую диагностическую ценность (чувствительность 94%, специфичность 60%, AUC=0,8) определения уровня TGF- β 3 для раннего прогноза развития преэклампсии (рисунок 22).

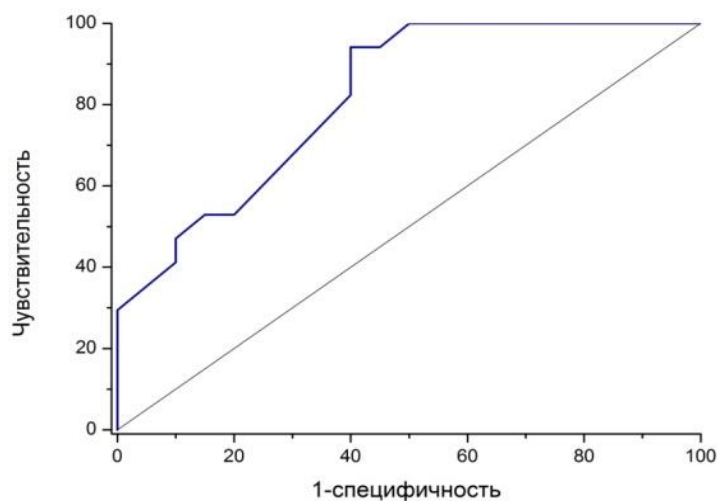


Рис. 22. ROC-кривая содержания изоформы TGF- β 3 в плазме крови у женщин с ранней преэклампсией и группе сравнения

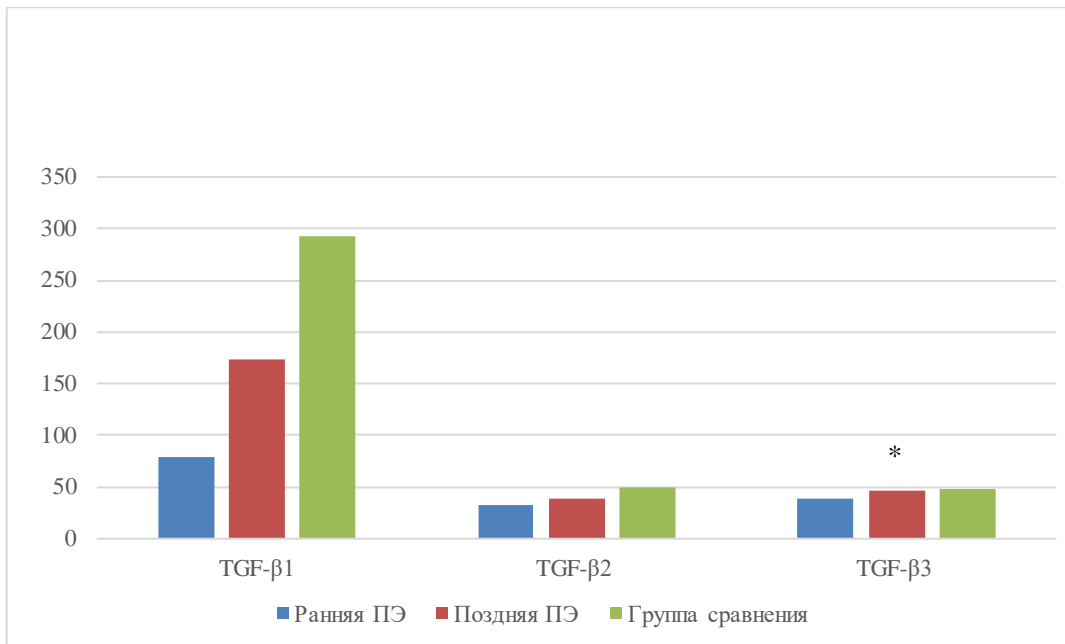


Рисунок 23. Концентрация изоформ TGF-β в плазме крови женщин с ранней и поздней ПЭ

До настоящего времени не проводилось аналогичных исследований, включающих оценку в периферической крови всех трех изоформ TGF-β.

Есть единичные работы по изучению содержания изоформы TGF-β3 при преэклампсии и при физиологической беременности. Динамика образования TGF-β3 при физиологически протекающей беременности, которая заключается в росте его экспрессии клетками плаценты примерно до 7-8 недели беременности с постепенным дальнейшим снижением. Также высока в течение первых 7 недель в хорионических ворсинах экспрессия мРНК TGF-β3, которая затем уменьшается примерно к 10 неделе.

Согласно опубликованным экспериментальным данным, изоформа TGF-β3 принимает участие в ингибировании способности трофобласта к инвазии. Обнаруженные изменения в содержании изоформы TGF-β3 при физиологически протекающей беременности могут отражать ее участие в контроле степени инвазии трофобласта.

При изучении содержания различных изоформ TGFβ в культурах эксплантов плацент женщин с преэклампсией, родоразрешенных на 30 - 32 неделе

гестации, плацент женщин с физиологически протекающей беременностью и абортного материала в сроке 5-13 недель гестации показано, что только TGF- β 3 ингибирует дифференцировку трофобластов в отношении инвазивного фенотипа в плацентарных эксплантах первого триместра.

4.5. Изучение взаимосвязи содержания преактивированных (праймированных) нейтрофилов в периферической крови беременных с преэклампсией методом хемилюминесцентного анализа

Известно, что одним из наиболее важных процессов с участием фагоцитов крови является «дыхательный взрыв», связанный с резким увеличением потребления кислорода этими клетками и генерированием супероксид анионов. Этому процессу предшествует ряд изменений, которые переводят клетки из состояния покоя в состояние преактивации (праймирования). Механизмы праймирования носят сложный характер и в полной мере изучены недостаточно. С этой целью была изучена взаимосвязь содержания преактивированных (праймированных) нейтрофилов в периферической крови беременных с преэклампсией.

В суспензиях клеток небеременных женщин отмечалось монотонное «спонтанное» увеличение образования радикалов кислорода с очень низкой скоростью. У здоровых беременных скорость возрастает в 1,3 раза ($p > 0,05$). Скорость «спонтанной» генерации радикалов кислорода резко возрастала у беременных с преэклампсией. В этой группе образование радикалов кислорода достигает максимальных значений и выходит на плато через 24 ± 7 мин. По-видимому, «спонтанное» образование радикалов обусловлено стимуляцией исходно праймированных нейтрофилов в результате их адгезии на стенках кюветы. Для проверки этого предположения к суспензиям добавляли стандартный стимулятор fMLP, который выраженным образом стимулировал генерацию радикалов кислорода нейтрофилами женщин с преэклампсией. Следует отметить, что как у небеременных женщин, так и у здоровых беременных fMLP значительно

слабее увеличивал уровень радикалов по сравнению с ответами нейтрофилов женщин с преэклампсией.

Потенцирование ответа на формил пептид на фоне «спонтанной» стимуляции нейтрофилов беременных женщин с преэклампсией свидетельствует о присутствии в их периферической крови праймированных клеток. Такой суммарный ответ позволяет предположить, что механизм стимуляции нейтрофилов в результате адгезии на стенке кюветы и при действии fMLP разный, носит аддитивный характер и осуществляется с помощью разных процессов.

Определение уровня супероксид анионов в суспензиях нейтрофилов, полученных из крови небеременных женщин, выявило увеличение его уровня со временем в пределах 1000-1500 имп/с (рис. 24-1). При преэклампсии нейтрофилы генерировали радикалы кислорода «спонтанно» и через 20-25 минут их уровень достигал максимальных значений (рис. 24-2). Отношение уровня плато радикалов «спонтанно» образуемых при преэклампсии к уровню радикалов у небеременных женщин составило ($6000 \text{ имп/с} : 1500 \text{ имп/с} = 4$). По-видимому, такое «спонтанное» образование радикалов кислорода при преэклампсии является следствием стимуляции исходно праймированных нейтрофилов в результате взаимодействия клеток со стенкой кюветы и их адгезии. У здоровых беременных нейтрофилы «спонтанно» генерировали супероксид анионы, уровни которых монотонно возрастали и на плато в среднем были равны ($x \pm s = 2090 \pm 390; n=15$), что было больше по сравнению с небеременными женщинами ($x \pm s = 1170 \pm 442; n=11$), но достоверно ниже значений, наблюдаемых в суспензиях нейтрофилов при преэклампсии ($x \pm s = 4540 \pm 913 (n=14) (p<0,05)$).

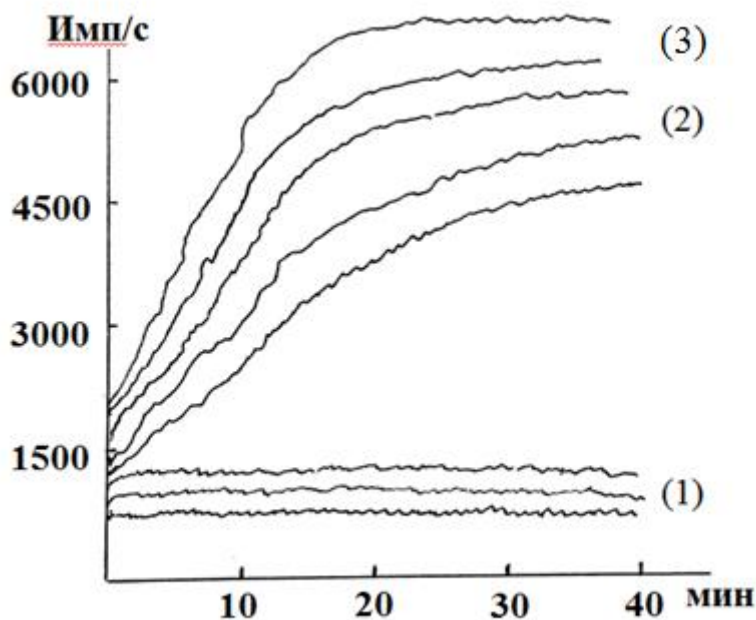


Рис. 24. «Спонтанное» образование $O_2^{\cdot-}$ нейтрофилами небеременных женщин (1), женщин с физиологическим течением беременности (2) и пациенток с ПЭ.

На следующем этапе исследования к суспензиям клеток женщин трех групп добавляли формил пептид (fMLP, 2 мкМ), который продуцируется бактериальными клетками, а также освобождается при гибели митохондрий. Кроме того, он взаимодействует на поверхности нейтрофилов с двумя типами рецепторов, сопряженных с G-белками, которые с помощью протеинкиназ передают сигнал активации на компоненты НАДФН-оксидазного ферментативного комплекса, генерирующего супероксид анионы. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что формил пептид увеличивает уровень супероксидов в суспензии нейтрофилов небеременных женщин в незначительной степени – в 1,3 раза (рис. 25; рис. 26.). Максимальный ответ на формил пептид при беременности был больше по сравнению с небеременными женщинами, но никогда не достигал значений, наблюдаемых при преэклампсии.

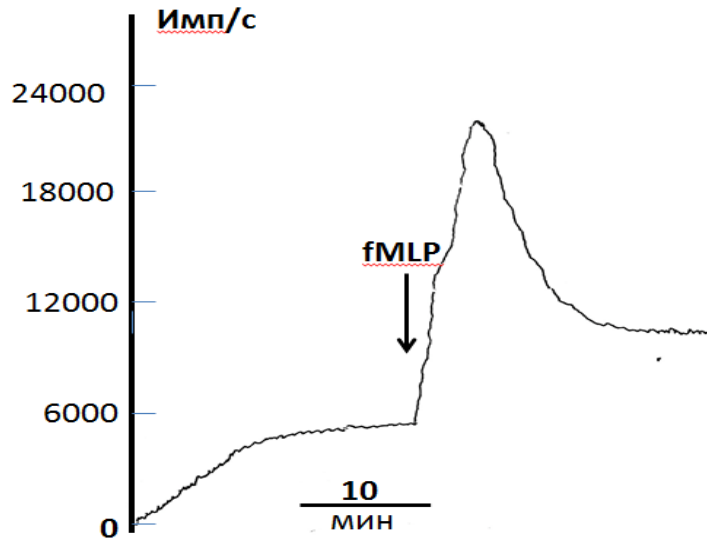


Рисунок 25. Типичный ответ нейтрофилов небеременной женщины на fMLP (2 мкМ)

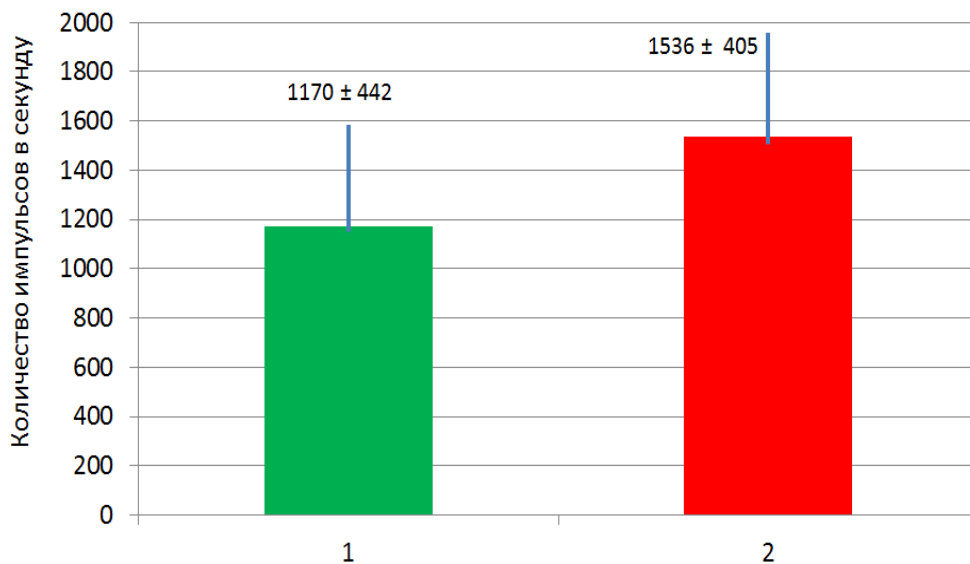


Рисунок 26. «Спонтанное» образование $O_2^{\cdot-}$ (1) и ответ на fMLP (2) нейтрофилов небеременных женщин

Кроме того, при преэклампсии после спонтанного образования супероксидов формил пептид – fMLP (2 мкМ) индуцировал выраженный «дыхательный взрыв» в суспензиях нейтрофилов. Так после достижения максимальных значений, уровень свободных радикалов снижался и выходил на некоторый постоянный уровень (рис. 27).

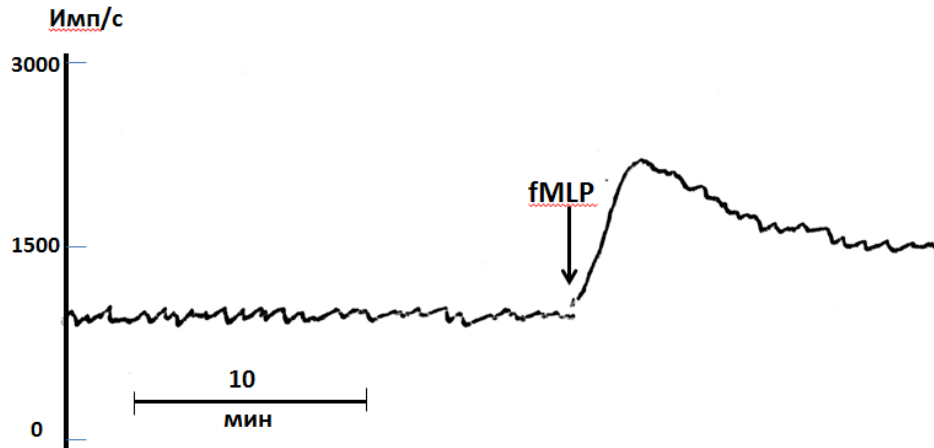


Рисунок 27. Типичное «Спонтанное» образование $O_2^{\cdot-}$ и ответ на fMLP нейтрофилов при ПЭ.

Из рисунка 28 видно, что при преэклампсии спонтанное образование радикалов кислорода выходило на плато 4540 ± 1464 имп/с ($n=14$), а формил пептид индуцировал образование радикалов кислорода до максимално уровня, равного 16267 ± 1464 имп/с ($n=14$). Также были проведены исследования по влиянию стандартных стимуляторов с разным механизмом действия на фагоциты: бактериальный пептид fMLP стимулирует эти клетки в результате взаимодействия с рецепторами, экспрессированными на поверхности клеток. Жирорастворимый агент - форболовый эфир (PMA) проникает через плазматическую мембрану клеток пассивно по градиенту концентрации и стимулирует эффекторный фермент – протеин киназу C.

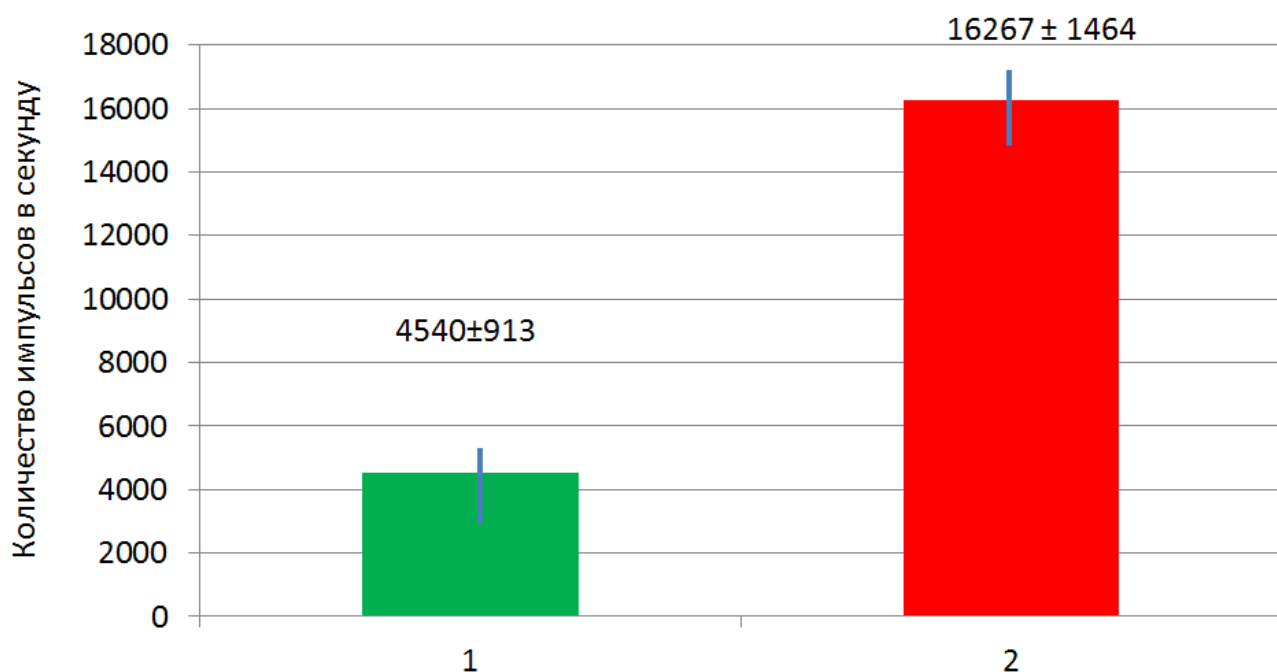


Рисунок 28. «Спонтанное» образование $O_2^{\cdot -}$ (1) и ответ на fMLP(2) нейтрофилов при преэклампсии

На рисунке 29 представлены результаты опытов по сочетанному влиянию двух стимуляторов на уровни радикалов кислорода в образцах крови беременных женщин с физиологической беременностью. Видно, что в указанных концентрациях формил пептид (0,1 мкМ) выраженным образом стимулирует увеличение супероксидов, а РМА (0,1 мкМ) слабо влиял на этот процесс.

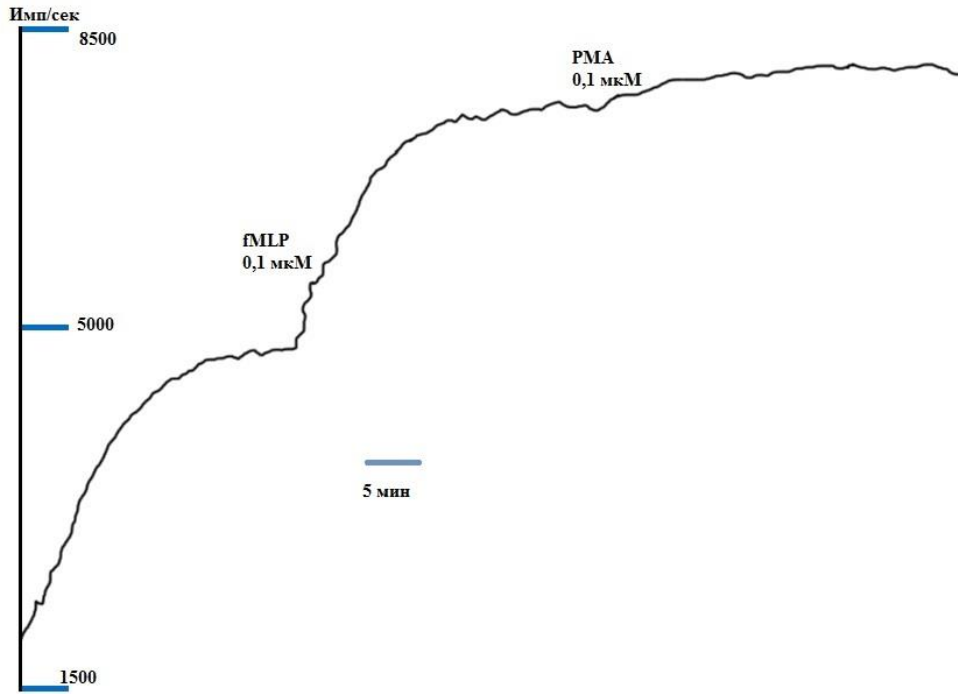


Рисунок 29. Комбинированное действие бактериального трипептида (fMLP) и форболового эфира (PMA) на образование АФК фагоцитами крови беременных женщин.

При добавлении одного форболового эфира в низкой концентрации не удалось зарегистрировать его влияния на уровень радикалов (рис 30), что позволяет предположить торможение транспорта PMA через плазматические мембраны фагоцитов при физиологической беременности.

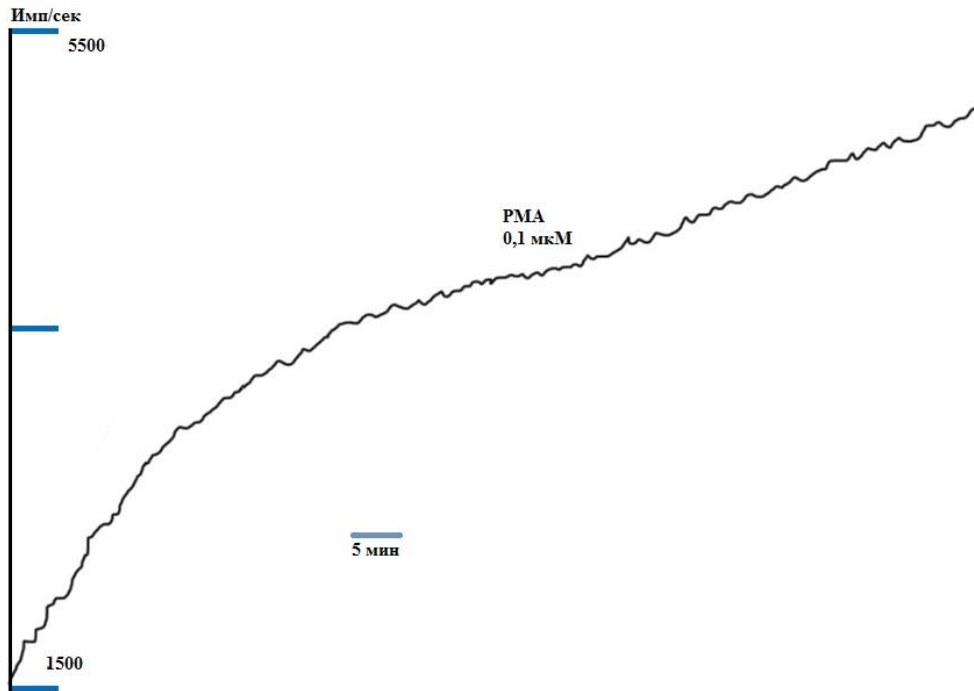


Рисунок 30. Влияние форболового эфира (PMA) на образование АФК фагоцитами крови беременных женщин.

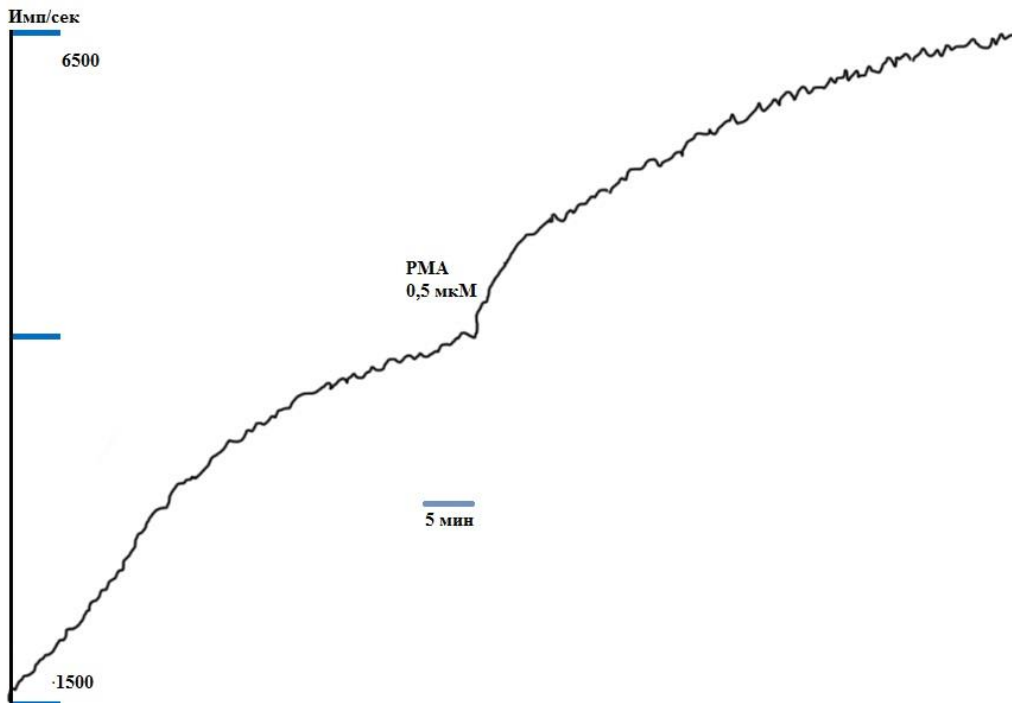


Рисунок 31. Влияние форболового эфира (PMA) на образование АФК фагоцитами крови беременных женщин.

В то же время, при увеличении концентрации, РМА начинает дозозависимым образом стимулировать генерацию радикалов кислорода (рис 31), что подтверждает наше предположение.

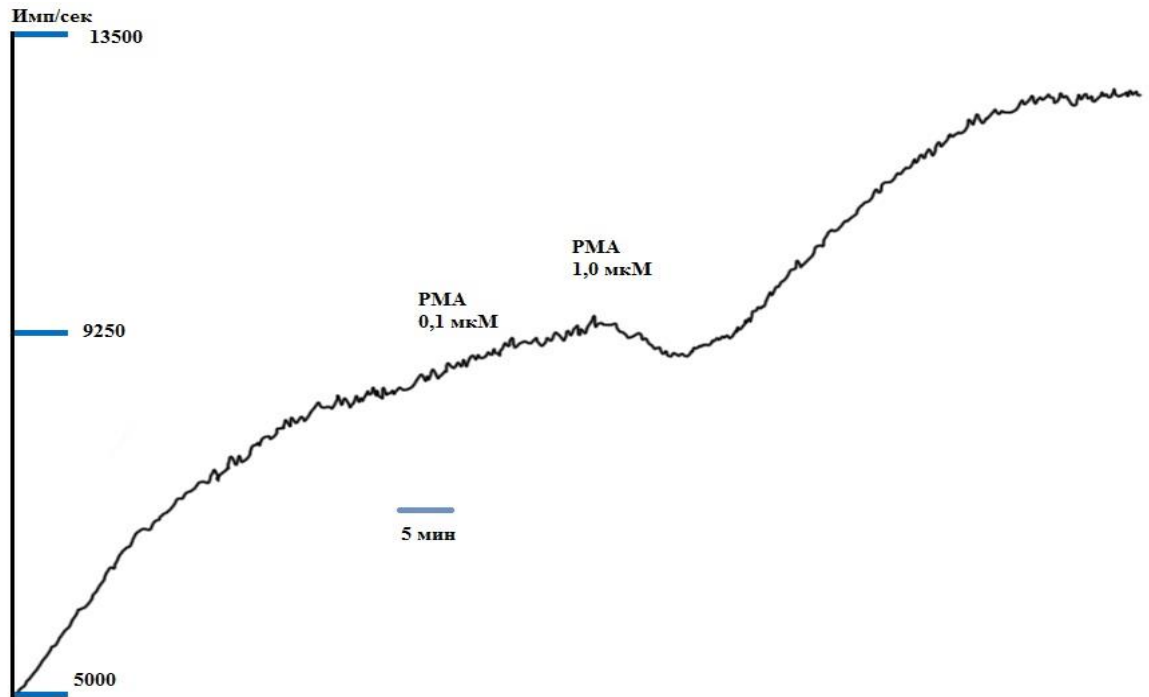


Рисунок 32. Влияние разных концентраций РМА на генерацию АФК фагоцитами крови женщины с ПЭ

Сравнительное изучение влияния разных концентраций РМА (0,1 мкМ и 1,0 мкМ) на уровень супероксидов показало достоверное увеличение образования радикалов при оптимальной концентрации РМА (1,0 мкМ), которая вызывает максимальный ответ (рис 32). Особый интерес представляло изучение влияния малых доз.

Следует особо подчеркнуть, что фагоциты крови женщин с преэклампсией отвечали на подпороговые дозы fMLP неадекватно высокой генерацией радикалов кислорода, что, по-видимому, имеет важное патогенетическое значение для возникновения данной патологии – увеличения артериального давления и повреждения почек (рисунок 33).

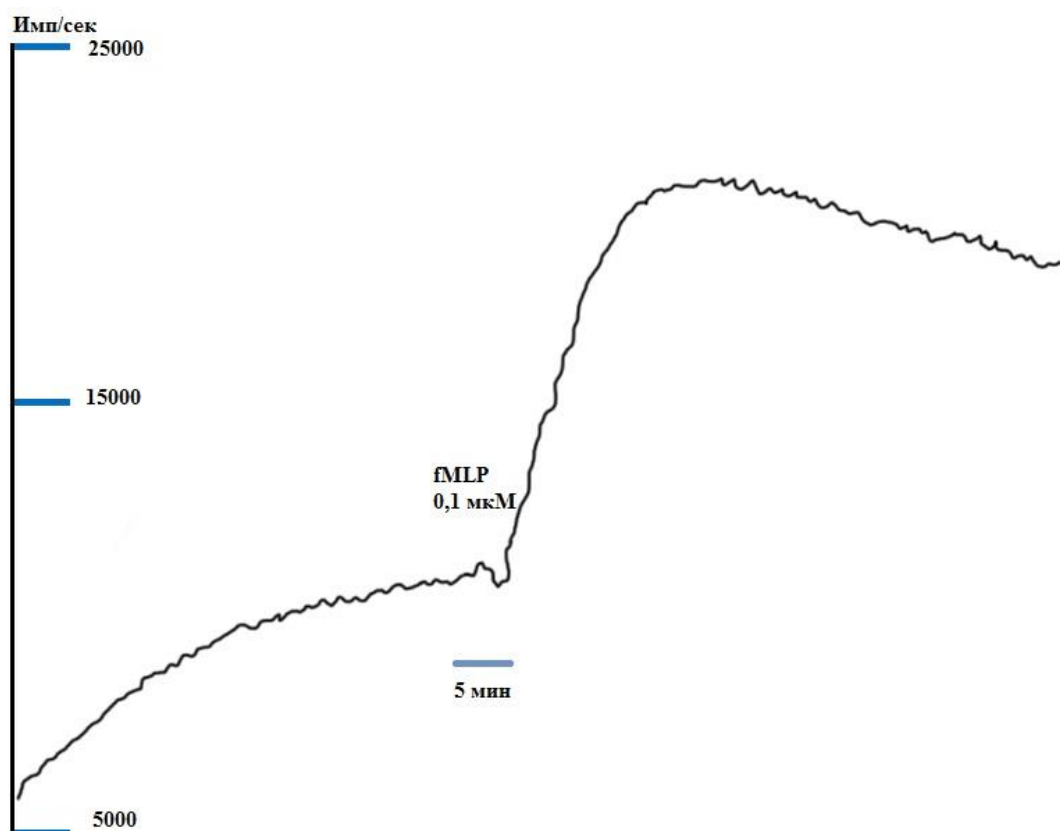


Рисунок 33. Влияние низкой концентрации fMLP на генерацию АФК фагоцитами крови женщин с ПЭ.

Сочетанная обработка фагоцитов крови пациентки с преэклампсией форболовым эфиром и бактериальным трипептидом сопровождалась резким увеличением генерации супероксидов, уровни которых достигали экстремальных значений. Столь высокие уровни радикалов кислорода при преэклампсии никогда не наблюдались в наших исследованиях при других сердечно-сосудистых патологиях (при стенокардии, инфаркте миокарда и сердечной недостаточности).

Как известно, одним из наиболее эффективных методов борьбы с неблагоприятными последствиями преэклампсии является удаление родоразрешение. Исходя из вышеизложенного, интерес представляло изучение особенностей окислительного стресса у пациенток до и после родоразрешения (рисунок 34). Результаты, наблюдаемые после кесарева сечения у одной и той же пациентки через 5 суток после операции (рисунок 36). В этот интервал времени происходит выраженное, достоверное уменьшение скорости и амплитуды ответов на стандартные стимуляторы.

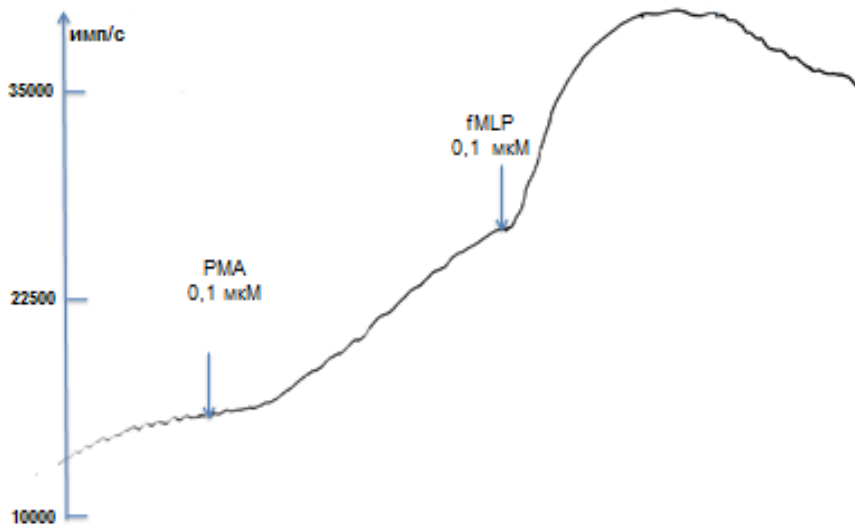


Рисунок 34. Комбинированное действие PMA и fMLP на образование радикалов кислорода фагоцитами крови пациентки с преэклампсией до кесарева сечения

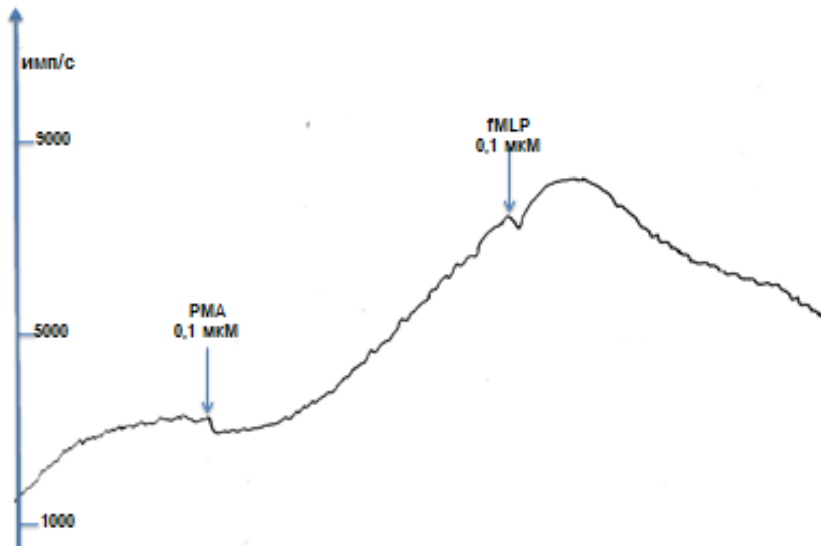


Рисунок 35. Действие PMA и fMLP на генерацию супероксидов фагоцитами крови женщины с нормальной беременностью

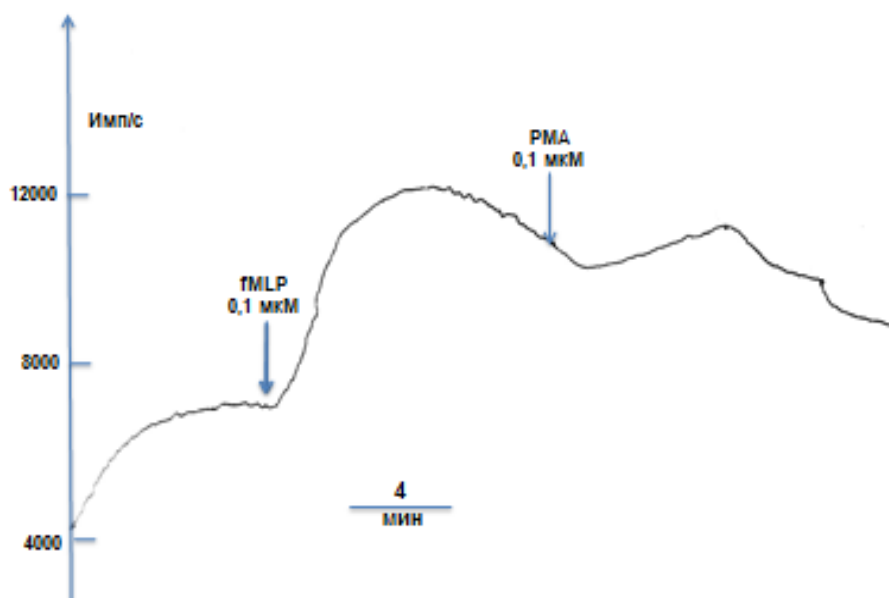


Рисунок 36. Действие fMLP и PMA на пятые сутки после кесарева сечения у женщины с преэклампсией

Полученные результаты демонстрируют увеличение в крови беременных женщин содержания преактивированных фагоцитов, о чем свидетельствует «спонтанное» образование радикалов кислорода в пробах крови, а также резкое увеличение ответа на стандартный стимулятор – формил пептид. Преактивированные (праймированные) фагоциты эффективно отвечали на субоптимальные концентрации бактериального трипептида (0,1 мкМ fMLP) и слабо реагировали на фоболовый эфир (0,1 мкМ PMA). Ответ на fMLP достигал экстремальных значений у женщин с преэклампсией.

После кесарева сечения ответы фагоцитов крови на fMLP в первые 3-5 дней снижались и стремились к ответам нормально беременных женщин. Восстановление ответа у женщин с преэклампсией на более высокие дозы PMA (1 мкМ) позволяет предположить изменение структуры мембран клеток, что затрудняет диффузию PMA к эффекторному ферменту. Предположено, что высокие уровни АФК блокируют дефосфорилирование легких цепей миозина, что способствует спазму резистентных сосудов, ответственных за увеличение АД при преэклампсии.

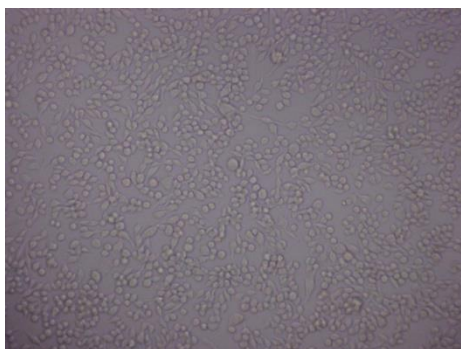
4.6. Влияние амниотической жидкости и плазмы беременных с преэклампсией на жизнеспособность и продукцию АФК клетками нейробластомы SK-N-SH.

Принимая во внимание полученные результаты, свидетельствующие о развитии неадекватного оксидативного стресса при ПЭ, интерес представляет проведение исследования о влиянии амниотической жидкости и плазмы беременных с ПЭ на жизнеспособность клеток. Полученные результаты показали, что в плазме (рисунок 37, Б) клетки агрегированы сильнее, чем в контроле. Сравнительное исследование влияния компонентов, исследованных образцов плазмы и амниотической жидкости на жизнеспособность SK-N-SH (таблица 8) показало, что плазма и амниотическая жидкость не оказывают значительного влияния (по сравнению с контрольными клетками) на жизнеспособность клеток при их культивировании (PI – положительных клеток не более ~ 10%).

Таблица 8 - Жизнеспособность клеток при воздействии плазмы крови женщин с физиологически протекающей беременностью и плазмы и амниотической жидкости беременных с ПЭ.

Жизнеспособность клеток	Контроль	Группа сравнения	Воздействие плазмы больных с ПЭ	Воздействие амниотической жидкости
	98,4% ± 1,3	95,0% ± 2,6	96,0% ± 3,2	89,5% ± 3,6

А



Б

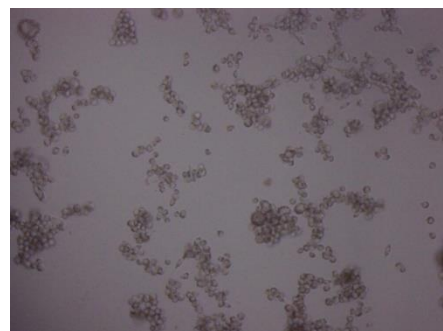


Рисунок 37. Влияние плазмы беременных женщин с ПЭ на клетки SK-N-SH
А – контроль, Б - воздействие плазмы беременных при ПЭ

Исследование влияния плазмы больных с преэклампсией на образование АФК в клетках показало, что в этом случае клетки под действием плазмы значительно сильнее активировали продукцию АФК по сравнению с контролем (рисунок 38, 3 и 1) и с действием плазмы нормально беременных женщин (рисунок 38, 3 и 2). Амниотическая жидкость беременных больных с ПЭ активировала продукцию АФК клетками в большей степени, чем плазма (рисунок 38, 4 и 3).

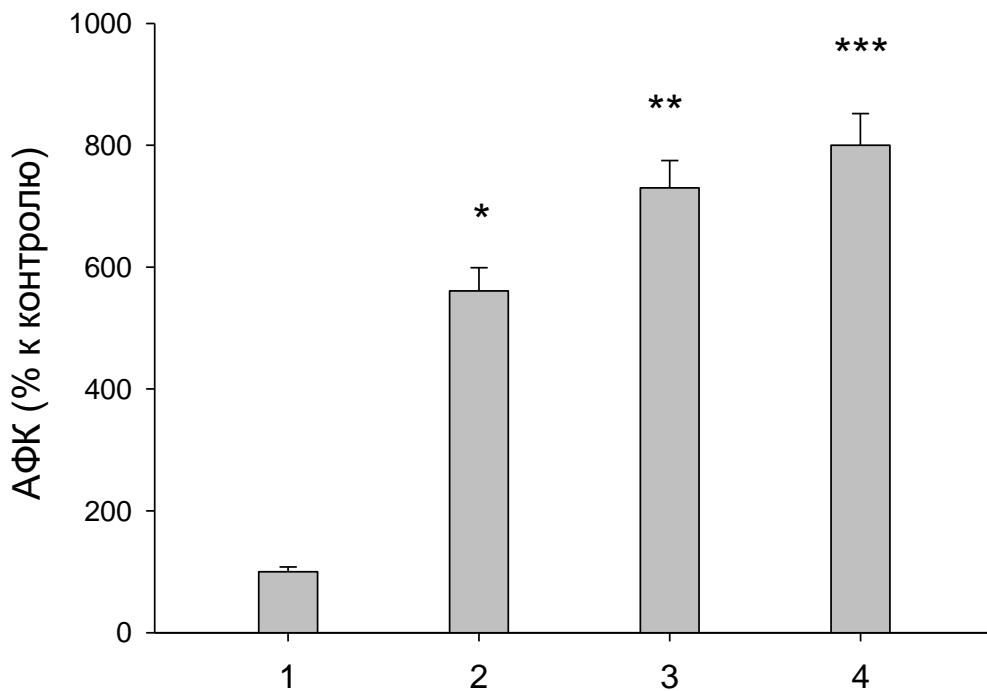


Рисунок 38. Продукция внутриклеточных АФК клетками SK-N-SH при действии плазмы и амниотической жидкости беременных женщин.

1 - контроль

2 – влияние плазмы беременных с физиологически протекающей беременностью

3 – влияние плазмы беременных с ПЭ

4 – влияние амниотической жидкости беременных с ПЭ

$p < 0,005$

Сравнение компонентов состава плазмы пациенток с преэклампсией с плазмой здоровых пациенток по данным зарубежной литературы, говорит о том, что при преэклампсии происходит увеличение содержания: $TNF\alpha$ и растворимого рецептора $TNF\alpha$. В различных клетках $TNF\alpha$ активирует оксидативный стресс, в

результате чего происходит активация НАДФН-оксидазы и, соответственно, увеличение генерации супероксид-анион радикалов. Учитывая, что в различных клетках в результате увеличения продукции радикалов кислорода происходит увеличение их апоптоза можно предположить, что это связано с действием фактора некроза опухолей и его рецептора на клетки нейробластомы. На рисунке 37 видно, что при действии плазмы (от пациенток с преэклампсией) наблюдается повышенная агрегация клеток. Нейроны гиппокампа, а также перевиваемые нейроны человека SK-N-SH экспрессируют адгезионный фактор L1. Мы предположили, что повышенная агрегированность клеток связана с увеличенной экспрессией адгезионных факторов (при действии плазмы от пациенток с преэклампсией по сравнению с группой сравнения), т.к. известно, что при преэклампсии, как было показано ранее другими авторами, происходит их увеличение на эндотелии и лейкоцитах.

Исследование влияния плазмы здоровых беременных женщин и плазмы пациенток с ПЭ показало, что эти компоненты вызывают достоверное увеличение процента клеток нейробластомы с фрагментированной ДНК. При этом максимальное увеличение апоптоза клеток происходило при культивировании клеток с плазмой беременных женщин с ПЭ (рисунок 39,2) по сравнению с группой сравнения (рисунок 39,1).

Компоненты плазмы женщин с физиологически протекающей беременностью увеличивали апоптоз клеток нейробластомы (рисунок 39, 4 и 1), но в меньшей степени, чем у больных с ПЭ (рисунок 39, 4 и 2).

Сравнительное исследование влияния плазмы крови больной с ПЭ (полученной сразу после операции и повторно через 5 и 10 дней) на апоптоз клеток SK-N-SH показало, что и первый и второй препарат плазмы вызывают значительное увеличение процента апоптоза этих клеток по сравнению с контролем. Плазма, полученная через 10 дней, вызывала несколько меньшее увеличение апоптоза по сравнению с первоначально полученной плазмой. Вероятно, что наблюдаемое снижение апоптоза связано со снижением

концентрации биологически активных соединений (активирующих апоптоз) в составе исследованных препаратов плазмы.

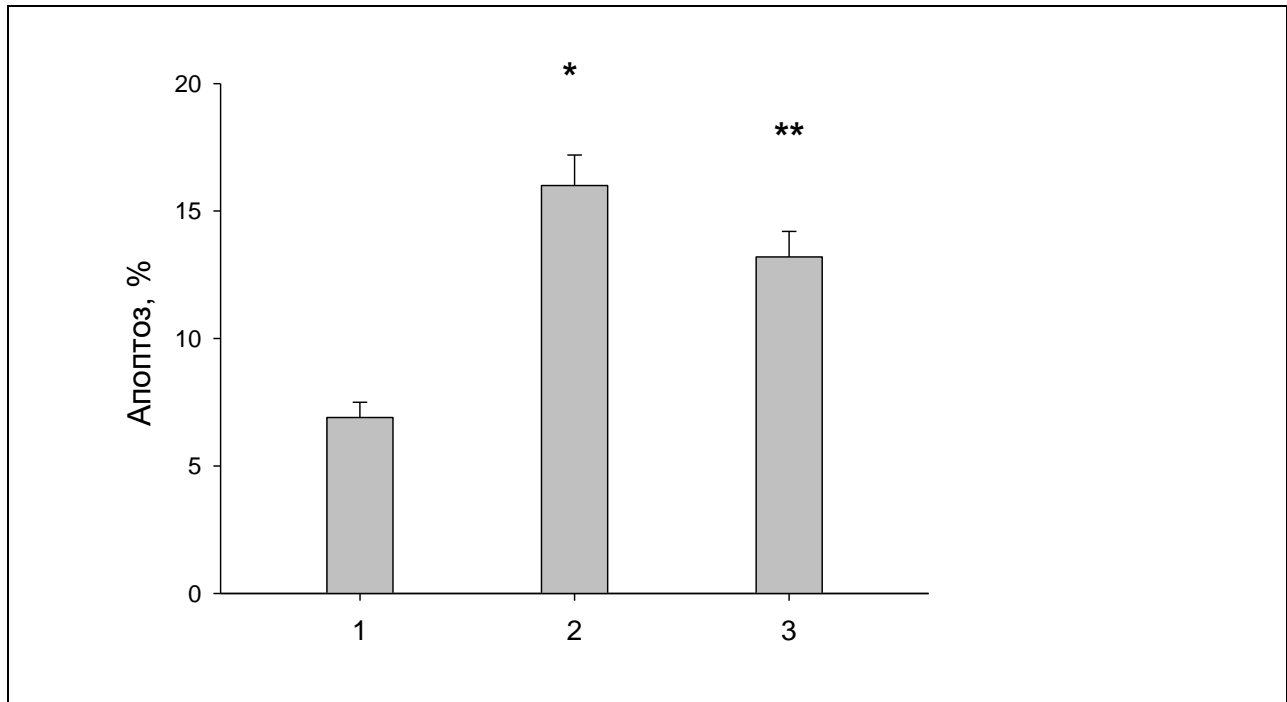


Рисунок 39. Влияние плазмы нормально беременных женщин и плазмы больных ПЭ на апоптоз клеток SK-N-SH

1 – Контрольные клетки

2 – Клетки с плазмой беременных при ПЭ

3- Клетки с плазмой при физиологической беременности

($p < 0,005$)

Полученные результаты подтверждают значимость оксидативного стресса в формировании ПЭ, что согласуется с многочисленными исследованиями. Однако стоит отметить, что обнаруженная взаимосвязь между увеличением содержания преактивированных нейтрофилов, являющихся основным генератором свободно радикального окисления и их реакция на введение индукторов и ингибиторов с изменением содержания TGF- β 3 относящегося к семейству ангиогенных факторов объясняет новые механизмы развития окислительного стресса в ответ на гипоксию и ишемию. Вместе с тем, полученные данные об изменении отношения

лейкоцитов к тромбоцитам при ПЭ, позволяют предложить их использование в качестве неинвазивных и доступных маркеров данного осложнения.

Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Преэклампсия является актуальной акушерской проблемой в связи с тяжелыми неблагоприятными исходами для матери и плода. В настоящее время принято выделять раннюю и позднюю ПЭ, что связано с их разными механизмами развития. Однако, истинное понимание механизмов, которые лежат в основе развития этих различных форм до конца не ясно. Считается, что в развитии ранних форм основным является нарушение инвазии трофобласта, поздних форм - патология плаценты. В то же время известно, что универсальным патологическим процессом в обоих случаях является оксидативный стресс. В связи с этим, по-видимому, интерес представляет изучение новых звеньев оксидативного стресса в развитии ПЭ.

Для этого нами было обследовано 2 группы пациенток, с установленным клиническим диагнозом ПЭ (ранней и поздней) и группа сравнения – с физиологически протекающей беременностью. Целью являлось уточнить имеются ли у этих пациенток особенности соматического, гинекологического статуса, течения беременности, которые могли бы помочь для выделения групп риска по развитию данных форм ПЭ.

Нами было проведено изучение клинической характеристики и было обнаружено, что пациентки основной группы были значимо старше, чем в группе сравнения ($p < 0,005$), возраст которых составлял $32 \pm 5,31$ и $29,15 \pm 4,16$ лет соответственно. ИМТ (индекс массы тела) был выше у пациенток с ПЭ ($28,41 \pm 5,02$ и $25,41 \pm 3,31$), $p < 0,05$. Таким образом, нами было показано, что возраст и ожирение являлись значимыми факторами риска развития гипертензивных расстройств при беременности, что подтверждается данными литературы [46, 198]. Стоит отметить, что наследственный анамнез пациенток основной группы достоверно чаще ($p < 0,05$) был отягощен по сердечно-сосудистым заболеваниям ($n=14$, 23,3%) ($OR=2,6$ (1,2-5,7), $p < 0,05$), что подтверждает генетическую теорию патогенеза ПЭ [77].

Следует отметить, что согласно критериям исключения, пациентки с сопутствующей хронической артериальной гипертензией и гестационной

артериальной гипертензией были исключены из нашего исследования, что объясняет отсутствие статистических различий по данной группе заболеваний. Однако, ряд ученых подчеркивает в своих исследованиях тот факт, что беременность может являться триггером при наличии эссенциальной артериальной гипертензии у матери, которая ранее не проявлялась клинически [120]. Наследственность пациенток основной группы достоверно чаще была отягощена по сердечно-сосудистым заболеваниям (гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца), составляя (n=14, 23,3%) (OR=2,6 (1,2-5,7), p<0,05). При анализе заболеваемости детскими инфекциями было показано, что ветряная оспа одинаково встречалась в группах (n=41, 65,1%) (OR=1,2 (0,6-2,4), p>0,05). Также пациентки основной группы в 1,5 раза чаще имели травмы в анамнезе (n=9, 14,3%) (OR=1,7 (0,7-4,2), p>0,05) и в 1,6 раз чаще были диагностированы мультигенные тромбофилии (n=12, 19,1%) (OR=1,8 (0,8-3,9), p>0,05) преимущественно высокого тромбогенного риска (включая в трех случаях (n=3, 25%) (OR=8,1 (0,8-80), p>0,05) Также пациентки в 1,5 раза чаще имели отягощенный аллергологический анамнез (n=15, 23,8%) (OR=1,7(0,8-3,6), p>0,05). В 1,2 раза чаще была диагностирована миопия (n=26, 41,3%) (OR=1,5(0,8-2,7), p>0,05), что потребовало лазерной коррекции зрения (LASIK). Следует отметить, что в группе сравнения чаще встречалась миопия слабой и лишь в 15 случаях миопия тяжелой степени. Однако статистических различий между группами выявлено не было.

Также наибольший интерес для нас представляло изучение заболеваний мочеполовой системы, в частности заболевания почек (n=15, 25,1%) (OR=0,1 (0,1-0,2), p>0,05)). Общеизвестным остается факт, что при данных заболеваниях уровень протеинурии, как одного из важных диагностических критериев диагностики ПЭ, может существенно изменяться. Наши группы пациенток были отобраны таким образом, чтобы нивелировать влияние данного показателя. Поэтому статистических различий между ними выявлено не было. В группе женщин с преэклампсией в 1 случае (6,6%) встречалось неполное удвоение левой почки, в 6,6% случаев был диагностирован правосторонний

нефроптоз, у 7 женщин (46,6%) хронический пиелонефрит, в 26,6% (n=4) хронический цистит и в 20% мочекаменная болезнь (n=3). В группе женщин с физиологически протекающей беременностью заболевания распределились следующим образом: у одной пациентки в анамнезе был гидронефроз правой почки, что составило 2,6 % от общей заболеваемости органов мочеполовой системы в группе, у 23 пациенток (60,5%) имелся хронический пиелонефрит, у 14 хронический цистит (5,3%) и в 1 случае удвоение левой почки в сочетании с двусторонним нефроптозом.

Особый интерес представляло изучение акушерско-гинекологического анамнеза исследуемых групп, поэтому нами были проанализированы следующие параметры: характер менструальной функции, перенесенные гинекологические оперативные вмешательства и заболевания, паритет, характеристика течения и исходы данной беременности. Например, известно, что преэклампсия прежде всего рассматривается как болезнь первой беременности, хотя профилактический эффект повторнородящих, как указано в литературе, нивелируется с изменением партнера [101]. Существует множество выявленных факторов риска, связанных именно с акушерско-гинекологическими особенностями анамнеза женщин, что позволило ряду ученых на основании этого успешно выделять группы риска по развитию ПЭ и применять некие профилактические подходы с целью улучшения материнских и перинатальных исходов [160]. В нашем исследовании преэклампсия ассоциировалась с наличием миомы матки в основной группе. Так, при изучении структуры патологии матки и придатков было выявлено, что достоверно чаще в группе женщин с ПЭ встречалась миома матки (n=10, 15,8%) (OR=4,9 (1,8-14,3), p<0,005). Наиболее частой гинекологической патологией в обеих группах являлась эктопия шейки матки (n=21, 33,3%) (OR=1,1 (0,6-2,1) p>0,05). Частота бесплодия (мужской и женский факторы) в анамнезе статистически значимо различалась между группами (n=11, 6,6%) (OR=4,7 (1,7-12,9), p<0,05). Кисты яичников были в анамнезе у 7,9% (n=5) женщин в основной группе. В группе сравнения кисты яичников встречались у 3,9%(n=6) пациенток. Vannuccini S et al. [188] указывают на то, что воспалительные, эндокринные и

метаболические механизмы, связанные с такими нарушениями, как эндометриоз, аденомиоз, синдром поликистозных яичников и миома матки связаны с увеличением частоты акушерских осложнений. Пациентки с наличием данных заболеваний должны быть отнесены в группу «с высоким риском» для неблагоприятных исходов беременности и контролироваться с помощью специализированного наблюдения. Это связано с тем, что данные нарушения имеют общие пути воспаления, гормональные aberrации, децидуальное старение и сосудистые аномалии, которые могут нарушать нормальное течение беременности с помощью общих механизмов. Как в комбинации, так и отдельно, эти нарушения приводят к повышенному риску преждевременных родов, синдрому задержки роста плода, плацентарной патологии и гипертоническим расстройствам. Системные гормональные aberrации, а также воспалительные и метаболические факторы, действующие на эндометрий, миометрий, шейку матки и плаценту, связаны с aberrантной средой во время имплантации и беременности, способствуя тем самым возникновению акушерских осложнений.

Была изучена встречаемость хронических воспалительных заболеваний органов малого таза среди двух групп пациенток. Рядом авторов предполагается, что различные микробные антигены могут приводить к выработке аутоантител, которые атакуют хозяина, в данном случае путем остановки плацентации трофобластами [82]. Сложность состоит в том, что во многих случаях фактические (и, возможно, микробные) антигены неизвестны, и ясно, что микробная индукция антител к чему-либо, что может способствовать возникновению ПЭ, что в свою очередь указывает на множественное потенциальное происхождение, которое невозможно выявить с помощью диагностических методов на этапе инициации ПЭ.

В связи с вышеизложенным интересным представлялось изучение спектра инфекционных и вирусных возбудителей в исследуемых группах пациенток. Интересно, что в нашем исследовании воспалительные заболевания, вызванные дрожжеподобными грибами рода *Candida* (тип не уточнялся) были в анамнезе у 20 (12,9%) пациенток с физиологически протекающей беременностью, что было

значимо выше, чем в основной ($n=20$, 12,9%) ($OR=0,3$ (0,1-1,0), $p<0,05$). Однако, данный факт можно объяснить тем, что при выявленном возбудителе проводилось соответствующее этиотропное лечение пациенткам, нивелируя вышеизложенный механизм образования аутоантител и последующем нарушении инвазивной способности трофобласта. Этот факт требует проведения более широкомасштабных исследований для подтверждения. Мы провели анализ и других возбудителей воспалительных заболеваний органов малого таза и влагалища. Однако статистических различий между группами выявлено не было. В остальных случаях воспалительные заболевания органов малого таза были представлены двусторонним аднекситом, хроническим сальпингоофаритом в группе женщин с ПЭ, у 5 пациенток был диагностирован острый сальпингоофарит в анамнезе, что составило 41,6% от общей частоты хронических воспалительных заболеваний органов малого таза в группе сравнения, у 16,6 % ($n=2$) течение сальпингоофарита приобрело хроническую форму, у 16,6 % ($n=2$) был установлен диагноз хронического двустороннего аднексита, у двух женщин (16,6 %) хронического эндометрита и в 1 случае хронического цервицита в сочетании с левосторонним хроническим сальпингоофаритом (8,3%).

Течение и исход настоящей беременности у обследованных женщин представляли самый большой интерес в связи с тем, что это является актуальной акушерской проблемой и именно снижение материнской заболеваемости и частоты неблагоприятных перинатальных исходов является целью проводимых исследовательских работ в этой области. Мы также изучили паритет, течение предыдущих беременностей у всех пациенток, включенных в данную работу. Важно отметить, что в анамнезе женщин основной группы в 9 раз чаще встречалась тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность, что подтверждает генетическую предрасположенность к ее развитию и соответствующую теорию патогенеза. Достоверно чаще в основной группе в анамнезе пациенток были аборты ($n=13$, 21,6%) ($OR=2,6$ (1,2-5,8), $p<0,05$). Интересно, что ряд авторов наоборот утверждает, что заживление эндометрия после искусственного прерывания беременности хирургическим путем приводит

к воспалительной реакции, которая облегчает имплантацию, усиливая децидуализацию эндометрия и снижает риски развития ПЭ [27].

Аntenатальная гибель плода была выявлена в анамнезе у 5% пациенток ($n=3$), преждевременные роды в сроке гестации от 30 недель у 8,3% ($n=5$). Не было статистической разницы между группами в наличии неразвивающейся беременности ($n=16, 10,3\%$) ($OR=5,9$ ($2,4-14,3$) $p>0,05$) и 15% ($n=9$), самопроизвольных выкидышах ($n=5, 8,3\%$) ($OR=1,32$ ($0,4-4,1$), $p>0,05$). Кесарево сечение в анамнезе основной группы выполнялось чаще, чем в группе сравнения ($n=8, 13,3\%$) ($OR=7,8$ ($1,9-30,5$), $p<0,005$). Были проанализированы данные о течении и исходе настоящей беременности, изучены перинатальные исходы в основной группе и группе сравнения. Диагноз преэклампсии был установлен согласно общепринятым критериям в $37\pm 3,9$ недель беременности в подгруппе женщин с умеренной преэклампсией и в $34,5\pm 6,1$ недель в подгруппе женщин с тяжелой ПЭ.

В основной группе I триместр беременности достоверно чаще был осложнен угрозой прерывания с образованием ретрохориальной гематомы (диагноз всем пациенткам ставился, учитывая жалобы, данные осмотра и ультразвукового исследования), составляя соответственно ($n=20, 33,3\%$) ($OR=7,3$ ($3,1-16,7$), $p<0,001$). Активация внутрисосудистого свертывания крови по данным гемостазиограммы, начиная с первых недель гестационного срока, была статистически значимо выше в основной группе ($n=6, 10\%$) ($OR=3,3$ ($0,9-11,4$) $p<0,05$). ОРВИ наблюдалось у 15 женщин в группе сравнения и 7 пациенток основной группы ($n=7, 11,7\%$) ($OR=1,2$ ($0,5-3,2$), $p>0,05$). Анемия беременных легкой степени, корригируемая приемом препаратов железа, осложняла 3,3% ($n=2$) беременностей у группы с ПЭ ($n=2, 3,3\%$) ($OR=0,7$ ($0,2-3,6$), $p>0,05$). Токсикоз легкой степени тяжести был диагностирован у 47 пациенток группы сравнения и 25 пациенток в основной группе, что составило 30,3% и 41,7% ($n=25, 41,7\%$) ($OR=1,6$ ($0,8-3,0$), $p>0,05$). Токсикоз средней степени тяжести встречался у 3 (1,9%) женщин с физиологически протекающей беременностью и у 4 (6,6%) женщин с ПЭ ($n=4, 6,6\%$) ($OR=3,6$ ($0,8-16,7$), $p>0,05$). У 1 пациентки группы

сравнения был диагностирован токсикоз тяжелой степени тяжести, в 1 случае также наблюдалось обострение генитального герпеса. Однако, статистических различий между вышеуказанными параметрами в группах выявлено не было.

Анализ данных о течении беременности во II триместре показал, что угроза прерывания беременности достоверно чаще встречалась у женщин основной группы ($n=26$, 43,5%) ($OR=3,1$ (1,6-5,8), $p<0,001$). Внутрисосудистая активация свертываемости крови также значимо различалась между группами ($n=8$, 13,3%) ($OR=3,6$ (1,2-10,4), $p<0,05$). В группе с пациентками, беременность которых осложнилась развитием ПЭ, в 6 раз чаще встречалось нарушение фето-плацентарного и маточно-плацентарного кровотоков по данным доплерометрии (у 6 пациенток, что составляло 10%, $p<0,001$), в 9 раз чаще синдром задержки роста плода (у 9 пациенток, 15% $p<0,001$). Отеки беременных манифестировали начиная уже с II триместра беременности в основной группе у 5 беременных, что составило 8,3% ($p<0,001$). В 2 случаях также в группе с ПЭ было диагностировано маловодие по данным ультразвукового исследования (3,3%, $p<0,001$) и нулевые кровотоки в артерии пуповины плода по данным ультразвуковой доплерометрии в 2 случаях (3,3%, $p<0,001$). По остальным параметрам статистических различий в группах выявлено не было. ОРВИ встречалось чаще в группе сравнения, однако, статистических различий выявлено не было ($n=21$, 13,5%) ($OR=0,7$ (0,3-1,8), $p>0,05$). Обострение бактериального вагиноза (в 5 случаях обусловленного *E.coli*) ($n=1$, 1,6%) ($OR=0,4$ (0,05-3,5), $p>0,05$). Внутривнутрипеченочных холестаза беременных был у 1 женщины в группе сравнения (0,6%). Анемия беременных легкой степени наблюдалась у 14 женщин в основной группе ($n=14$, 9%) ($OR=6,4$ (2,5-16,9), $p>0,05$). ГСД по данным ГТТ (глюкозотолерантный тест), проведенного на 28 неделе гестации, манифестировал у 8 женщин группы сравнения и 1 женщины основной группы, однако, различия не были достоверны ($n=1$, 1,6%) ($OR=0,3$ (0,1-2,5), $p>0,05$). Кроме того, в группе сравнения в 1 случае был выявлен наружный геморрой, в 1 случае бессимптомная бактериурия и в 1 случае был диагностирован аутоиммунный тиреоидит, потребовавший медикаментозной терапии.

При анализе течения III триместра беременности было выявлено, что достоверно чаще в основной группе встречалась угроза прерывания беременности (истмико-цервикальная недостаточность, акушерский пессарий (n=10, 16,6%) (OR=2,6(1,04-6,53), p=0,034). В 38,3%(n=23) в группе женщин с ПЭ были диагностированы отеки беременных (n=23, 38,3%) (OR=3,4 (1,7-6,7), p<0,001)). Также в основной группе у 3 пациенток был гестационный сахарный диабет, что составило 5% от общего количества. У 4 пациенток (6,6%) по данным ультразвуковой диагностики была диагностирована плацентарная недостаточность различной степени тяжести, у 1 пациентки плацентомегалия (1,6%), у 10 пациенток впервые выявлен синдром задержки роста плода, у 1 пациентки внутрипеченочный холестаз беременных (1,6%). Других статистических отличий по группам выявлено не было. ОРВИ встречался у 15 женщин в группе сравнения (n=4, 6,6%) (OR=0,7 (0,2-2,1), p>0,05). Обострение вульвовагинального кандидоза встречалось у 8 женщин группы сравнения и у 1 пациентки в основной группе, (n=1, 1,6%) (OR=0,3 (0,1-2,5), p>0,05). Примечательно, что активация внутрисосудистого свертывания крови встречалась в 2,6 раз чаще в основной группе, но не была статистически значима в III триместре беременности (n=5, 8,3%) ((OR=2,7-9,8), p>0,05). Анемия беременных легкой и средней степени тяжести была у 7 пациенток в основной группе (n=7, 11,6%) (OR=0,6 (0,3-1,5), p>0,05). Многоводие было диагностировано у 2 женщин группы сравнения, маловодие у 1.

Структура родоразрешений существенно различалась между группами. Самопроизвольные роды значимо чаще происходили в группе сравнения, что составило (n=131, 85,16%) (OR=0,1 (0,05-0,2), p<0,002). В 8 раз чаще была произведена операция кесарева сечения в экстренном порядке в группе женщин с ПЭ (n=19, 31,76%) (OR=11,5 (4,3-30,7), p<0,005) и в 6 раз чаще в плановом порядке (n=22, 36,50%) (OR=8,4 (3,6-19,2), p<0,005). Показаниями в группе сравнения для экстренного оперативного родоразрешения являлась в 3 случаях острая гипоксия плода, в 2 случаях клинически узкий таз, в 1 случае преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты. В плановом

порядке в группе сравнения операция кесарева сечения была произведена у 3 женщин - в виду наличия рубца на матке после предыдущей операции кесарево сечения и неготовностью мягких родовых путей к родам, у 3 женщин тазовое (ножное) предлежание плода мужского пола, в 2 случаях показанием служило заключения офтальмолога, у 1 пациентки порок развития половых органов, состояние после рассечения внутриматочной перегородки и в 1 случае заключение невролога. Показанием для плановой операции кесарева сечения в основной группе служило сочетание возраста женщин с соматической и гинекологической патологией пациенток, осложненным течением данной беременности (синдрома задержки роста плода, умеренная преэклампсия). В экстренном порядке операция выполнялась в виду нарастания степени тяжести ПЭ (не поддающаяся медикаментозной коррекции артериальная гипертензия, нарастание степени тяжести протеинурии) и/или в виду нарушения состояния плода по данным функциональных методов исследования.

Течение послеродового периода было без осложнений в двух сравниваемых группах, значимых различий выявлено не было. Средний объем кровопотери в основной группе составил $630,2 \pm 162,2$ мл, в группе сравнения – $490,3 \pm 212,1$ мл. Случаев послеоперационных осложнений, как в раннем, так и позднем послеродовом периодах не отмечено.

Были проанализированы перинатальные исходы в исследуемых группах. Антенатальной и интранатальной гибели плода не было ни в одной группе. В подгруппе женщин с тяжелой ПЭ умерло 4 ребенка в раннем неонатальном периоде, что было обусловлено ранними сроками родоразрешения (27 недель и 25 недель гестации), экстремально низкой массой тела при рождении (765 грамм, 565 грамм, 570 грамм и 480 грамм) и последующими осложнениями в виде врожденного сепсиса, респираторного дистресс-синдрома новорожденных, внутрижелудочковых кровоизлияний и полиорганной недостаточности.

При оценке половой принадлежности новорожденных было выявлено, что в 1,2 раза чаще в основной группе рождались мальчики ($n=31, 51,6\%$) ($OR=1,5 (0,8-2,7), p>0,05$). Значимые различия между группами наблюдались при анализе

массо-ростовых показателей новорожденных. Вес новорожденного в группе женщин с ПЭ составлял $2357,5 \pm 936,4$ грамм, тогда как в группе сравнения $3359,6 \pm 422,1$ грамм, $p < 0,005$, рост $45,2 \pm 7,09$ см и $51,6 \pm 2,07$ см по группам соответственно ($p < 0,005$). Оценка по шкале Апгар в основной группе на первой минуте составляла 8 [7:8] баллов, на пятой минуте 8 [8:8] баллов, что значимо отличалось от оценки по шкале Апгар новорожденных в группе сравнения – на первой минуте 8 [8:9] баллов, на пятой минуте 9 [9:9] баллов ($p < 0,005$).

При анализе течения неонатального периода было выявлено, что общая неонатальная заболеваемость была выше в группе женщин с ПЭ по сравнению с группой сравнения, различаясь также между подгруппами (умеренная и тяжелая ПЭ), что обусловлено, вероятно, сроками родоразрешения беременных, осложненным течением беременности.

У детей, рожденных от матерей с преэклампсией достоверно чаще была диагностирована врожденная пневмония, респираторный дистресс синдром новорожденных. В структуре неонатальной заболеваемости у детей, от матерей основной группы, достоверно чаще встречалась врожденная пневмония – ($n=41, 25,7\%$) ($OR=9,5 (2,1-42,8), p < 0,05$). Респираторный дистресс синдром также преобладал в основной группе новорожденных – ($n=13, 22,9\%$) ($OR=8,2 (1,8-37,2), p < 0,05$). Экстремальная низкая масса тела новорожденных при рождении также отмечалась чаще у детей от матерей с тяжелой ПЭ по сравнению с умеренной ПЭ ($n=7, 25,9\%$) ($OR=9,0(1,1-79,1) p > 0,05$). Неонатальная желтуха встречалась у новорожденных обеих групп, достоверно чаще в основной группе ($n=6, 10,8\%$) ($OR=3,3 (0,7-16,3), p > 0,05$).

Асфиксия новорожденных наблюдалась в 2,7 раз чаще в основной группе – ($n=25, 14,8\%$) ($OR=3,2 (0,8-11,8), p < 0,05$). В 5,6 раз чаще у детей от матерей с ПЭ встречалась врожденная анемия новорожденных – ($n=13, 20,3\%$) ($OR=6,97 (1,5-31,9), p < 0,05$)), а также в 6,5 раз чаще у детей от матерей с тяжелой формой ПЭ – ($OR=8,8 (1,7-44,7) p < 0,05$) и в 4,8 раз чаще у детей от матерей с умеренной ПЭ – ($OR=5,62(1,1-28,7) p < 0,05$).

Также для нас интерес представляло изучение клинико-анамнестических данных подгрупп пациенток с ранней и поздней преэклампсией в виду разного патогенетического механизма развития данных форм ПЭ. Анализ заболеваемости детскими инфекциями показал, что краснуха достоверно чаще встречалась в подгруппе женщин с ранней ПЭ в отличие от группы сравнения ($p < 0,05$) и от подгруппы с поздней ПЭ ($p < 0,05$). В исследовании, проведенном в Судане (90 женщин в каждой группе) авторы показали, что серопозитивные на вирус краснухи женщины подвержены риску развития ПЭ [44]. Мы считаем, что в этом исследовании не учитывалась разница в патогенезе этих двух форм – ранней и поздней ПЭ, что требует дальнейшего изучения, но подтверждает значимое этиопатогенетическое различие в их развитии.

Также интерес представляло изучение клинико-анамнестических данных подгрупп пациенток с ранней и поздней преэклампсией в виду разного патогенетического механизма развития данных форм ПЭ. Был проведен анализ пациенток по всем основным клинико-анамнестическим характеристикам. Однако достоверными были следующие различия: анализ заболеваемости детскими инфекциями показал, что краснуха достоверно чаще встречалась в подгруппе женщин с ранней ПЭ в отличие от группы сравнения ($n=14$, 22,5%) ($OR=3,04$ (1,10-8,39), $p=0,033$) и от подгруппы с поздней ПЭ. Других различий в соматическом анамнезе женщин выявлено не было.

При изучении гинекологического анамнеза, было выявлено достоверное увеличение частоты заболеваемости миомой матки как в подгруппе с ранней ПЭ ($n=5$, 15,7%) ($OR=2,35$ (0,24-23,21), $p=0,032$), так и в подгруппе с поздней ПЭ ($n=1,7$, 6,8%) ($OR=4,37$ (0,44-43,74), $p=0,014$). Кандидоз, как один из этиологических факторов развития хронических воспалительных заболеваний органов малого таза, встречался достоверно чаще только в подгруппе с поздней ПЭ ($n=3$, 10,8%) ($OR=6,75$ (0,8-55,7), $p=0,047$) по сравнению с группой II. Стоит отметить, что болезненные менструации чаще наблюдались лишь у женщин с поздней преэклампсией ($n=5$, 12,7%) ($OR=0,26$ (0,03-2,29), ($p=0,031$)).

Принимая во внимание различный генез развития умеренной и тяжелой формы преэклампсии, интересным представлялось изучение клинико-анамнестических характеристик пациенток данных подгрупп. Были проанализированы следующие параметры: возраст, перенесенные и сопутствующие гинекологические и соматические заболевания, перенесенные оперативные вмешательства, состояние менструальной и репродуктивной функций, течение и исход данной беременности, проводимое лечение в основной группе, перинатальные исходы. Следует отметить, что мутации полиморфизмов генов тромбофилии преимущественно высокого риска (гомозиготная мутация фактора V Лейдена) достоверно чаще встречались в подгруппе только женщин с тяжелой преэклампсией по сравнению с группой сравнения ($n=7$, 11,6%) ($OR=4,4$ (1,7-15,3), $p<0,05$) и подгруппой с умеренной преэклампсией ($n=2$, $OR=8,8$) (3,2-23,9), $p<0,05$). В гинекологическом анамнезе в подгруппах пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией достоверно чаще встречалась миома матки ($n=7$, 21,8%) ($OR=4,4$ (1,4-14,3), $p<0,05$), различия между подгруппами по данной нозологии выявлено не было.

При анализе спектра возбудителей воспалительных заболеваний мочеполовой системы было выявлено, что кандидоз достоверно чаще встречался у женщин подгруппы умеренной ПЭ ($n=10$, 16,6%) ($OR=4,1$ (1,5-14,3)), $p<0,05$) по сравнению с группой сравнения. Особый интерес всех исследователей представляет изучение акушерского анамнеза женщин. Мы также изучили паритет, течение предыдущих беременностей у всех пациенток, включенных в данную работу.

Анализ течения настоящей беременности показал, что угроза прерывания беременности I триместра была значимо чаще только у женщин с тяжелой преэклампсией в отличие от группы сравнения ($n=13$, 13,7%) ($OR=3,1$ (0,8-11,8), $p<0,05$) и также от подгруппы с умеренной ПЭ ($n=5$, 15,3%) ($OR=7,7$ (0,8-89,9), $p<0,05$). Частота самопроизвольных родов не различалась между подгруппами, однако была достоверно ниже при тяжелой и умеренной преэклампсии по сравнению с группой сравнения ($n=6$, 22,5%) ($OR=3,04$ (1,1-8,4), $p<0,05$) и ($n=7$,

16,7%) (OR=3,3 (1,1-8,3), $p<0,05$)). Плановое кесарево сечение выполнялось достоверно чаще в обеих подгруппах ($p<0,005$ и $p<0,04$ соответственно). Важно отметить, что операция кесарева сечения в экстренном порядке выполнялась достоверно чаще в подгруппах женщин с умеренной и тяжелой преэклампсией ($p<0,05$ и $p<0,005$), однако при сравнении подгрупп между собой, было выявлено значимое повышение частоты данного оперативного вмешательства именно в подгруппе с тяжелой ПЭ ($n=6$, 23,6%) (OR=0,2 (0,1-0,7), $p<0,05$)). В течение II триместра беременности, было выявлено, что анемия беременных легкой степени тяжести статистически значимо отличалась для подгруппы женщин с поздней ПЭ, что составило ($n=6$, 24%) (OR=23,7 (4,4-125,8), $p<0,05$)). Показатель активации внутрисосудистого свертывания крови, напротив, был значим только для подгруппы пациенток с ранней формой развития ПЭ ($n=7$, 20%) (OR=18,7 (3,7-94,9), $p<0,005$). Стоит отметить также, что синдром задержки роста плода и нарушения в фето-плацентарном и маточно-плацентарном кровотоке по данным доплерометрии, были характерны в 7 случаях для подгруппы с ранней ПЭ и в 2 случаях для поздней ПЭ (нарушение фето-плацентарного кровотока 1А степени). Отеки беременных были у 3 пациенток с ранней формой ПЭ и у 2 с поздней формой ПЭ. Маловодие и нулевые кровотоки в артерии пуповины плода были диагностированы в 1 случае при ранней ПЭ. Других статистических различий в обеих подгруппах выявлено не было.

При анализе течения III триместра было выявлено, что статистически значимыми для поздней формы ПЭ, в отличие от ранней формы, являлись такие параметры как активация внутрисосудистого свертывания крови, что составило ($n=3$, 12%) (OR=7,7 (0,9-62,8), $p<0,05$) и отеки беременных ($n=14$, 56%) (OR=4,4 (0,8-23,4), $p<0,005$). Следует отметить, что гестационный сахарный диабет осложнял течение беременности в 3 случаях только при поздней форме ПЭ, плацентарная недостаточность по данным ультразвукового исследования была диагностирована в 4 случаях также при поздней форме ПЭ, в 1 случае плацентомегалия у пациентки с ранней формой ПЭ, показатели наличия синдрома

задержки роста плода поделились следующим образом – 6 при ранней форме ПЭ, 4 при поздней форме ПЭ.

Изучение течения данной беременности выявило, что частота СЗРП (синдром задержки роста плода) была выше - при ранней и тяжелой ПЭ по сравнению с группой II ($n=4$, 12,2%) ($OR=7,7$ (0,9-62,8), $p<0,005$) и ($n=8$, 29,5%) ($OR=5,57$ (0,6-52,5), $p<0,005$) по подгруппам соответственно, но и различалась между данными подгруппами ($p<0,005$). Анализ исходов данной беременности выявил, что значимое различие в частоте самопроизвольных родов наблюдалось только в подгруппе с ранней ПЭ ($OR=3,31$ (0,7-16,3) $p<0,005$) , при этом различие было при сравнении с подгруппой поздней ПЭ ($OR=3,5$ (0,7-16,3), $p=0,001$), что обусловлено необходимостью экстренного родоразрешения в случае нарастания степени тяжести преэклампсии. Частота экстренной операции кесарева сечения была закономерно выше у женщин подгруппы ранней ПЭ по сравнению с женщинами с физиологически протекающей беременностью ($n=54$, 65,1%) ($OR=4,5$ (1,4-9,6), $p<0,005$) и подгруппой поздней ПЭ ($n=10$, 40%) ($OR=5,5$ (1,8-9,2), ($p<0,005$). При этом частота данного оперативного вмешательства не отличалась с подгруппой пациенток с поздней ПЭ и с группой женщин с физиологически протекающей беременностью.

Принимая во внимание различный генез развития умеренной и тяжелой формы преэклампсии, интересным представлялось изучение клинико-анамнестических характеристик пациенток данных подгрупп. При анализе данных акушерского анамнеза было показано, что группы не различались по количеству предыдущих беременностей ($2,3\pm 1,6$ и $1,8\pm 1,1$) по группам соответственно) и количеству родов ($1,6\pm 0,9$ и $1,4\pm 0,7$). Важно отметить, что в анамнезе женщин основной группы в 9 раз чаще встречалась тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность. Достоверно чаще в основной группе в анамнезе пациенток были аборт ($n=13$, 21,6%) ($OR=2,6$ (1,1-5,8) $p<0,05$), антенатальная гибель плода у 5% ($n=3$), преждевременные роды в сроке гестации от 30 недель у 8,3% ($n=5$). Не было статистической разницы между группами в наличии неразвивающейся беременности ($n=16$, 10,3%) ($OR=5,9$ (2,4-14,3), $p>0,05$)

и 15%(n=9), самопроизвольных выкидышах (n=5, 8,3%) (OR=1,3(0,4-4,1), p>0,05). Кесарево сечение в анамнезе основной группы выполнялось чаще, чем в группе сравнения (n=8, 13,3%) (OR=7,8 (1,9-30,5) p<0,005). Было показано, что только в подгруппе с умеренной преэклампсией значимо чаще в сравнении с женщинами с физиологически протекающей беременностью в соматическом анамнезе преобладали травмы (сотрясение головного мозга, перелом ключицы), p<0,05. Следует отметить, что мутации полиморфизмов генов тромбофилии преимущественно высокого риска (гомозиготная мутация фактора V Лейдена) достоверно чаще встречались в подгруппе только женщин с тяжелой преэклампсией по сравнению с группой сравнения (n=7, 11,6%) (OR=4,4 (1,7-15,3), p<0,05)) и подгруппой с умеренной преэклампсией (n=2, 11,4%) (OR=8,8 (3,2-23,9), p<0,05). В гинекологическом анамнезе в подгруппах пациенток с умеренной и тяжелой преэклампсией достоверно чаще встречалась миома матки ((n=7, 21,8%) (OR=4,4 (1,4-14,3), p<0,05)), различия между подгруппами по данной нозологии выявлено не было. При анализе спектра возбудителей воспалительных заболеваний мочеполовой системы было выявлено, что кандидоз достоверно чаще встречался у женщин подгруппы умеренной ПЭ (n=10, 16,6%) (OR=4,1 (1,5-14,3), p<0,05 по сравнению с группой сравнения. Анализ течения настоящей беременности показал, что угроза прерывания беременности I триместра была значимо чаще только у женщин с тяжелой преэклампсией в отличии от группы сравнения (n=13, 13,7%) (OR=3,1 (0,8-11,8), p<0,05) и также от подгруппы с умеренной ПЭ (n=5, 15,3%) (OR=7,7 (0,8-89,9), p<0,05). Частота самопроизвольных родов не различалась между подгруппами, однако, была достоверно ниже при тяжелой и умеренной преэклампсии по сравнению с группой сравнения (n=6, 22,5%) (OR=3,1 (1,1-8,4), p<0,05)) и (n=7, 16,7%) (OR=3,3 (1,1-8,3), p<0,05) . Плановое кесарево сечение, выполнялось достоверно чаще в обеих подгруппах (p<0,005 и p<0,04 соответственно). Важно отметить, что операция кесарева сечения в экстренном порядке выполнялась достоверно чаще в подгруппах женщин с умеренной и тяжелой преэклампсией (p<0,05 и p<0,005), однако при сравнении подгрупп между собой было выявлено значимое

повышение частоты данного оперативного вмешательства именно в подгруппе с тяжелой ПЭ (n=6, 23,6%) (OR=0,2 (0,1-0,7), p<0,05)).

Также интерес представляло изучение клинико-анамнестических данных подгрупп пациенток с ранней и поздней преэклампсией в виду разного патогенетического механизма развития данных форм ПЭ. Был проведен анализ пациенток по всем основным клинико-анамнестическим характеристикам. Однако достоверными были следующие различия: анализ заболеваемости детскими инфекциями показал, что краснуха достоверно чаще встречалась в подгруппе женщин с ранней ПЭ в отличие от группы сравнения (n=14, 22,5%) (OR=3,1(1,1-8,4), p<0,05) и от подгруппы с поздней ПЭ. Других различий в соматическом анамнезе женщин выявлено не было. При изучении гинекологического анамнеза было выявлено достоверное увеличение частоты заболеваемости миомой матки как в подгруппе с ранней ПЭ (n=5, 15,7%) (OR=2,3(0,2-23,2), p<0,05), так и в подгруппе с поздней ПЭ (n=1,7, 6,7%) (OR=4,4(0,4-43,7), p<0,05). Кандидоз, как один из этиологических факторов развития хронических воспалительных заболеваний органов малого таза, встречался достоверно чаще только в подгруппе с поздней ПЭ (n=3,1, 0,8%) (OR=6,7 (0,8-55,7), p<0,05) по сравнению с группой П. Стоит отметить, что болезненные менструации чаще наблюдались лишь у женщин с поздней преэклампсией (n=5, 12,7%) (OR=0,2 (0,1-2,3), (p<0,05).

Таким образом, анализ клинической характеристики пациенток с ПЭ подтвердил значимость таких клинико-анамнестических факторов, как отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям, нарушение жирового обмена, а также наличие миомы матки. Аналогичные данные были получены при ранней и при поздней ПЭ. Вышеизложенное с одной стороны обосновывает целесообразность их использования для выделения группы риска по развитию ПЭ, с другой стороны диктует необходимость проведения исследования для выявления достоверных предикторов данного осложнения беременности.

Недостаточность клинической диагностики ПЭ требует разработки новых подходов. Существует ряд работ, привлечших наше внимание, в которых

изучение количества форменных элементов в клиническом анализе крови явилось хорошим и перспективным диагностическим подходом. Так, например, было показано, что у женщин с преэклампсией уменьшение тромбокрита (PCT) и увеличение PDW было отмечено в более высоком количестве случаев. Таким образом предполагается, что эти два индекса оценки тромбоцитов крови могут стать новым маркером для оценки неблагоприятного исхода преэклампсии, включая женщин с нормальным количеством тромбоцитов в крови. В зарубежной литературе представлено достаточное количество исследований, посвященных изучению взаимосвязи показателей периферической крови с различными патологическими процессами, в том числе и с ПЭ, однако, их результаты также остаются противоречивы.

Gogoi P et al. показали в своем исследовании, что (NLR), (PLR) и (MPV) были значимо выше у женщин с ПЭ [61], что согласуется с данными Kim MA et al., в исследовании которых уровень (MPV) был выше у женщин с тяжелой ПЭ, однако, (PLR) было значимо ниже только у женщин с умеренной ПЭ, при этом статистических различий между группой умеренной и тяжелой ПЭ по данным показателям не наблюдалось. Следует также отметить, что (MPV) увеличивался по мере прогрессирования тяжести ПЭ [172]. Кроме того было доказано, что данный показатель (MPV) значительно возрастает до 20 недели беременности в группе женщин с ПЭ по сравнению с группой сравнения. В поздние сроки беременности (NLR) и (MPV) также оказались выше, а (PLR) ниже в группе ПЭ по сравнению с группой сравнения [87, 110]. Другие авторы, наоборот, не выявили статистических различий в (NLR), но подтвердили, что (MPV) увеличивается, а (PLR) снижается при тяжелой ПЭ, что может являться полезным клиническим маркером в прогнозировании тяжести ПЭ [213]. Однако ряд авторов Yavuzcan et al. считают, что (MPV), (PLR) и (NLR) не могут быть использованы в качестве предикторов тяжести ПЭ в виду того, что уровень (MPV) не различался у пациентов с тяжелой формой ПЭ, здоровых беременных и небеременных женщин [208]. В недавнем исследовании 2018 года было показано, что показатели (MPV), (PDW), и (NLR) повышаются по мере развития ПЭ, в то время как

абсолютное количество лимфоцитов и тромбоцитов значительно ниже в группе ПЭ [174].

В нашей работе, учитывая вышеизложенное, мы также провели ретроспективное исследование по изучению данных параметров с целью выявления их предиктивной способности. Опираясь на указания об изменении показателей периферической крови при преэклампсии, мы определили содержание нейтрофилов, лимфоцитов, тромбоцитов (PLT), отношение нейтрофилов к лимфоцитам (NLR), отношение тромбоцитов к лимфоцитам (PLR), средний объем тромбоцита (MPV), анизцитоз тромбоцитов (PDW). Полученные нами результаты показали, что в крови женщин с ПЭ количество тромбоцитов было статистически значимо ниже ($p < 0,05$), а средний объем тромбоцита (MPV) и ширина распределения тромбоцитов по объему (PDW) выше, чем в группе сравнения ($p < 0,005$ и $p < 0,05$ соответственно). Однако, только для подгруппы женщин с поздней ПЭ были выявлены достоверные различия в отношении нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) ($p < 0,05$), среднего объема тромбоцитов (MPV) и анизцитоза тромбоцитов (PDW) ($p < 0,005$ и $p < 0,05$ соответственно). В нашей работе мы также получили неоднозначные результаты, так уровень тромбоцитов был ниже в группе с ПЭ, а (MPV) и (PDW) выше, чем в группе сравнения. Также было показано, что повышение показателей (NLR), (MPV) и (PDW) статистически значимо выше только в группе женщин с поздней ПЭ по сравнению с группой сравнения.

Полученные результаты, возможно, объясняются гетерогенным составом исследуемых групп, численностью выборки, фенотипическими и генетическими особенностями женщин разного этнического происхождения, методикой забора крови и многими другими сопутствующими факторами, и в то же время обосновывают целесообразность применения данных показателей в практике в виду простоты и доступности в использовании. Требуется проведение более широкомасштабных исследований, направленных на изучение параметров системы кроветворения женщин с ПЭ и физиологически протекающей беременностью.

Однако больший интерес в современной науке представляет изучение новых механизмов развития ПЭ. Появился ряд работ о значимой роли в нарушении инвазивной способности трофобласта в виду синергистического действия таких факторов, как HIF-1 α и TGF- β . По мнению ряда зарубежных авторов, особое внимание уделяется не только HIF-1 α , но и его взаимосвязи с трансформирующим фактором роста TGF- β , который представляет собой многофункциональный цитокин, участвующий в регуляции инвазии, пролиферации и дифференцировки трофобластов. Накопленные данные свидетельствуют о том, что TGF- β может быть вовлечен в патогенез ПЭ, возможно, путем активации пути эндотелиальных клеток или регуляции системного воспаления. Описаны четыре изоформы TGF- β : TGF- β 1, 2, 3 и 4 [209]. Мы также изучали три доступных в лабораторных условиях для изучения фракции TGF- β . Нами было получено, что в крови женщин с преэклампсией концентрация TGF- β 3 ниже по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$), а уровни TGF- β 1 и TGF- β 2 не отличались от соответствующего уровня в контрольной группе. ROC-анализ уровня TGF- β 3 показал высокую диагностическую ценность определения TGF- β 3 женщин с ПЭ (чувствительность 78%, специфичность 66,7%, AUC=0,80).

Это дает возможность предполагать, что именно TGF- β 3 изоформа играет значимую роль в патогенезе ПЭ и может являться предиктором развития заболевания. При исследовании концентрации трех изоформ TGF- β , в подгруппах с ранней и поздней формой ПЭ, было показано, что содержание TGF- β 3 в подгруппе женщин с ранней ПЭ по сравнению с группой сравнения было значимо ниже (38,71(8,00) и 8,42(10,60), $p < 0,05$).

Использование ROC-анализа показало высокую диагностическую ценность (чувствительность 94%, специфичность 60%, AUC=0,81) определения уровня TGF- β 3 для раннего прогноза развития преэклампсии. До настоящего времени не проводилось аналогичных исследований, включающих оценку в периферической крови трех доступных для изучения изоформ TGF- β [205]. Есть единичные работы по изучению содержания изоформы TGF- β 3 при преэклампсии и при

физиологической беременности. В работе Ganigia et al. [31] при изучении плацентарной ткани показана динамика образования TGF- β 3 при физиологически протекающей беременности, которая заключается в росте его экспрессии клетками плаценты примерно до 7-8 недели беременности с постепенным дальнейшим снижением. Также высока в течение первых 7 недель в хорионических ворсинах экспрессия мРНК TGF- β 3, которая затем уменьшается примерно к 10 неделе. Согласно опубликованным экспериментальным данным, изоформа TGF- β 3 принимает участие в ингибировании способности трофобласта к инвазии [80]. Обнаруженные изменения в содержании изоформы TGF- β 3 при физиологически протекающей беременности могут отражать ее участие в контроле степени инвазии трофобласта. При изучении содержания различных изоформ TGF- β в культурах эксплантов плацент женщин с преэклампсией, родоразрешенных на 30 - 32 неделе гестации, плацент женщин с физиологически протекающей беременностью и абортивного материала в сроке 5-13 недель гестации показано, что только TGF- β 3 ингибирует дифференцировку трофобластов в отношении инвазивного фенотипа в плацентарных эксплантах первого триместра. Клетки плацентарной ткани женщин с преэклампсией сверхэкспрессируют TGF- β 3 и проявляют гипоинвазивный фенотип *in vitro*. Дифференцировка инвазивного фенотипа может быть восстановлена в этих эксплантатах с помощью антител к TGF- β 3. В клетках хорионических ворсинок плацент женщин с физиологической беременностью наблюдался низкий уровень иммунореактивности TGF- β 3, а в образцах плацентарной ткани женщин с ПЭ того же срока гестации-высокий. Ингибирование экспрессии TGF- β 3 в плацентах женщин с ПЭ восстанавливает инвазивную способность трофобластов, а обработка образцов плацентарной ткани женщин с преэклампсией антителами к TGF- β 1 или TGF- β 2 не оказывало никакого влияния на формирование инвазивной способности трофобласта. Авторы делают вывод о том, что именно TGF- β 3 изоформа является регулятором дифференциации трофобластов человека в отношении инвазивного фенотипа, что необходимо для адекватной инвазии и ремоделирования спиральных артерий [31]. Некоторые авторы говорят о роли

других изоформ TGF- β в патогенезе преэклампсии. Например, в клетках трофобласта у женщин с преэклампсией по сравнению со здоровыми беременными была обнаружена повышенная экспрессия и активность циклооксигеназы-2 (COX-2). TGF- β 1 увеличивает экспрессию COX-2, активируя сигнальные пути SMAD2/3-SMAD4, а увеличение уровня COX-2 впоследствии способствует подавлению инвазии клеток трофобласта человека с помощью TGF- β 1 [99]. Таким образом было показано, что применение ингибитора рецептора TGF- β 1 отменяет его стимулирующие эффекты на экспрессию COX-2. В нашей работе мы не получили значимых различий в содержании изоформ TGF- β 1 и TGF- β 2 в плазме крови исследуемых групп пациенток, а полученные нами результаты, указывающие на снижение уровня TGF- β 3 в плазме женщин с преэклампсией могут отражать накопление этой изоформы в плацентарной ткани и свидетельствовать о ее возможной роли в патогенезе развития данного осложнения беременности, что согласуется с данными Ganigia et al. [31]. В связи с вышеуказанным, перспективным представляется определение экспрессии TGF- β 3 в качестве прогностического маркера преэклампсии уже на ранних сроках беременности.

Кроме того, существует связь с гипоксия-индуцируемым фактором-1 (HIF-1 α), состоящий из субъединиц HIF-1 α и ARNT, который активирует многие гены, вовлеченные в клеточный ответ на O₂ депривацию. HIF-1 представляет собой гетеродимерный транскрипционный фактор, состоящий из основной спирали спирали петли-Per Arnt Sim-PAS белков HIF-1 α и ядерного транслокатора арил-углеводородного рецептора (ARNT). HIF-1 опосредует транскрипционный ответ на кислородную депривацию путем связывания с элементами ответа на гипоксию (HRE) в промоторах или энхансерах генов, участвующих в гликолизе, транспорте глюкозы, эритропоэзе и ангиогенезе. Среда внутри развивающегося эмбриона представляет собой «физиологическую» гипоксию, которая активирует HIF и приводит к правильному развитию плаценты, сердечно-сосудистой системы и кроветворению (Maltepe and Simon 1998). Таким образом, O₂ действует не только как терминальный акцептор электронов в митохондриальном окислительном

фосфорилировании, но также как сигнал, ответственный за активацию фактора транскрипции. Следовательно, образование градиентов O_2 в развивающихся эмбрионах активирует экспрессию гипоксических генов в зависимости от дозы [195]. Было также показано, что экспрессия мРНК TGF- $\beta 3$ коррелировала с уровнями белка HIF-1 α . Кроме того, уровень TGF- $\beta 3$ также был повышен в условиях гипоксии. В условиях гипоксии HIF-1 α может играть доминирующую роль в регуляции активности промотора TGF- $\beta 3$. Взятые вместе, эти данные убедительно указывают на то, что вызванная гипоксией экспрессия TGF- $\beta 3$ обусловлена повышенной активностью HIF-1 α на промоторе TGF- $\beta 3$. Кроме того, проксимальный HRE в промоторе TGF- $\beta 3$ важен для активации TGF- $\beta 3$ во время гипоксии, поскольку промотор TGF- $\beta 3$ не трансактивируется гипоксией при использовании конструкции промотора-люциферазы TGF- $\beta 3$ с делецией HRE.

Плацента играет решающую роль в поддержке роста и развития плода млекопитающих. В то время как ворсинчатые клетки трофобласта регулируют обмен питательными веществами и продуктами обмена между материнской кровью и сосудами плода, клетки экстравиллезного трофобласта (EVT) проникают в децидуальные клетки и разрушают местные спиральные артерии, чтобы обеспечить доступ к материнской крови и адекватную плацентарную перфузию [141]. Однако, если нарушаются миграционные и инвазивные свойства трофобластов клеток EVT, возникают осложнения беременности, такие как преэклампсия (PE) с пониженным содержанием кислорода в организме плода и поддержка питания. Процесс инвазии EVT в первую очередь зависит от уровня кислорода. Во время ранних сроков беременности дифференцировка трофобласта происходит в условиях физиологической гипоксии, в которой локальная концентрация кислорода составляет всего 1-2%, что важно для нормального эмбрионального и плацентарного развития [66]. Приблизительно через 10–12 недель беременности, когда межворсинчатое пространство открывается для материнской крови, наблюдается повышение парциального давления O_2 . Это увеличение коррелирует со временем максимальной инвазии трофобласта в материнские децидуальные клетки, что позволяет клеткам EVT получить доступ к

материнской крови. Следовательно, инвазия трофобласта на ранних сроках беременности определяет оксигенацию плаценты, а гипоксическая среда определяет оптимальную инвазию трофобласта. Недостаточная инвазия трофобласта приводит к хронической плацентарной гипоксии на более поздних сроках беременности, что приводит к ПЭ [167], но точный механизм, с помощью которого трофобласты ощущают напряжение кислорода, все еще остается неясным. Индуцируемый гипоксией фактор-1 α (HIF-1 α) сильно повышен при ПЭ и, следовательно, может регулировать инвазивные гены. Среди этих генов TGF- β 3 является регулируемым геном HIF-1 α [201] и, по-видимому, играет главную роль в ингибировании инвазии трофобласта. TGF- β 3 является ключевым кандидатом для ингибирования инвазии трофобласта и регулируется гипоксией у плацентарных эксплантов. Исследование матрицеллюлярных молекул CYR61 и NOV впервые демонстрирует сложную гипоксическую регуляцию этих белков в клетках JEG3 хориокарциномы человека с помощью HIF-1 α и TGF- β 3 и свидетельствует об участии обоих белков в миграции и инвазии трофобластов. Кроме того, мы обнаружили другой путь регуляции внутриклеточных и секретируемых белков CYR61 и NOV при гипоксии. В отличие от секретируемых белков, оба внутриклеточных белка регулируются HIF-1 α и TGF- β 3. TGF- β 3, по-видимому, является мощным энхансером только для процесса секреции CYR61, но не NOV [141]. Вышеизложенное подтверждается в работах других исследователей. Ряд зарубежных авторов предполагает, что мониторинг экспрессии HIF-1 α и TGF- β 3 может быть полезным диагностическим маркером преэклампсии. Эти молекулы могут быть новыми мишенями для терапевтического вмешательства при преэклампсии. Также отмечено, что экспрессия TGF- β 3 повышается после индукции HIF-1 α во время воздействия гипоксии и что HIF-1 непосредственно индуцирует транскрипцию TGF- β 3. Учитывая, что низкий уровень кислорода и активация TGF- β 3 имеют решающее значение для развития плаценты, эта функция HIF-1 α может представлять собой важный механизм роста плаценты, опосредованный TGF- β 3 во время гипоксии.

Однако, учитывая, что это также обладает недостаточной предиктивной способностью, для понимания и раскрытия механизмов мы изучали нейтрофилы, тромбоциты, основываясь на их функциональном состоянии при ПЭ. Особое внимание было уделено потенциальной функциональной взаимосвязи данных форменных элементов, основываясь на данных литературы о том, что тромбоциты модулируют респираторный взрыв в лейкоцитах, выделение активных форм кислорода (АФК) и миелопероксидазы (МПО) [33,59]. Тромбоцитарный sCD40L стимулируют выработку нейтрофилами АФК [181] и тромбоцитарный HMGB1 запускают транслокацию МПО на клеточную мембрану [149, 153].

Все изменения при ПЭ по-видимому тесно связаны с формированием системного воспаления с участием фагоцитов крови (нейтрофилов и моноцитов) [70], образующих и секретирующих многочисленные провоспалительные факторы (цитокины воспаления), протеолитические ферменты и радикалы кислорода [133]. Однако следует отметить, что стимулированные фагоциты и, прежде всего, нейтрофилы участвуют не только в разрушении и удалении погибших и видоизмененных собственных клеток организма при асептическом воспалении, но и таких патофизиологических процессах, как увеличение АД, повреждение клеток клубочков и канальцев почек [148]. Одним из наиболее важных процессов с участием фагоцитов крови является «дыхательный взрыв», связанный с резким увеличением потребления кислорода этими клетками, из которого с помощью ферментативной НАДФН-оксидазной системы генерируются супероксид анионы в результате одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода [36]. «Дыхательному взрыву» предшествует ряд процессов, которые переводят клетки из состояния покоя в состояние преактивации (праймирования) [194]. Такая преактивация развивается под влиянием низких концентраций праймирующих агентов (10^{-10} - 10^{-9} М), создающих благоприятные условия для стимуляции «дыхательного взрыва» в результате последующего воздействия разрешающего агента [214]. В результате праймирования развивается сложный комплекс процессов, который заканчивается потенцированием ответа на стимулятор [122, 214, 217]. Разница в действующих

концентрациях праймирующих агентов и стимуляторов может составлять два-три порядка. Праймированные и покоящиеся фагоциты морфологически мало отличаются друг от друга. Праймированные нейтрофилы не образуют значительных количеств радикалов кислорода и не секретируют цитотоксические соединения, содержащиеся в гранулах, и могут циркулировать с током крови [214].

Механизмы праймирования носят сложный характер и в полной мере изучены недостаточно полно. В ряде исследований было предположено, что центральную роль в возникновении и развитии преэклампсии играет нарушение плацентации, гипоксически-ишемические изменения плаценты, гибель цитотрофобластов, клеток спиральных сосудов матки и клеток других видов, что сопровождается секрецией в кровь провоспалительных цитокинов, включая фактор активации тромбоцитов (PAF), TNF- α , формил пептид, образуемые не только бактериями, но и митохондриями (fMLP), эндотоксины (LPS) и др., которые первоначально праймируют нейтрофилы, а затем накапливаются и стимулируют эти клетки [56, 123, 129]. С током крови преактивированные фагоциты распространяются по всему организму, разрушают слой эндотелиальных клеток микрососудов, формируют порочные циклы, важную роль в которых играет подавление апоптоза нейтрофилов и, как следствие, увеличение продолжительности жизни этих клеток [163]. Необходимо отметить, что само праймирование, по-видимому, изменяет структуру, состав и свойства как белков (например, рецепторов), так и липидов плазматических мембран нейтрофилов, что усиливает чувствительность этих клеток к внеклеточным регуляторным воздействиям, влияющим на уровне плазматических мембран [76]. Подобные изменения, очевидно, не носят выраженного характера и развиваются до возникновения «дыхательного взрыва» вследствие адгезии нейтрофилов не только на эндотелии и других видах клеток, но и компонентах соединительной ткани и барьерах различных видов [52, 113].

Определение уровня супероксид анионов в суспензиях нейтрофилов, полученных из крови небеременных женщин, выявило увеличение его уровня со временем в пределах 1000-1500 имп/с. При преэклампсии нейтрофилы генерировали радикалы кислорода «спонтанно» и через 20-25 минут их уровень достигал максимальных значений. Отношение уровня плато радикалов «спонтанно» образуемых при преэклампсии к уровню радикалов у небеременных женщин составило 4 ($6000 \text{ имп/с} : 1500 \text{ имп/с} = 4$). По-видимому, такое «спонтанное» образование радикалов кислорода при преэклампсии является следствием стимуляции исходно праймированных нейтрофилов в результате взаимодействия клеток со стенкой кюветы и их адгезии. У здоровых беременных нейтрофилы «спонтанно» генерировали супероксид анионы, уровни которых монотонно возрастали и на плато в среднем были равны $x \pm s = 2090 \pm 390$; $n=15$, что было больше по сравнению с небеременными женщинами ($x \pm s = 1170 \pm 442$; $n=11$), но достоверно ниже значений, наблюдаемых в суспензиях нейтрофилов при преэклампсии ($x \pm s = 4540 \pm 913$ ($n=14$) ($p<0,05$)). Затем к суспензиям клеток женщин трех групп мы добавляли формил пептид (fMLP, 2 мкМ), который продуцируется бактериальными клетками, а также освобождается при гибели митохондрий [200]. Полученные нами данные указывают на то, что формил пептид увеличивает уровень супероксидов в суспензии нейтрофилов небеременных женщин в незначительной степени – в 1,3 раза. Максимальный ответ на формил пептид при беременности был больше по сравнению с небеременными женщинами, но никогда не достигал значений, наблюдаемых при преэклампсии. Кроме того, при преэклампсии после спонтанного образования супероксидов, формил пептид – fMLP (2 мкМ) индуцировал выраженный «дыхательный взрыв» в суспензиях нейтрофилов. Так после достижения максимальных значений, уровень O_2^- снижался и выходил на некоторый постоянный уровень. При преэклампсии спонтанное образование радикалов кислорода выходило на плато 4540 ± 1464 имп/с ($n=14$), а формил пептид индуцировал образование радикалов кислорода до максимально уровня, равного

16267 ± 1464 имп/с (n=14). Вышеуказанное позволяют предположить, что в крови женщин с преэклампсией имеются преактивированные нейтрофилы, которые циркулируют с током крови по организму и готовы в любой момент подвергнуться стимуляции под влиянием различных агентов. Синергистическое усиление генерации радикалов кислорода нейтрофилами, подвергшихся предварительному воздействию низких доз различных праймирующих агентов, и последующему влиянию стимулятора (эффект праймирования) имеет важное значение для функциональных ответов нейтрофилов в условиях системного воспаления. В ряде исследований было высказано предположение о том, что феномен праймирования нейтрофилов развивается задолго до начала клинического проявления симптомов преэклампсии и может быть выявлен с помощью инструментальных методов в образцах крови пациенток [56, 194]. Такое праймирование возникает под влиянием различных по своей природе агентов, которые генерируются при нарушении плацентообразования, в том числе TNF-α, LPS, IL-8, гормона лептина, частиц погибших синцитиотрофобластов и др. [56, 122, 129, 194, 214]. Результаты, полученные в работе, показывают, что часть нейтрофилов, выделенных из крови женщин с преэклампсией, находится в преактивированном (праймированном) состоянии. Следует отметить, что такие клетки не только синергистически отвечали на стандартный стимулятор – fMLP, но и «спонтанно» генерировали радикалы кислорода с большей скоростью и до более высокого уровня по сравнению с нейтрофилами, полученными от небеременных и условно здоровых беременных женщин. В качестве рабочей гипотезы было предположено, что «спонтанное» образование радикалов кислорода является следствием стимуляции исходно праймированных нейтрофилов в результате их адгезии на стенке кюветы. В пользу такого предположения свидетельствуют ранее полученные результаты, которые показали, что адгезия нейтрофилов на эндотелиальных клетках микрососудов сопровождается их обоюдной активацией, экспрессией адгезионных рецепторов и их лигандов, а также последующей стимуляцией [113]. Этот процесс подавлялся с

помощью антител против таких белков [52] и воздействия разнообразных химических агентов [113]. Более того, показано, что адгезия и активация нейтрофилов на пластике не связана с адгезивными клеточными рецепторами, а происходит по другим механизмам и примерно в два раза более выражена по сравнению с адгезией на эндотелии [52].

Для предупреждения неблагоприятного влияния неадекватно стимулированных нейтрофилов на нормальные клетки окружающих тканей, используют несколько подходов: удаление образовавшихся радикалов с помощью прямых антиоксидантов, предупреждение генерации радикалов кислорода, образуемых НАДФН-оксидазным ферментативным комплексом, с помощью агентов, нарушающих его формирование (опосредованные или косвенные антиоксиданты), снижение поступления нейтрофилов в пораженную область при подавлении их хемотаксиса или взаимодействия с эндотелиальными клетками микрососудов [200].

Все эти подходы неизбежно сопровождаются подавлением защитных эффектов нейтрофилов, что играет неблагоприятную роль, особенно при длительном их применении. Один из новых подходов связан с переводом нейтрофилов из состояния преактивации (праймирования) в состояние покоя. Важно отметить, что такой перевод не подавляет последующего повторного праймирования и полностью сохраняет весь защитный потенциал нейтрофилов. Возникновение праймирования формируется до появления клинических признаков системного воспаления, что позволяет выявлять его с помощью инструментальных методов исследования, в том числе по регистрации образования радикалов кислорода в совокупности с другими методами определения уровня и активности праймирующих агентов, включая разнообразные цитокины. Таким образом, определение маркеров системного воспаления и образования значительных количеств радикалов кислорода в процессе дыхательного взрыва в результате генерации и стимуляции праймированных клеток в крови беременных женщин *in vitro*, при исключении других потенциально возможных причин активации нейтрофилов позволяет с

определенной вероятностью выявлять беременных, угрожаемых по развитию преэклампсии. Кроме того, установленный высокий уровень свободнорадикального окисления и наличия нейтрофилов, преактивированных к респираторному взрыву, обосновывает целесообразность разработки профилактических подходов, направленных на уменьшение оксидативного стресса и предупреждение его неблагоприятных последствий.

Кроме того, принимая во внимание полученные результаты, свидетельствующие о развитии неадекватного оксидативного стресса при ПЭ, интерес представляло изучение влияния амниотической жидкости и плазмы беременных с ПЭ на жизнеспособность клеток нейробластомы. Полученные результаты показали, что в плазме крови увеличивается агрегация клеток. Сравнительное исследование влияния компонентов плазмы и амниотической жидкости на жизнеспособность SK-N-SH показало, что плазма и амниотическая жидкость не оказывают значительного влияния (по сравнению с клетками группы сравнения) на жизнеспособность клеток при их культивировании.

Исследование влияния плазмы женщин с преэклампсией на образование АФК в клетках показало, что клетки под действием плазмы значительно сильнее активировали продукцию АФК по сравнению с группой сравнения и с действием плазмы женщин с физиологически протекающей беременностью. Кроме того, амниотическая жидкость беременных с ПЭ активировала продукцию АФК клетками в большей степени, чем плазма. Сравнение компонентов состава плазмы пациенток с преэклампсией с плазмой крови у пациенток с физиологически протекающей беременностью говорит о том, что при преэклампсии происходит увеличение содержания: $\text{TNF}\alpha$ и растворимого рецептора $\text{TNF}\alpha$, что подтверждается данными исследований зарубежных авторов. $\text{TNF}\alpha$ активирует оксидативный стресс при влиянии на различные клетки, в результате чего происходит активация НАДФН-оксидазы и, соответственно, увеличение генерации супероксид-анион радикалов. Следует отметить, что в клетках в результате увеличения продукции радикалов кислорода происходит увеличение их апоптоза. Учитывая вышеизложенное, можно предположить, что это связано с

действием фактора некроза опухолей и его рецептора на клетки нейробластомы. При действии плазмы (от пациенток с преэклампсией) наблюдается повышенная агрегация клеток. Нейроны гиппокампа, а также перевиваемые нейроны человека SK-N-SH экспрессируют адгезионный фактор L1. Повышенная агрегированность клеток связана с увеличенной экспрессией адгезионных факторов (при действии плазмы от пациенток с преэклампсией по сравнению с группой сравнения). Исследование влияния плазмы здоровых беременных женщин и плазмы больных ПЭ показало, что они вызывают достоверное увеличение процента клеток нейробластомы с фрагментированной ДНК. При этом максимальное увеличение апоптоза клеток происходило при культивировании клеток с плазмой беременных женщин с ПЭ по сравнению с группой сравнения. Компоненты плазмы женщин с физиологически протекающей беременностью увеличивали апоптоз клеток нейробластомы, но в меньшей степени, чем у больных с ПЭ.

Исследование влияния плазмы крови больной с ПЭ (полученной сразу после операции и повторно через 5 дней после родоразрешения) на апоптоз клеток SK-N-SH показало, что и первый и второй препарат плазмы вызывают значительное увеличение процента апоптоза этих клеток по сравнению с группой сравнения. Следует отметить, что плазма, полученная через 10 дней после разрешения, вызывала меньшее увеличение апоптоза по сравнению с первоначально полученной плазмой у женщин с ПЭ. Вероятно, что наблюдаемое снижение апоптоза связано со снижением концентрации биологически активных соединений (активирующих апоптоз) в составе исследованных препаратов плазмы.

Полученные результаты подтверждают значимость оксидативного стресса в формировании ПЭ, что согласуется с многочисленными исследованиями. Обнаруженная взаимосвязь между увеличением содержания преактивированных нейтрофилов, являющихся основным генератором свободно радикального окисления и их реакция на введение индукторов и ингибиторов с изменением содержания TGF- β 3 относящегося к семейству ангиогенных факторов объясняет новые механизмы развития окислительного стресса в ответ на гипоксию и

ишемию. Особый интерес представляют данные о прооксидантной активности амниотической жидкости и плазмы крови беременных с ПЭ, приводящих к усилению апоптотических процессов. Вместе с тем, полученные данные об изменении отношения лейкоцитов к тромбоцитам при ПЭ, позволяют предложить их использование в качестве неинвазивных и доступных маркеров данного осложнения.

Таким образом, полученные результаты с одной стороны объясняют патогенетические аспекты развития ПЭ, с другой - определяют перспективность применения выделенных маркеров в качестве предикторов ее развития.

ВЫВОДЫ

1. К факторам риска преэклампсии относятся отягощенный семейный анамнез: заболевания сердечно-сосудистой системы (артериальная гипертензия и инфаркт миокарда) и тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность ($n=3$, 5%) ($OR=5,1$ (1,6-15,1), $p<0,005$), миома матки ($n=10$, 15,9%) ($OR=4,9$ (1,8-14,3), $p<0,005$) и первичное бесплодие ($n=4$, 6,6%) ($OR=4,7$ (1,7-12,9), $p<0,05$).

2. Течение настоящей беременности при преэклампсии характеризуется высокой частотой угрозы прерывания беременности с формированием ретрохориальной гематомы в I триместре ($n=20$, 33,3%) ($OR=2,3$ (1,09-5,03), $p<0,001$), ранним токсикозом ($n=25$, 41,7%) ($OR=1,6$ (0,8-3,0), $p>0,05$) и синдромом задержки роста плода ($n=17$, 29,5%) ($OR=5,8$ (0,6-52,5) $p<0,005$).

3. В структуре неонатальной заболеваемости при преэклампсии преобладают врожденная пневмония ($n=15$, 25,7%) ($OR=9,5$ (2,1-42,8), $p<0,05$), респираторный дистресс-синдром ($n=14$, 22,9%) ($OR=8,2$ (1,8-37,2), $p<0,05$) и экстремально низкая масса тела новорожденных ($n=15$, 25,9%) ($OR=9,0$ (1,1-79,1), $p<0,05$). При этом данная тенденция наиболее выражена при ранней преэклампсии.

4. Установлена корреляция изменений отношения нейтрофилов к лимфоцитам (NLR) ($p<0,05$), среднего объема тромбоцитов (MPV) ($p<0,005$) и анизоцитоза тромбоцитов (PDW) ($p<0,05$) при преэклампсии, что обосновывает целесообразность их определения в качестве диагностических маркеров.

5. Доказана диагностическая значимость определения концентрации TGF- $\beta 3$ при преэклампсии с чувствительностью 78%, специфичностью 66,7% ($AUC=0,80$). Уровень TGF- $\beta 3$ 41,51 пг/мл (11,21) следует считать пороговым значением для риска развития преэклампсии.

6. Преэклампсия характеризуется статистически значимым увеличением количества преактивированных нейтрофилов в плазме крови с образованием радикалов кислорода 4540 ± 1464 имп/с. Выявление праймирования,

формирующегося до появления клинических признаков системного воспаления, позволяет прогнозировать развитие данного осложнения беременности.

7. Сочетанное воздействие на фагоциты стандартных стимуляторов с разным механизмом действия - бактериального пептида (fML) и форболового эфира (PMA) сопровождается резким увеличением генерации супероксидов, уровни которых достигают максимальных значений при преэклампсии (16267 ± 1464 имп/с ($n=14$)), что характеризует развитие «дыхательного взрыва».

8. Послеоперационный период при преэклампсии характеризуется сохранением «спонтанной» генерации радикалов кислорода фагоцитами крови на FMLP в первые 5 дней после родоразрешения у женщин с ПЭ, в отличие от неосложненного течения беременности, сопровождающегося снижением ответа.

9. Плазма крови и амниотическая жидкость беременных с преэклампсией обладает прооксидантным действием, выражающимся в увеличении продукции активных форм кислорода (АФК) клетками нейробластомы, и как следствие, усилением апоптоза.

10. Родоразрешение при преэклампсии приводит к нормализации баланса про- и антиоксидантных систем, проявляющимся достоверным снижением продукции активных форм кислорода (АФК) к 5 суткам и доли апоптозных клеток к 10 суткам послеродового периода.

11. Разработанный алгоритм диагностики и прогнозирования при преэклампсии позволяет снизить акушерские осложнения и улучшить перинатальные исходы.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациенток с отягощенным семейным и акушерским анамнезом (тяжелая преэклампсия в предыдущую беременность, антенатальная гибель плода, сердечно сосудистые заболевания), миомой матки и первичным бесплодием следует относить в группу риска по развитию преэклампсии.
2. Оценка содержания преактивированных нейтрофилов в крови беременных позволяет выделить группы риска по развитию преэклампсии.
3. Определение количества тромбоцитов, среднего объем тромбоцита, ширины распределения тромбоцитов по объему (PDW) и отношения нейтрофилов к лимфоцитам целесообразно для определения степени тяжести преэклампсии.
4. Изучение концентрации TGF- β 3 при преэклампсии позволяет дифференцировать ее формы для уточнения тактики ведения беременных.
5. Ведение беременных группы риска необходимо согласно разработанному алгоритму диагностики и прогнозирования преэклампсии.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АГ	- артериальная гипертензия
АД	- артериальное давление
АЛТ	- аланинаминотрансфераза
АСТ	- аспартатаминотрансфераза
АФК	- активные формы кислорода
ВСД	- вегето-сосудистая дистония
ДАД	- диастолическое артериальное давление
ИБС	- ишемическая болезнь сердца
ИМТ	- индекс массы тела
ЛПНП	- липопротеиды низкой плотности
МПК	- маточно-плацентарный кровоток
ОАА	- отягощенный акушерский анамнез
ПН	- плацентарная недостаточность
ПЭ	- преэклампсия
ИЛ	- интерлейкин
РДС	- респираторный дистресс синдром
САД	- систолическое артериальное давление
СД	- сахарный диабет
СЗРП	- синдром задержки развития плода
УЗИ	- ультразвуковое исследование
ФПК	- фето-плацентарный кровоток
ФНО	- фактор некроза опухолей
ХАГ	- хроническая артериальная гипертензия
ADF	- аденозинфосфат
CD66b (СЕАСАМ-8)	- карциноэмбриональный антиген связанная молекула клеточной адгезии

COX-2	- циклооксигеназа 2
Ca²⁺	- кальций
E2	- простагландин E2
Eng	- эндоглин
HIF-1α	- индуцируемый гипоксией фактор
HMGB-1	- белок из группы ядерных негистоновых белков, цитокиновый медиатор
HUVECs	- клетки пупочной вены человека
ICAM -1, 2	- молекулы внутриклеточной адгезии 1 и 2
K⁺	- калий
L-arg	- L-аргинин
MDA	- малоновый диальдегид
MMP	- матриксные металлопротеиназы
MPV	- средний объем тромбоцита
MSCs	- мезенхимальные стволовые клетки
NADPH+	- никотинамид аденин
NET	- нейтрофильные экстрацеллюлярные ловушки
NO	- оксид азота
O₂	- кислород
PAPP-A	- ассоциированный с беременностью протеин А
PDW	- относительная ширина распределения тромбоцитов по объему
PLA2	- фосфолипаза A2
PLGF	- плацентарный фактор роста
PMNs	- полиморфноядерные нейтрофилы
ROS	- свободные радикалы
SMP	- стандартное отклонение
TBARS	- побочные продукты перекисного окисления

	липидов
TGF-β	- трансформирующий фактор роста β
TRAP	- тромбиновый рецептор
TXA2	- тромбоксан A2
VCAM -1	- молекулы адгезии сосудов класса 1
VEGF	- фактор роста эндотелия сосудов
eNOS	- эндотелиальная синтаза оксида азота
sFIt-1	- растворимый рецептор-1 тирозинкиназы
vWF	- фактор фон Виллебранда

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айламазян, Э.К. Комментарии к клиническому протоколу «Гипертензия во время беременности, преэклампсия, эклампсия» / Э.К. Айламазян, М. А. Репина // Журнал акушерства и женских болезней. - 2012. – Т. 61, № 5. – С. 3-9.
2. Акушерство. Национальное руководство / Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 1080 с.
3. Интернет-ресурс СИТО Medical (производитель гематологических анализаторов) [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.citomed.ru/hematology-hints.php> (Дата обращения 11.10.2019).
4. Информационный бюллетень ВОЗ №348, Ноябрь 2015 г. [Электронный ресурс] // Режим доступа. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs348/ru/> (Дата обращения 11.10.2019)
5. Клинический протокол НЦАГИП [Электронный ресурс] // Режим доступа. – URL: https://prof.ncagp.ru/index.php?_t8=43 (Дата обращения 11.10.2019).
6. Неотложная помощь в акушерстве и гинекологии / В.Н. Серов, И.И. Баранов, О.Г. Пекарев [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. – 240 с.
7. Прозоровская К.Н. Особенности профиля микро РНК при преэклампсии различной степени тяжести: диссертация на соискание степени медицинских наук по специальности 14.01.01 / Прозоровская Ксения Николаевна. – М., 2018. – 122 с.
8. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертензии и Всероссийского научного общества кардиологов. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. – М.: Наука, 2008. – 32 с.
9. Российская модель оценки эффективности теста на преэклампсию sFlt-1/PIGF / З. С. Ходжаева [и др.] // Акушерство и гинекология. - 2019. - № 2. – С. 52-58.

10. Стародубов, В.И. Репродуктивные проблемы демографического развития России: монография / В. И. Стародубов, Л. П. Суханова. - М.: ИД Менеджер здравоохранения, 2012. – 319 с.
11. Савельева, Г. М. Акушерство: национальное руководство / Под ред. Г.М. Савельевой, Г.Т. Сухих, В.Н. Серова, В.Е. Радзинского. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 1088 с.
12. Савельева, Г.М. Акушерство: учебник / Г. М. Савельева, В. И. Кулаков, А.Н. Стрижаков. - М.: Медицина, 2000. - 816 с.
13. Сидорова, И.С. Преэклампсия и снижение материнской смертности в России / И.С. Сидорова, Н.А. Никитина, А.Л. Унанян // Акушерство и гинекология. – 2018. - №1. – С. 107-112.
14. Ходжаева, З.С. Ранняя и поздняя преэклампсия: парадигмы патобиологии и клиническая практика / З.С. Ходжаева, А.М. Холин, Е.М. Вихляева // Акушерство и гинекология. - 2013. - №10. – С. 4-11.
15. ACOG Practice Bulletin No. 125: Chronic hypertension in pregnancy / American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* – 2012. – Vol. 119(2 Pt 1). – P. 396-407.
16. Agarwal, I. Pre-eclampsia and the Anti-Angiogenic State / I. Agarwal, S.A. Karumanchi // *Pregnancy Hypertens.* – 2011. – Vol. 1(1). – P. 17–21.
17. Airoidi, J. Clinical significance of proteinuria in pregnancy / J. Airoidi, L. Weinstein // *Obstet Gynecol Surv.* – 2007. – Vol. 62. – P. 117–124.
18. Ali, L.E. Placental growth factor, vascular endothelial growth factor, and hypoxia-inducible factor-1 α in the placentas of women with pre-eclampsia / L.E. Ali, M.M. Salih , E.M. Elhassan [et al.] / *J. Matern. Fetal Neonatal. Med.* – 2018. – Vol. 28. – P. 1-5.
19. Alshareef, S.A. Rubella, herpes simplex virus type 2 and preeclampsia / S.A. Alshareef, A.M. Eltom, A.M. Nasr [et al.] // *Virology J.* – 2017. – Vol. 14(1). – P. 142-167.

20. Amsalem, H. Identification of a novel neutrophil population: proangiogenic granulocytes in second-trimester human decidua / Amsalem H., Kwan M., Hazan A. [et al.] // *J. Immunol.* – 2014. – Vol. 193. – P. 3070-3079.
21. Angelova M. Early Prognostic Factors for the Progress of Preeclampsia – Our Experience in the Period 2010-2011 / M. Angelova, I. Todorov, E. Kovachev // *Open Access Maced J. Med. Sci.* - 2016. – Vol. 4 (3). – P. 420–422.
22. Arngrimsson, R. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for preeclampsia on chromosome 2p13 / Arngrimsson R. [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 1999. – Vol. 8. – P. 1799–1805.
23. Arngrimsson, R. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS gene region / Arngrimsson R. [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* – 1997. – Vol. 61. – P. 354–362.
24. Azami, M. The effects of multimineral-vitamin D and vitamins (C+E) supplementation in the prevention of preeclampsia: An RCT / Azami M., Azadi T., Farhang S. [et al.] // *J. Reprod. Biomed.* – 2017. – Vol. 15(5). – P. 273-278.
25. Backes, C.H. Maternal Preeclampsia and Neonatal Outcomes / C.H. Backes, K. Markham, P. Moorehead [et al.] // *J. Pregnancy.* – 2011. [Electronic resource] // Mode of access URL: <http://www.hindawi.com/journals/jp/2011/214365/abs/> (Дата обращения 11.10.2019).
26. Balogun, O.A. Erratum: Preterm Preeclampsia with Severe Features: Composite Maternal and Neonatal Morbidities Associated with Fetal Growth Restriction / Balogun O.A. [et al.] // *Am J Perinatol.* – 2019. - Oct 10. – P. 1 – 27.
27. Basso, O. Invited Commentary: Induced Abortion and the Risk of Preeclampsia in a Subsequent Pregnancy / O. Basso // *Am. J. Epidemiol.* – 2015. – Vol. 182(8). – P. 670-672.
28. Bedard, K. The NOX family of ROS generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology / Bedard K., Krause K.H. // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87 (1). – P. 1 – 11.
29. Brantsaeter, A.L. A dietary pattern characterized by high intake of vegetables, fruits, and vegetable oils is associated with reduced risk of preeclampsia in

nulliparous pregnant Norwegian women / Brantsaeter A.L., Haugen M., Samuelsen S.O. [et al.] // *J. Nutr.* - 2009. – Vol. 139. – P. 1162–1168.

30. Burton, G.J. Oxidative stress / Burton G.J., Jauniaux E. // *Best Pract. Res Clin Obstet Gynaecol.* – 2011. – Vol. 25. – P. 287–299.

31. Caniggia, I. Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies / I. Caniggia, S. Grisaru-Gravnosky, M. Kuliszewsky [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1999. – Vol. 103(12). – P. 1641–1650.

32. Carestia, A. Mediators and molecular pathways involved in the regulation of neutrophil extracellular trap formation mediated by activated platelets / Carestia A., Kaufman T., Rivadeneyra L. [et al.] // *J. Leukoc. Biol.* – 2016. – Vol. 99(1). – P. 153–162.

33. Carestia, A. Platelets: New Bricks in the Building of Neutrophil Extracellular Traps / A. Carestia, T. Kaufman, M. Schattner // *Front. Immunology.* – 2016. – Vol. 3. – P. 25 – 37.

34. Caudrillier, A. Platelets induce neutrophil extracellular traps in transfusion-related acute lung injury / Caudrillier A., Kessenbrock K., Gilliss B.M. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2012. – Vol. 122(7). – P. 2661–2671.

35. Chaemsaitong, P. Prospective evaluation of screening performance of first trimester prediction models for preterm preeclampsia in Asian population / Chaemsaitong P. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2019. - Oct 4. – P. 1 – 16.

36. Ciz, M. Flavonoids Inhibit the Respiratory Burst of Neutrophils in Mammals / M. Ciz, P. Denev, M. Kratchanova [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* - 2012. – P. 181 – 205.

37. Cote, A.M. The 24-hour urine collection: gold standard or historical practice? / Cote A.M., Firoz T., Mattman A. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2008. – Vol. 199(6). – P. 621–626.

38. Cuellar-Rufino, S. Iodine levels are associated with oxidative stress and antioxidant status in pregnant women with hypertensive disease / Cuellar-Rufino

S., Navarro-Meza M., García-Solís P. [et al.] // *Nutr Hosp.* – 2017. – Vol. 34(3). – P. 661-666.

39. Cui, Y. Low-dose aspirin at ≤ 16 weeks of gestation for preventing preeclampsia and its maternal and neonatal adverse outcomes: A systematic review and meta-analysis / Cui Y., Zhu B., Zheng F. [et al.] // *Exp Ther Med.* – 2018. – Vol. 15(5). – P. 4361-4369.

40. Dahl, T.B. Increased expression of visfatin in macrophages of human unstable carotid and coronary atherosclerosis: possible role in inflammation and plaque destabilization / Dahl T.B., Yndestad A., Skjelland M. [et al.] // *Circulation.* - 2007. – Vol. 115. - P. 972-980.

41. De Andrade Ramos, B.R. The influence of oxidative stress and autophagy cross regulation on pregnancy outcome / De Andrade Ramos B.R., Witkin S.S. [et al.] // *Cell Stress Chaperones.* – 2016. – Vol. 21(5). – P. 755-762.

42. Deveci, K. Pregnancy-associated plasma protein-A and C-reactive protein levels in pre-eclamptic and normotensive pregnant women at third trimester / Deveci K., Sogut E., Evliyaoglu O. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2009. – Vol. 35. – P. 94–98.

43. Dizon-Townson, D. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia / Dizon-Townson D. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 1996. – Vol. 175. – P. 902–905.

44. Doua, D.N. SK3 channel and mitochondrial ROS mediate NADPH oxidase-independent NETosis induced by calcium influx / Doua D.N., Khan M.A., Grasemann H. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2015. – Vol. 112(9). – P. 2817–2822.

45. Draganovic D. Oxidative Stress Marker and Pregnancy Induced Hypertension / D. Draganovic, N. Lucic, D. Jojic // *Med. Arch.* – 2016. – Vol. 70(6). – P. 437–440.

46. Duckitt, K. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies / Duckitt K., Harrington D. // *Br. Med. J.* – 2005. – Vol. 330. – P. 565-579.

47. Đukić, M. Oxidative stress–Clinical diagnostic significance / Đukić M., Ninković M., Jovanović M. // *J. Med. Biochem.* – 2008. – Vol. 27(4). – P. 409–425.
48. Erfanian, S. Association of arginine vasopressin (AVP) promoter polymorphisms with preeclampsia / Erfanian S. [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* - 2019. – Vol. 18. – P. 122-125.
49. Escudero, C. Potential cell signaling mechanisms involved in differential placental angiogenesis in mild and severe pre-eclampsia / Escudero C., Puebla C., Westermeier F. [et al.] // *Curr. Vasc. Pharmacol.* - 2009. – Vol. 7. – P. 475–485.
50. Erez, O. The prediction of late-onset preeclampsia: Results from a longitudinal proteomics study / Erez O., Romero R., Maymon E. [et al.] // *PLoS One.* – 2017. – Vol. 12 (7). – P. 1–15.
51. Fernández-Alba J.J. Overweight and obesity at risk factors for hypertensive states of pregnancy: a retrospective cohort study / Fernández Alba J.J., Mesa Páez C., Vilar Sánchez Á. [et al.] // *Nutr. Hosp.* – 2018. – Vol. 35(4). – P. 874-880.
52. Forsyth, K.D. Role of the LFA-1 adhesion glycoprotein in neutrophil adhesion to endothelium and plastic surfaces / K.D. Forsyth, R.J. Levinsky // *Clin. Exp. Immunol.* – 1989. – Vol. 75(2). – P. 265-268.
53. Fukuhara, A. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin / Fukuhara A., Matsuda M., Nishizawa M. [et al.] // *Science.* - 2005. - № 307. - P. 426-430
54. Garg, P. Sequential profile of endothelial functions and arterial stiffness in preeclampsia during the course of pregnancy / Garg P. [et al.] // *Pregnancy Hypertens.* 2019. – Vol. 18. – P. 88-95.
55. George, E.M. Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia / George E.M., Granger J.P. // *Expert Rev Obstet Gynecol.* – 2010. – Vol. 5(5). – P. 557–566.
56. Germain A.J. Systemic Inflammatory Priming in Normal Pregnancy and Preeclampsia: The Role of Circulating Syncytiotrophoblast Microparticles / A.J.

Germain, G.P. Sacks, S.R. Soorana [et al.] // *J. Immunol.* – 2007. – Vol. 178(9). – P. 5949–5610.

57. Ghasemzadeh, M. Platelet-leukocyte crosstalk: linking proinflammatory responses to procoagulant state / Ghasemzadeh M., Hosseini E. // *Thromb Res.* – 2013. – Vol. 131(3). – P. 191–197.

58. Ghosh, A. Microvascular function in preeclampsia is influenced by insulin resistance and an imbalance of angiogenic mediators / Ghosh A., Freestone N.S., Anim-Nyame N. [et al.] // *Physiol Rep.* – 2017. – Vol. 5 (8). – P. 1-12.

59. Giaglis, S. Neutrophil migration into the placenta: Good, bad or deadly? / S. Giaglis, M. Stoikou, F. Grimolizzi // *Cell Migr.* – 2016. – Vol. 10(1-2). – P. 208-225.

60. Gioia, M. The collagen binding domain of gelatinase A modulates degradation of collagen IV by gelatinase B / Gioia M., Monaco S., Van Den Steen P.E. [et al.] // *J. Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 386. – P. 419-434.

61. Gogoi, P. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet indices in preeclampsia / Gogoi P., Sinha P., Gupta B. [et al.] // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 2019. – Vol. 144 (1). – P. 16-20.

62. Guideline No. 10(A). The Management of Severe Preeclampsia/ Eclampsia / RCOG. - 2010. – P. 221.

63. Guller S. Role of the syncytium in placenta-mediated complications of preeclampsia / Guller S. // *Thromb Res.* – 2009. – Vol. 124. – P. 389-392.

64. Guller, S. The placental syncytium and the pathophysiology of preeclampsia and intrauterine growth restriction: a novel assay to assess syncytial protein expression / Guller S., Ma Y.Y., Fu H.H. [et al.] // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2008. – Vol. 1127. – P. 129–133.

65. Gupta S. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia; a systematic review / Gupta S., Aziz N., Sekhon L. [et al.] // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2009. – Vol. 64(11). – P. 750–759.

66. Huang, L.E. Hypoxia-inducible factor and its biomedical relevance / L.E. Huang, H. F. Bunn // *J. Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 278. – P. 19575–19578.

67. Hamilton B.E. Final data for 2014 / B.E. Hamilton, J.A. Martin, M.J.K. Osterman [et al.] // Nat. Vital Statistics Report. - 2015. – Vol. 64(12). – P. 49.
68. Ji, L. MiR-136 contributes to pre-eclampsia through its effects on apoptosis and angiogenesis of mesenchymal stem cells / Ji L, Zhang L., Li Y. [et al.] // Placenta. – 2017. – Vol. 50. – P. 102-109.
69. Jianxin, L. Imbalance between proliferation and apoptosis-related impaired GPR30 expression is involved in preeclampsia / Jianxin L. // Cell Tissue Res. - 2016. – Vol. 366(2). – P. 59 – 73.
70. Jieyu, L. Visit-to-visit blood pressure variability is associated with gestational hypertension and pre-eclampsia / Jieyu L. [et al.] // Pregnancy Hypertens. – 2019. – Vol. 18. – P. 126-131.
71. Jones, R.L. TGF- β superfamily expression and actions in the endometrium and placenta / Jones R.L., Stoikos C., Findlay J.K. [et al.] // Reproduction. – 2006. – Vol. 132. – P. 217–232.
72. Hakkim, A. Activation of the Raf-MEK-ERK pathway is required for neutrophil extracellular trap formation / Hakkim A., Fuchs T.A., Martinez N.E. [et al.] // Nat. Chem. Biol. – 2011. – Vol. 7(2). – P. 75–77.
73. Harding, M. Innate immunity in the vasculature: interactions with pathogenic bacteria / Harding M., Kubes P. // Curr. Opin. Microbiol. - 2012. – Vol. 15. – P. 85-91.
74. Hecht, J.L. The pathology of eclampsia: An autopsy series / Hecht J.L., Ordi J., Carrilho C. [et al.] // Fetal Diagn. Ther. - 2017. - Jul 21. – P. 1 – 19.
75. Huppertz, B. Apoptosis in the trophoblast-role of apoptosis in placental morphogenesis / Huppertz B., Kingdom J.C. // J. Soc. Gynecol. Investig. – 2004. – Vol. 11. – P. 353–362.
76. Husemann, J. CD11b/CD18 mediates production of reactive oxygen species by mouse and human macrophages adherent to matrixes containing oxidized LDL / J. Husemann, A. Obstfeld, M. Febbraio [et al.] // Arterioscler Thromb Vasc. Biol. – 2001. – Vol. 21(8). – P. 1301-1305.

77. Kaminski, V.L. Influence of NKG2C gene deletion and CCR5 Δ 32 in Preeclampsia-Approaching the effect of innate immune gene variants in pregnancy / V.L. Kaminski, J.H. Ellwanger, V. Sandrim // *Int. J. Immunogenet.* – 2019. – Vol. 46(2). – P. 82-87.
78. Kadyrov, M. Preeclampsia and maternal anemia display reduced apoptosis and opposite invasive phenotypes of extravillous trophoblast / Kadyrov, M. [et al.] // *Placenta.* – 2003. – Vol. 24. – P. 540–548.
79. Kaneda, H. Activin A inhibits vascular endothelial cell growth and suppresses tumour angiogenesis in gastric cancer / Kaneda H., Arao T., Matsumoto K. [et al.] // *Br. J. Cancer.* – 2011. – Vol. 105. – P. 1210–1217.
80. Kar, M. Role of biomarkers in early detection of preeclampsia / M. Kar // *J. Clin. Diagn. Res.* – 2014. – Vol. 8(4). - P. 1-4.
81. Katabuchi, H. Characterization of macrophages in the decidual atherotic spiral artery with special reference to the cytology of foam cells / Katabuchi H., S. Yih, T. Ohba, K. [et al.] // *Med. Electron. Microsc.* – 2003. – Vol. 36. - P. 253-262.
82. Kell, D.B. A Dormant Microbial Component in the Development of Preeclampsia / D.B. Kell, L.C. Kenny // *Front Med. (Lausanne).* – 2016. – Vol. 3. – P. 60-67.
83. Keshari, R.S. Reactive oxygen species-induced activation of ERK and p38 MAPK mediates PMA-induced NETs release from human neutrophils / Keshari R.S., Verma A., Barthwal M.K. [et al.] // *J. Cell Biochem.* – 2013. – Vol. 114(3). – P. 532–540.
84. Kessenbrock, K. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis / Kessenbrock K., Krumbholz M., Schonermarck U. [et al.] // *Nat. Med.* – 2009. – Vol. 15(6). – P. 623–625.
85. Khalighinejad, N. Apical Periodontitis, a Predictor Variable for Preeclampsia: A Case-control Study / Khalighinejad N., Aminoshariae A., Kulild J.C. [et al.] // *J. Endod.* – 2017. - Jul 29. – P. 1-15.
86. Kim, J. Aspirin prevents TNF- α -induced endothelial cell dysfunction by regulating the NF- κ B-dependent miR-155/eNOS pathway: Role of a miR-155/eNOS

axis in preeclampsia / Kim J., Lee K.S., Kim J.H. [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2017. – Vol. 10. – P. 45 – 59.

87. Kim, M.A. Clinical significance of platelet-to-lymphocyte ratio in women with preeclampsia / Kim M.A., Han G.H., Kwon J.Y. [et al.] // *Am. J. Reprod. Immunol.* – 2018. – Vol. 80(1). – P. 1-14.

88. Kim, M.J. Is massive proteinuria associated with maternal and fetal morbidities in preeclampsia? / Kim M.J., Young Nam Kim, Eun Jung Jung [et al.] // *Obstet. Gynecol. Sci.* – 2017. – Vol. 60(3). – P. 260–265.

89. Kolaczowska, E. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation / Kolaczowska E., Kubes P. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2013. – Vol. 13. – P. 159-175.

90. Koonin, L.M. Pregnancy-related mortality surveillance, United States 1987–1990 / L.M. Koonin, A.P. Mackay, C.J. Berg [et al.] // *MorbidityMortality Weekly Rep. CDC Surveill Summ.* – 1997. – Vol. 46(4). – P. 17–36.

91. Kuessel, L. Dynamics of soluble syndecan-1 in maternal serum during and after pregnancies complicated by preeclampsia: a nested case control study / Kuessel L. [et al.] // *Clin. Chem. Lab. Med.* – 2019. - Oct 17. – P. 1-9.

92. Kwame, A. B. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia in Ghanaian women / Kwame A.B., Daniel Ansong Antwi, Ben Gyan [et al.] // *BMC Physiol.* – 2017. – Vol. 17. – P. 5-27.

93. Laivuori, H. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families / Laivuori H. [et al.] // *Am J Hum Genet.* - 2003. – Vol. 72. – P. 168–177.

94. Lambert, G. Preeclampsia: an update / Lambert G., Brichant J.F., Hartstein G. [et al.] // *Acta Anaesthesiol Belg.* – 2014. – Vol. 65. – P. 137–149.

95. Lapponi, M.J. Regulation of neutrophil extracellular trap formation by anti-inflammatory drugs / Lapponi M.J., Carestia A., Landoni V.I. [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2013. – Vol. 345(3). – P. 430–437.

96. Leshner, M. PAD4 mediated histone hypercitrullination induces heterochromatin decondensation and chromatin unfolding to form neutrophil

extracellular trap-like structures / Leshner M., Wang S., Lewis C. [et al.] // *Front Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 307-323.

97. Levine, R.J. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia / Levine R.J., Maynard S.E, Qian C. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* - 2004. – Vol. 350. – P. 672–683.

98. Li, J. Imbalance between proliferation and apoptosis-related impaired GPR30 expression is involved in preeclampsia / Li J., Chen Z., Zhou X., Shi S. [et al.] // *Cell Tissue Res.* – 2016. – Vol. 366(2). – P. 499-508.

99. Li, X. Polymorphisms and plasma level of transforming growth factor-Beta 1 and risk for preeclampsia: a systematic review / Li X., Shen L., Tan H. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9(5). – P. 1-12.

100. Limberaki, E. Serum antioxidant status among young, middle-aged and elderly people before and after antioxidant rich diet / Limberaki E., Eleftheriou P., Vagdatli E. [et al.] // *Hippokratia.* – 2012. – Bd. 16. – S. 118–123.

101. Li, D. Changing paternity and the risk of preeclampsia in the subsequent pregnancy / Li D., Wi S. // *Am. J. Epidemiol.* – 2000. – Vol. 151. – P. 57–62.

102. Lin, S.H. Study of coenzyme Q10 in the liver of preeclampsia pregnant rats / Lin S.H., Yan J.Y. // *Honghua Fu Chan Ke Za Zhi.* - 2016. – Vol. 51 (8). – P. 608-615.

103. Lòpez-Jaramillo, P. Preeclampsia: from epidemiological observations to molecular mechanisms / Lòpez-Jaramillo P. [et al.] // *Braz. J. Med. Biol.* – 2001. – Vol. 34. – P. 1227–1235.

104. Lyall, F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy—a review / F. Lyall // *Placenta.* – 1999. – Vol. 26 (Suppl A). – P.31–36.

105. Lygnos, M.C. Changes in maternal plasma levels of VEGF, bFGF, TGF-beta1, ET-1 and sKL during uncomplicated pregnancy, hypertensive pregnancy and gestational diabetes / Lygnos M.C., Pappa K.I., Papadaki H.A. // *In Vivo.* – 2006. – Vol. 20(1). – P. 157–163.

106. Ma, Y.Y. Early detection of oral health status and cardiometabolic risk factors among reproductive-aged women in rural areas: A cross-sectional study / Ma Y.Y., Huang T.J., Lin M.S. [et al.] // *Eur. J. Cardiovasc. Nurs.* – 2017. – Vol. 16(6). – P. 484-491.
107. Magee, L.A. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy / Magee L.A., Helewa M., Moutquin J.M. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Can.* - 2008. – Vol. 30 (3 Suppl). – P. 1-48.
108. Mahdiye, S. Dietary nutrient intake and antioxidant status in preeclamptic women / Mahdiye S., Zamzam P., Akbar H.A. // *Biomed. Res.* – 2015. – Vol. 4. – P. 183-189.
109. Mahmoudi, N. Eclampsia: A 13-year experience at a United States tertiary care center / Mahmoudi N. [et al.] // *J. Women's Health Gender Based Med.* – 1999. – Vol. 8. – P. 495–500.
110. Mannaerts, D. Are neutrophil/ lymphocyte ratio (NLR), platelet/ lymphocyte ratio (PLR), and/or mean platelet volume (MPV) clinically useful as predictive parameters for preeclampsia? / Mannaerts D., Heyvaert S., De Cordt C. [et al.] // *J. Matern. Fetal Neonatal. Med.* – 2019. – Vol. 32(9). – P. 1412-1419.
111. Masuyama, H. Correlation between soluble endoglin, vascular endothelial growth factor receptort1, and adipocytokines in preeclampsia / Masuyama H., Nakatsukasa H., Takamoto N. [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – Vol. 92. – P. 2672–2679.
112. Martin, J.N. Understanding and managing HELLP Syndrome: the integral role of aggressive glucocorticoids for mother and child / Martin J.N. Jr, Rose C.H., Briery C.M. // *Am J Obstet Gynecol.* – 2006. – Vol. 195(4). – P. 914- 934.
113. Maruyama, N. Inhibition of neutrophil adhesion and antimicrobial activity by diluted hydrosol prepared from *Rosa damascena* / N. Maruyama, Sh. Tansho-Nagakawa, Ch. Miyazaki [et al.] // *Biolog. Pharmaceut. Bulletin.* – 2017. – Vol. 40(2). – P. 161-168.
114. Maugeri, N. Activated platelets present high mobility group box 1 to neutrophils, inducing autophagy and promoting the extrusion of neutrophil extracellular

traps / Maugeri N., Campana L., Gavina M. [et al.] // *J. Thromb Haemost.* – 2014. – Vol. 12(12). – P. 2074–2088.

115. Maynard, S.E. Angiogenic Factors and Pre-eclampsia / Maynard S.E, Karumanchi S.A. // *Semin Nephrol.* – 2011. – Vol. 31(1). – P. 33–46.

116. McCarthy, C.M. Mitochondrial dysfunction; culprit in pre-eclampsia / McCarthy C.M., Kenny L.C. [et al.] // *Clin. Sci. (Lond).* – 2016. – Vol. 130(14). – P. 1179-1184.

117. McEver, R.P. Rolling cell adhesion / McEver R.P., Zhu C. // *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* - 2010. – Vol. 26. – P. 363-396.

118. Menezes de Oliveira, A.C. Intake of antioxidant nutrients and coefficients of variation in pregnant women with preeclampsia / Menezes de Oliveira A.C., Albuquerque Santos A., Rodrigues Bezerra A. [et al.] // *Rev. Port. Cardiol.* – 2016. – Vol. 35(9). – P. 469-476.

119. Metzler, K.D. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis / Metzler K.D, Goosmann C., Lubojemska A. [et al.] // *Cell Rep.*- 2014. – Vol. 8(3). – P. 883–896.

120. Michita, R.T. Genetic Variants in Preeclampsia: Lessons From Studies in Latin-American Populations / R.T. Michita, V.L. Kaminski, J.A.B Chies // *Front Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1771-1883.

121. Milman, N. Supplementation during pregnancy: beliefs and science / Milman N., Paszkowski T., Cetin I. [et al.] // *Gynecol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 32(7). – P. 509-516.

122. Miralda, I. Multiple phenotypic changes define neutrophil priming / I. Miralda, S.M. Uriarte, K.R. McLeish // *Front. Cell. Infect. Microbiol.* – 2017. – Vol. 7. – P. 217-239.

123. Mittal, M. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury / M. Mittal, M.R. Siddiqui, Kh. Tran [et al.] // *Antioxid. Redox Signaling.* - 2014. – Vol. 20 (7). – P. 1127-1167.

124. Miyamoto, M. Endogenous IL-17 as a mediator of neutrophil recruitment caused by endotoxin exposure in mouse airways / Miyamoto M., Prause O., Sjostrand M. [et al.] // *J. Immunol.* – 2003. – Vol. 170. – P. 665-672.
125. Mizurini, D.M. Salivary thromboxane A₂-binding proteins from triatomine vectors of Chagas disease inhibit platelet-mediated neutrophil extracellular traps (NETs) formation and arterial thrombosis / Mizurini D.M., Aslan J.S., Gomes T. [et al.] // *PLoS Negl. Trop Dis.* – 2015. – Vol. 9 (6). – P. 1–13.
126. Moffett-King, A. Natural killer cells and pregnancy / Moffett-King A. // *Nat. Rev. Immunol.* – 2002. – Vol. 2. – P. 656–663.
127. Monaco, S. Enzymatic processing of collagen IV by MMP-2 (gelatinase A) affects neutrophil migration and it is modulated by extracatalytic domains / Monaco S., Sparano V., Gioia M. [et al.] // *Protein Sci.* – 2006. – Vol. 15. – P. 205-215.
128. Moschen, A.R. Visfatin, and adipocytokine with proinflammatory and immunomodulating properties / Moschen A.R., Kaser A., Enrich B. [et al.] // *J. Immunol.* - 2007. - № 178. - P. 148-175.
129. Moreland, J.G. Endotoxin Priming of Neutrophils Requires NADPH Oxidase-generated Oxidants and Is Regulated by the Anion Transporter ClC-3 / J.G. Moreland, A.P. Davis, J.J. Matsuda [et al.] // *J. Biol. Chem.* - 2007. – Vol. 282(47). – P. 139-175.
130. Mousa, A. Relationship between vitamin D and gestational diabetes in overweight or obese pregnant women may be mediated by adiponectin / Mousa A., Abell S.K., Shorakae S. [et al.] // *Mol. Nutr. Food Res.* – 2017. – Vol. 61 (11). – P. 36 – 71.
131. Muttukrishna, S. Activin A and inhibin A as possible endocrine markers for preeclampsia / Muttukrishna S., Knight P.G., Groome N.P. [et al.] // *Lancet.* – 1997. – Vol. 349. – P. 1285–1288.
132. Muttukrishna, S. Serum inhibin A and activin A are elevated prior to the onset of preeclampsia / Muttukrishna S., North R.A., Morris J. [et al.] // *Hum. Reprod.* – 2000. – Vol. 15. – P. 1640–1645.

133. Müller-Deile, J. Preeclampsia from a renal point of view: Insides into disease models, biomarkers and therapy / J. Müller-Deile, M. Schiffer // *World J. Nephrol.* – 2014. – Vol. 3(4). – P. 169-181.
134. Myatt, L. Vascular biology of preeclampsia / Myatt L., Webster R.P. // *J. Thromb. Haemost.* - 2009. – Vol. 7. – P. 375–384.
135. Nandi, A.A. Altered metabolic homeostasis between vitamin D and long chain polyunsaturated fatty acids in preeclampsia / Nandi A.A., Wadhvani N.S., Joshi S.R. [et al.] // *Med. Hypotheses.* – 2017. – Vol. 100. – P. 31-36.
136. Negi, R. Trace elements and antioxidant enzymes associated with oxidative stress in the pre-eclamptic/eclamptic mothers during fetal circulation / Negi R., Pande D., Karki K. [et al.] // *Clin. Nutr.* – 2012. – Vol. 31. – P. 946–950.
137. Nekrasova, I.V. Female sex steroid hormones in regulation of neutrophil enzymatic activity / Nekrasova I.V., Shirshov S.V. // *Dokl. Biochem. Biophys.* - 2013. – Vol. 453. – P. 312-315.
138. National Heart, Lung, and Blood Institute. National High Blood Pressure Education Program: working group report on high blood pressure in pregnancy / National Institute of Health (NIH). NIH Publication. - 2000. - P. 3029-3033.
139. Newman, M.G. Perinatal outcomes in preeclampsia that is complicated by massive proteinuria / Newman M.G., Robichaux A.G., Stedman C.M. [et al.] // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2003. – Vol. 188. – P. 264–268.
140. Nicolaides, K.H. Re: Prediction of pre-eclampsia: review of reviews / Nicolaides K.H. // *Ultrasound Obstet. Gynecol.* – 2019. – Vol. 54 (4). – P. 564-565.
141. Nishi, H. Hypoxia-inducible factor-1 transactivates transforming growth factor-beta3 in trophoblast / H. Nishi, T. Nakada, M. Hokamura // *Endocrinology.* – 2004. – Vol. 145(9). – P. 4113-4118.
142. Noris, M. Mechanisms of Disease: pre-eclampsia / M. Noris, N. Perico, G. Remuzzi // *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* – 2005. - Vol. 1, № 2. – P. 17 – 39.
143. Novakov, M.A. Thiobarbituric Acid Reactive Substances in pre-eclampsia / Novakov M.A. // *Med. Pregled.* – 2011. – Vol. LXIV (7-8). – P. 377–380.

144. O'Shaughnessy, K. Factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in an East Anglian preeclampsia cohort / O'Shaughnessy K. [et al.] // *Hypertension*. - 1999. – Vol. 33. – P. 1338–1341.
145. Ohta, H. Potential New Non-Invasive Therapy Using Artificial Oxygen Carriers for Pre-Eclampsia / H. Ohta, M. Kaga, H. Li [et al.] // *J. Funct. Biomater.* – 2017. – Vol. 8(3). – P. 32-47.
146. Oki, K. Circulating visfatin level is correlated with inflammation, but not with insulin resistance/ Oki K., Kohno N. [et al.] // *Clin. Endocrinol.* - 2007. - № 67. - P. 796-800.
147. Pakniat, H. The Relationship of Pregnancy-Associated Plasma Protein A and Human Chorionic Gonadotropin with Adverse Pregnancy Outcomes: A Prospective Study / Pakniat H. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. (India)*. – 2019. – Vol. 69(5). – P. 412-419.
148. Palei, A.C. Pathophysiology of Hypertension in Preeclampsia: A Lesson in Integrative Physiology / A.C. Palei, F.T. Spradley, J.P. Warrington [et al.] // *Acta Physiol. (Oxf)*. – 2013. – Vol. 208 (3). – P. 224-233.
149. Papayianni, A. Transcellular biosynthesis of lipoxin A4 during adhesion of platelets and neutrophils in experimental immune complex glomerulonephritis / Papayianni A., Serhan C.N., Phillips M.L. [et al.] // *Kidney Int.* – 1995. – Vol. 47. – P. 1295–1302.
150. Papayannopoulos, V. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps / Papayannopoulos V., Metzler K.D., Hakkim A. [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2010. – Vol. 191(3). – P. 677–691.
151. Perry, H. Maternal arterial stiffness in hypertensive pregnancies with and without a small-for-gestational-age neonate / Perry H. [et al.] // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2019. - Oct 15. – P. 1–15.
152. Patil, S.B. Lipid peroxidation and antioxidant activity in complicated pregnancies / Patil S.B., Kodliwadmth M.V., Kodliwadmth M. // *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* – 2009. – Vol. 36 (2). – P. 110–112.

153. Peters, M.J. Circulating platelet-neutrophil complexes represent a subpopulation of activated neutrophils primed for adhesion, phagocytosis and intracellular killing / Peters M.J., Dixon G., Kotowicz K.T. [et al.] // *Br. J. Haematol.* – 1999. – Vol. 106. – P. 391–399.

154. Phillipson, M. Intraluminal crawling of neutrophils to emigration sites: a molecularly distinct process from adhesion in the recruitment cascade / Phillipson M., Heit B., Colarusso P. [et al.] // *J. Exp. Med.* - 2006. – Vol. 203. – P. 2569-2575.

155. Practice bulletin No.33: Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia // *Obstet. Gynecol.* – 2002. – Vol. 99 (1). – P. 159–167.

156. Rafii Tabrizi, A. Risk factors for eclampsia in pregnant women with preeclampsia and positive neurosensory signs. Practical approach to the prevention of preeclampsia: from screening to pharmaceutical intervention / R. Rafii Tabrizi, J.M. Ayoubi, B. Ahmed // *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* - 2019. – Vol. 15. – P. 1-7.

157. Rajakumar, A. Expression, ontogeny, and regulation of hypoxia-inducible transcription factors in the human placenta / A. Rajakumar, K.P. Conrad // *Biol. Reprod.* – 2000. – Vol. 63. – P. 559–569.

158. Raymond, D. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia / Raymond D., Peterson E. // *Obstet. Gynecol. Surv.* – 2011. – Vol. 66 (8). – P. 497–506.

159. Rätsep, M.T. Impact of preeclampsia on cognitive function in the offspring / M.T. Rätsep, A.F. Hickman, B. Maser [et al.] // *Behav. Brain Res.* – 2016. – Vol. 302. – P. 175-181.

160. Rebahi, H. Risk factors for eclampsia in pregnant women with preeclampsia and positive neurosensory signs / H. Rebahi, M.E. Still, M.Y. Faouzi // *Turk. J. Obstet. Gynecol.* – 2018. – Vol. 15(4). – P. 227-234.

161. Red-Horse, K. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal–fetal interface / Red-Horse K. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2004. – Vol. 114. – P. 744–754.

162. Roberts, J.M. Preeclampsia: recent insights / Roberts J.M., Gammill H.S. // *Hypertension.* – 2005. – Vol. 46. – P. 1243–1249.

163. Rolfo, A. Pro-Inflammatory profile of preeclamptic placental mesenchymal stromal cells: New insights into the etiopathogenesis of preeclampsia / A. Rolfo, D. Giuffrida, A.M. Nuzzo [et al.] // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8(3). – P. 1-13.
164. Rudera, E.H. Impact of oxidative stress on female fertility / Rudera E.H., Hartmanb T.J., Goldman M.B. // Curr. Opin. Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol. 21.(3). – P. 219–222.
165. Salih, S. Is neutrophil/lymphocyte ratio a useful marker to predict the severity of pre-eclampsia? / Salih S., Fazıl A., Onder E. [et al.] // Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health. – 2016. – Vol. 6, № 1. - P. 22-25.
166. Salsoso, R. Adenosine and preeclampsia / Salsoso R., Farías M., Gutiérrez J. [et al.] // Mol. Aspects. Med. – 2017. – Vol. 16. – P. 389–407.
167. Semenza, G.L. 2000 HIF-1 and human disease: one highly involved factor / G. L. Semenza // Gen. Develop. - 2000. - Vol. 16. - P. 1983-1991.
168. Shaheen, A. Adipokine Serum visfatin level in pregnancy induced hypertension and uncomplicated pregnancy / Shaheen A., Nazli R., Fatima S. [et al.] // Pak. J. Med. Sci. – 2016. - Vol. 2 (6). – P. 1419-1424.
169. Shaw, S.K. Coordinated redistribution of leukocyte LFA-1 and endothelial cell ICAM-1 accompany neutrophil transmigration / Shaw S.K., Ma S., Kim M.B. [et al.] // J. Exp. Med. - 2004. – Vol. 200. – P. 1571-1580.
170. Sibai, B.M. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia / Sibai B.M., Stella C.L. // Am. J. Obstet. Gynecol. – 2009. – Vol. 200. – P. 481 – 487.
171. Simon, D.I. Platelet glycoprotein Iba1 is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18) / Simon D.I., Chen Z., Xu H. [et al.] // J. Exp. Med. - 2000. – Vol. 192. – P. 193–204.
172. Singh, A. Role of Platelet Distribution Width (PDW) and Plateletcrit in the Assessment of Nonthrombocytopenic Preeclampsia and Eclampsia / Singh A., Varma R. // J. Obstet. Gynaecol. India. – 2018. – Vol. 68.(4). – P. 289-293.

173. Sisti, G. Body of Evidence in Favor of Adopting 130/80 mm Hg as New Blood Pressure Cut-Off for All the Hypertensive Disorders of Pregnancy / Sisti G., Williams B. // *Medicina (Kaunas)*. – 2019. – Bd. 55 (10). – S. 373 - 381.
174. Sitotaw, C. Evaluation of platelet and white cell parameters among pregnant women with Preeclampsia in Gondar, Northwest Ethiopia: A comparative cross-sectional study / Sitotaw C., Asrie F., Melku M. // *Pregnancy Hypertens.* – 2018. – Vol. 13. – P. 242-247.
175. Skjaerven, R. The interval between pregnancies and the risk of preeclampsia / Skjaerven R. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – Vol. 346. – P. 33–38.
176. Smyth, S.S. Platelet functions beyond hemostasis / Smyth S.S., McEver R.P., Weyrich A.S. [et al.] // *J. Thromb. Haemost.* – 2009. – Vol. 7(11). – P. 1759–1766.
177. Sohda, S. Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia / Sohda S. [et al.] // *J. Med. Genet.* – 1997. – Vol. 34. – P. 525–526.
178. Song, Q.Y. High serum iron level is associated with an increased risk of hypertensive disorders during pregnancy: a meta-analysis of observational studies / Song Q.Y., Luo W.P., Zhang C.X. [et al.] // *Nutr. Res.* – 2015. – Vol. 35(12). – P. 1060-1069.
179. Soobramoney, C. The Screening of Nails for Selected Essential and Toxic Elements in Normotensive and Pre-Eclamptic Women / Soobramoney C., Maduray K., Moodley J. [et al.] // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2018. – Vol. 1189 (11). – P. 35 – 47.
180. Suhail, M. Koncentracije malondialdehida i antioksidativnih vitamina pupkovine kod majki oboljelih od preeklampsije i zdravih majki / Suhail M., Suhail M.F. // *Biochemia Medica.* – 2009. – Bd. 19 (2). – S. 182–191.
181. Sumby, P. Extracellular deoxyribonuclease made by group A *Streptococcus* assists pathogenesis by enhancing evasion of the innate immune response / Sumby P., Barbian K.D., Gardner D.J. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2005. – Vol. 102. – P. 1679–1684

182. Tamblyn, J.A. Dysregulation of maternal and placental vitamin D metabolism in preeclampsia / J.A. Tamblyn, R. Susarla, C. Jenkinson [et al.] // *Placenta*. – 2017. – Vol. 50. – P. 70-77.
183. Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy: report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy // *Obstet Gynecol*. – 2013. – Vol.122. – P. 1122–1131.
184. Taylor, B.D. The impact of female fetal sex on preeclampsia and the maternal immune milieu / B.D. Taylor, R.B. Ness, M.A. Klebanoff [et al.] // *Pregnancy Hypertens*. – 2018. – Vol. 12. – P. 53-57.
185. Thangaratinam, S. Estimation of proteinuria as a predictor of complications of pre-eclampsia: a systematic review / S. Thangaratinam, A. Coomarasamy, F. O'Mahony [et al.] // *BMC Med*. – 2009. – Vol. 7. – P. 10-25.
186. Uzan, J. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management / J. Uzan, M. Carbonnel, O. Piconne [et al.] // *Vasc. Health Risk Manag*. – 2011. – Vol. 7. – P. 467–474.
187. Vamvakopoulou, D.N. Association of maternal Toll-like receptor-4 alleles with susceptibility to early-onset preeclampsia in central Greece / D.N. Vamvakopoulou [et al.] // *Pregnancy Hypertens*. – 2019. – Vol. 18. – P. 103-107.
188. Vannuccini, S. Infertility and reproductive disorders: impact of hormonal and inflammatory mechanisms on pregnancy outcome / S. Vannuccini, V.L. Clifton, I.S. Fraser // *Human Reproduction Update*. – 2016. – Vol. 22 (1). – P. 104-115.
189. Vliet van der, A. NADPH oxidases in lung biology and pathology: host defense enzymes, and more / A. van der Vliet // *Free Radic. Biol. Med*. – 2008. – Vol. 44 (6). – P. 93-98.
190. Varughese, B. Circulating angiogenic factors in pregnancies complicated by pre-eclampsia / B. Varughese, N. Bhatla, R. Kumar, S.N. Dwivedi, R. Dhingra // *Natl Med J India*. 2010. – Vol. 23(2). – P. 77–81.
191. Venkatesha, S. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia / S. Venkatesha, M. Toporsian, C. Lam [et al.] // *Nat. Med*. – 2006. - Vol. 12. – P. 642–649.

192. Vestgaard M. White coat hypertension in early pregnancy in women with pre-existing diabetes: prevalence and pregnancy outcomes / Vestgaard M. [et al.] // *Diabetologia*. – 2019. - Oct 18. – P. 1–17.
193. Villar, K. Eclampsia and preeclampsia: a health problem for 2000 years / K. Villar [et al.] // In: *Preeclampsia*. – 2003. – P. 189–207.
194. Volk, A.P.D. Priming of neutrophils and differentiated PLB-985 cells by Pathophysiological concentration of TNF- α is partially oxygen dependent / A.P.D. Volk, Br.M. Barber, K.L. Goss [et al.] // *J. Innate Immun.* - 2013. – Vol. 3. – P. 298-314.
195. Wang, K. In vitro effects of sEng and TGF- β on human umbilical vein endothelial cells and trophoblasts / Wang, K, Lu C, Liu Y. [et al.] // *J. Obstet. Gynaecol. Res.* – 2018. – Vol. 44 (6). – P. 1023-1030.
196. Wang, Y. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation / Y. Wang, M. Li, S. Stadler [et al.] // *J. Cell Biol.* – 2009. – Vol. 184 (2). – P. 205–213.
197. Wang, A. Pre-eclampsia: The Role of Angiogenic Factors in Its Pathogenesis / A. Wang, S. Rana, S.A. Karumanchi // *Physiology (Bethesda)*. – 2009. – Vol. 24. – P. 147–158.
198. Walker, J.J. Pre-eclampsia / J. J. Walker // *Lancet*. – 2002. – Vol. 356. – P. 1260–1265.
199. Ward, K. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia / K. Ward [et al.] // *Nat. Genet.* – 1993. – Vol. 4. – P. 59–61.
200. Wenceslau, C.F. Mitochondrial-derived N-formyl peptides: novel links between trauma, vascular collapse and sepsis / C.F. Wenceslau, C.G. McCarthy, S. Goulopoulou [et al.] // *Med. Hypotheses*. – 2013. – Vol. 81(4). – P. 532-535.
201. Wójtowicz, A. Early- and Late-Onset Preeclampsia: A Comprehensive Cohort Study of Laboratory and Clinical Findings according to the New ISHHP Criteria / Wójtowicz A. [et al.] // *Int. J. Hypertens.* – 2019. - Sep 17. – P. 1-14.

202. Wolf, M. First trimester insulin resistance and subsequent preeclampsia: a prospective study / M. Wolf [et al.] // *J. Clin. Endocrinol Metab.* – 2002. – Vol. 87 (4). – P. 1563–1568.
203. Wolf, N. Regulation of the matricellular proteins CYR61 (CCN1) and NOV (CCN3) by hypoxia-inducible factor-1{alpha} and transforming-growth factor-{beta}3 in the human trophoblast / N. Wolf, W. Yang, C.E. Dunk [et al.] // *Endocrinology.* – 2010. – Vol. 151(6). – P. 2835-2845.
204. Xiaoqing, X. Maternal Preeclampsia and Odds of Childhood Cancers in Offspring —A California Statewide Case–Control Study / Xu Xiaoqing, Beate Ritz, Myles Cockburn [et al.] // *Paediatric and Perinatal Epidemiology.* - 2017. – Vol. 31 (2). – P. 37-51.
205. Xu, Y.T. Maternal circulating levels of transforming growth factor- β superfamily and its soluble receptors in hypertensive disorders of pregnancy / Y.T. Xu, M.H. Shen, A.Y. Jin [et al.] // *Int J Gynaecol Obstet.* – 2017. – Vol. 137(3). – P. 246-252.
206. Yago, T. E-selectin engages PSGL-1 and CD44 through a common signaling pathway to induce integrin α L β 2-mediated slow leukocyte rolling / T. Yago, B. Shao, J.J. Miner [et al.] // *Blood.* - 2010. – Vol. 116. – P. 485-494.
207. Yang, L. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- α -activated vascular endothelium under flow / L. Yang, R.M. Froio, T.E. Sciuto [et al.] // *Blood.* - 2005. – Vol. 106. – P. 584-592.
208. Yavuzcan, A. Mean platelet volume, neutrophil lymphocyte ratio and platelet-lymphocyteratio in severe preeclampsia / A. Yavuzcan, M. Çağlar, Y. Ustün [et al.] // *Ginekol Pol.* – 2014. – Bd. 85 (3). – S. 197-203.
209. Yi, Y. TGF- β 1 inhibits human trophoblast cell invasion by upregulating cyclooxygenase-2 / Y. Yi, J.C. Cheng, C. Klausen [et al.] // *Placenta.* – 2018. – Vol. 68. – P. 44-51.
210. Yildirim, Z.K. Soluble TNF-Like Weak Inducer of Apoptosis as a New Marker in Preeclampsia: A Pilot Clinical Study / Z.K. Yildirim, A. Sumnu, N. Bademler, E. Kilic [et al.] // *Disease markers.* - 2016. – Vol. 8. – P. 1-5.

211. Yu, J. Inhibin A, activin A, placental growth factor and uterine artery Doppler pulsatility index in the prediction of preeclampsia / J. Yu, C.Z. Shixia, Y. Wu, T. Duan // *Ultrasound Obstet Gynecol.* – 2011. – Vol. 37. – P. 528–533.
212. Yuan, Y. MicroRNA-16 is involved in the pathogenesis of preeclampsia via regulation of Notch2 / Y. Yuan [et al.] // *J. Cell Physiol.* – 2019. - Oct 23. – P. 1-12.
213. Yücel, B. Neutrophil to lymphocyte ratio, platelet to lymphocyte ratio, mean platelet volume, red cell distribution width and plateletcrit in preeclampsia / Yücel B., Ustun B. // *Pregnancy Hypertens.* – 2017. – Vol. 7. – P. 29-32.
214. Zarbock A., Ley K. Neutrophil adhesion and activation under flow / A. Zarbock, K. Ley // *Microcirculation.* - 2009. – Vol. 16 (1). – P. 31-42.
215. Zhang, J. Severe maternal morbidity associated with hypertensive disorders in pregnancy in the United States / J. Zhang, S. Meikle, A. Trumble // *Hypertens Pregnancy.* – 2003. – Vol. 22. – P. 203-215.
216. Zhang, L. The diagnosis values of serum STAT4 and sEng in preeclampsia / L. Zhang [et al.] // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2019. – Oct 19. – P. 1-6.
217. Zhou, Y. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype: One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? / Zhou Y. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1997. – Vol. 99(9). – P. 2152–2164.